



РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Научно-производственный журнал

2025. Том 14, № 2

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

Research & production journal

2025. Volume 14, No. 2

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, Реддинг, Великобритания

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

Скорик Ю. А. – доц., к. х. н., руководитель лаборатории природных полимеров Института высокомолекулярных соединений РАН; заведующий научно-исследовательским химико-аналитическим отделом Национального медицинского исследовательского центра имени В. А. Алмазова, 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

Арчакова О. А. – к. фарм. н., заведующая центра лабораторией ООО «ЦФА», Москва, Россия

Бахрушина Е. О. – д. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, 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

Бобкова Н. В. – доц., д. фарм. н., профессор кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А. П. Нелюбина Сеченовского университета, Москва, Россия

Бондарева И. Б. – д. биол. н., профессор кафедры общей и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия

Ваизова О. Е. – доцент, д. м. н., профессор кафедры фармакологии ФБГОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», Томск, 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 ФБГОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», Новосибирск, Россия

Емшанова С. В. – д. фарм. н., АО «Бинергия»; руководитель отдела разработки, профессор кафедры промышленной фармации НИЯУ МИФИ, Москва, Россия

Зарубина И. В. – профессор, д. биол. н., старший преподаватель, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Министерства обороны Российской Федерации, 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., доцент, профессор кафедры управления и экономики фармации ФБГОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», Томск, Россия

Комаров Т. Н. – д. фарм. н., директор исследовательского центра ООО «ЦФА», Москва, Россия

Крикова А. В. – д. фарм. н., доцент, зав. кафедрой управления и экономики фармации, декан фармацевтического факультета ФБГОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия

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

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

Малашенко Е. А. – к. фарм. н., доц. 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 им. А. П. Арзамасцева Института фармации им. А. П. Нелюбина Сеченовского университета, Москва, Россия

Мельников Е. С. – к. фарм. н., доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

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

Напалкова С. М. – профессор, д. биол. н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФБГОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия

Оборотова Н. А., проф., д. фарм. н., ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина», Москва, Россия

Ордабаева С. К. – проф., д. фарм. н., заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии АО «Южно-Казахстанская медицинская академия», Шымкент, Казахстан

Пожарицкая О. Н. – к. фарм. н., старший научный сотрудник Мурманского морского биологического института РАН (ММБИ РАН), Мурманск, Россия

Попов В. В. – д. м. н., профессор кафедры терапии с курсом фармациологии Медицинского института непрерывного образования, ФГБОУВО «РОСБИОТЕХ». Врач – Клинический фармаколог ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» имени Н. А. Семашко», 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

Селиванова И. А. – проф., д. фарм. н., профессор кафедры химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

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

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

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

Сысуев Б. Б. – доц., д. фарм. н., руководитель Центра фармацевтической разработки и инновационных лек. форм Сеченовского университета, Москва, Россия

Тернинко И. И. – доцент, д. фарм. н., начальник Испытательной лаборатории, профессор кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия


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

Шиков А. Н. – д. фарм. н., профессор кафедры технологии фармацевтических препаратов ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия

Wrood S. Al-Khfajy (Ирак) – д. фарм. н., Assistant professor, Department of Pharmacology and toxicology, College of Pharmacy, Mustansiriyah University, Багдад, Ирак

ISSN 2305-2066 (Print)

ISSN 2658-5049 (Online)

| | |
|---|---|
| Учредители печатной версии | Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, 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: 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, д. 8, пом. 1/1 |
| Издатель | Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Адрес: 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, 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 |
| Адрес редакции | Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА») Россия, 117149, Россия, Москва, Симферопольский бульвар, 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, 2025 |
| 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 "CPHA"), Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Vitaliy V. Khutoryanskiy – Prof., Cand. of Sci. (Chem.), University of Reading, Reading, United Kingdom

Rouслан I. Moustafine – as., Cand. of Sci. (Chem.), Kazan State Medical University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

Yury A. Skorik – as., Cand. of Sci. (Chem.), Institute of Macromolecular Compounds of RAS; Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia

Editorial board

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

Olga A. Archakova – Cand. of Sci. (Pharm.), LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", Moscow, Russia

Elena O. Bakhrushina – Dr. of Sci. (Pharm.), I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Vladimir L. Beloborodov – Dr. of Sci. (Pharm.), 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

Natalia V. Bobkova – as., Dr. of Sci. (Pharm.), Institute of Pharmacy named after A. P. Nelyubina Sechenov University, Moscow, Russia

Irina B. Bondareva – Dr. of Sci. (Biol.), Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia

Olga E. Vaizova – as., Dr. of Sci. (Med.), Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Konstantin S. Guzev – Dr. of Sci. (Pharm.), Retinoids Pharmaceutical Research and Production Company (Retinoids JSC), Moscow, Russia

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

Irina A. Dzhuparova – as., Dr. of Sci. (Pharm.), Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Svetlana V. Emshanova – Dr. of Sci. (Pharm.), JSC "Binery"; National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

Irina V. Zarubina – Prof., Dr. of Sci. (Biol.), S. M. Kirov Military Medical Academy, Moscow, Russia

Dmitry Yu. Ivkin – Cand. of Sci. (Biol.), Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia

Elena I. Kalenikova – Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Elena V. Karakulova – Dr. of Sci. (Pharm.), Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Timofey N. Komarov – Dr. of Sci. (Pharm.), LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", Moscow, Russia

Anna V. Krikova – Dr. of Sci. (Pharm.), Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

Vladimir A. Kurkin – Dr. of Sci. (Pharm.), Samara State Medical University, Samara, Russia

Larisa I. Lavrenteva – as., Dr. of Sci. (Pharm.), Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia

Evgeniya A. Malashenko – Cand. of Sci. (Pharm.), I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Yury V. Medvedev – Cand. of Sci. (Pharm.), Institute of Pharmacy named after A. P. Nelyubina Sechenov University, Moscow, Russia

Evgeny S. Melnikov – Cand. of Sci. (Pharm.), I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Igor I. Miroshnichenko – Dr. of Sci. (Med.), Mental Health Research Center, Moscow, Russia

Svetlana M. Napalkova – Prof., Dr. of Sci. (Biol.), Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia

Natalia A. Oborotova – Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), National Medical Research Center for Oncology named after N. N. Blokhin, Moscow, Russia

Saule K. Ordabaeva – Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), JSC «South Kazakhstan Medical Academy», Shymkent, Kazakhstan

Olga N. Pozharitskaya – Cand. of Sci. (Pharm.), Murmansk Marine Biological Institute of the RAS, Murmansk, Russia

Vladimir V. Popov – Dr. of Sci. (Med.), Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH). Clinical Hospital "RZD-Medicine" named after N. A. Semashko, Moscow, Russia

Vladimir L. Rusinov – RAS c.-m., Dr. of Sci. (Chem.), Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

Irina A. Selivanova – Prof., Dr. of Sci. (Pharm.), I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

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

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

Yaroslav M. Stanishevskiy – Prof., Dr. of Sci. (Chem.), Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russia

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

Inna I. Terninko – as., Dr. of Sci. (Pharm.), Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia


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

Alexander N. Shikov – Dr. of Sci. (Pharm.), Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint-Petersburg, Russia

Wrood S. Al-Khfajy – Dr. of Sci. (Pharm.), Assistant professor, Department of Pharmacology and toxicology, College of Pharmacy. Mustansiriyah University, Baghdad, Iraq

ISSN 2305-2066 (Print)

ISSN 2658-5049 (Online)

| | |
|-----------------------------------|---|
| Print version founders | LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, 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, 117149, Russia |
| Publisher | LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, 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 |
| Editorial office address | LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, 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, 2025 |
| 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 | |
| О возможности использования гиалуруновой кислоты в композиции с рением-188 для радиосиновиортеза К. В. Майоров, Н. Д. Белоглазова, Н. Г. Сашова, Г. Е. Кодина, А. О. Малышева, О. Е. Клементьева | 28 |
| Лекарственный растительный сбор для лечения заболеваний ротовой полости К. А. Завадич, Е. А. Смолярчук, Н. В. Кудашкина, С. С. Сологова, Б. Б. Сысуев, О. И. Степанова, С. В. Аверьянов, Л. В. Корнопольцева, В. С. Щекин, А. В. Самородов, А. А. Юсупова, А. И. Шубина | 37 |
| Потенциальные мишени для нового противотуберкулезного препарата группы диарилхинолинов тиозонида А. Ю. Савченко, Б. В. Шилев | 45 |
| Первый дженерик тирзепатида GR30931: физико-химическое и биологическое сходство с референтным лекарственным средством И. А. Луговик, А. В. Бабина, С. С. Арутюнян, Д. О. Ермолаева, В. Б. Сапарова, Т. Н. Кобелева, П. Г. Заикин, А. Д. Микушина, А. С. Букатин, И. Е. Елисеев, Б. Ц. Зайчик, Я. К. Керученько, И. С. Охрименко, Э. В. Бочаров, А. Х. Тальдаев, В. А. Лушпа, И. Е. Макаренко, Р. В. Драй | 54 |
| Фармацевтическая технология | |
| Сравнение свойств гранулированной лактозы, полученной различными методами влажной грануляции без использования связующих веществ А. Е. Балдаев, В. В. Вайтман, Я. Г. Шопина, С. А. Кедик, А. В. Панов | 75 |
| Хитозан как основа стимулочувствительных систем: систематический обзор (обзор) В. С. Пыжов, В. С. Ганыкин, Д. М. Власова, Я. Д. Петухова, А. И. Ходенок, Е. О. Бахрушина | 88 |
| Изучение технологических и физико-химических свойств докsepина гидрохлорида Ю. М. Охотникова, Н. Л. Соловьева, Б. Б. Сысуев, И. И. Краснюк, Ж. М. Козлова | 106 |
| Влияние ультразвука при экстракции <i>Fucus vesiculosus</i> на кинетику деградации фукоидана и его свойства Е. Д. Облучинская, О. Н. Пожарицкая | 112 |
| Применение метода влажной грануляции в технологии таблеток 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидро-1,2,4-триазоло[4,3-f]ксантина, повышающего детоксицирующую функцию печени А. И. Петраков, В. В. Шейкин, С. В. Кривошеков, А. М. Гурьев, М. В. Белоусов | 123 |
| Достижения в области применения наномицелл для повышения эффективности противоопухолевых субстанций (обзор) Е. В. Санарова, Л. Л. Николаева, С. Д. Щеглов, Ж. М. Козлова, О. Л. Орлова, Н. А. Оборотова, А. В. Ланцова | 135 |
| Влияние на высвобождение размера частиц твердых дисперсных систем при проведении теста «Растворение» С. А. Золотов, А. В. Панов | 149 |
| Методы испытаний адгезивных полимерных композиций в разработке и контроле качества средств ухода за стомой на примере адгезивных пластин (обзор) И. А. Садковский, Л. А. Король, А. Б. Карабанова, А. В. Короленко, Е. А. Шеметова, И. И. Краснюк, Г. В. Раменская, М. А. Мандрик | 156 |
| Разработка метода сравнительного анализа на основе потребительских свойств полимерных композиций на примере адгезивных пластин М. А. Мандрик, С. А. Албагачиев, Л. А. Король, Е. А. Шеметова, И. И. Краснюк, Г. В. Раменская, И. А. Садковский | 170 |

Методы анализа лекарственных средств

Изучение анатомо-диагностических признаков листьев артишока колючего, выращенного в условиях Киргизской Республики
С. Ч. Чубакова, Н. Т. Фарманова, Н. В. Бобкова, Т. А. Маматов 185

Доклинические и клинические исследования

Изучение экскреции нового производного 4,5-дигидроизоксазол-5-карбоксамид
И. И. Яичков, М. К. Корсаков, Н. Н. Вольхин, В. Е. Зайкова, О. Э. Лазарянец 193

Анализ особенностей планирования исследований биоэквивалентности с адаптивным дизайном для лекарственных препаратов, аналогов эндогенных соединений адеметионина
Н. Н. Ерёменко 204

Оценка психотропного действия нового производного хромонсодержащих аллилморфолинов на мышах линии BALB/c
М. М. Пучик, Д. Д. Шиц, Ю. И. Сысоев, Н. М. Чернов, И. А. Титович, С. В. Оковитый 213

Изучение биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum*
О. В. Пугачева, А. В. Бузлама, А. Ю. Кузнецов, О. В. Тринеева 225

CONTENTS

| | |
|--|-----|
| Introduction | 10 |
| Research and development of new drug products | |
| On the possibility of using hyaluronic acid in a composition with rhenium-188 for radiosynoviorthesis Kirill V. Mayorov, Natalia D. Beloglazova, Natalia G. Sashova, Galina E. Kodina, Anna O. Malysheva, Olga E. Klementyeva | 28 |
| Medicinal herbal mixture for the treatment of oral diseases Ksenia A. Zavadich, Elena A. Smolyarchuk, Natalya V. Kudashkina, Susanna S. Sologova, Boris B. Sysuev, Olga I. Stepanova, Sergey V. Averyanov, Lyubov V. Kornopoltseva, Vlas S. Shchekin, Alexander V. Samorodov, Alina A. Yusupova, Anastasiya I. Shubina | 37 |
| Potential targets for the new anti-tuberculosis drug of the diarylquinoline group thiozonide Alla Yu. Savchenko, Boris V. Shilov | 45 |
| The first generic tirzepatide GP30931: physicochemical and biological similarity to the reference drug Ilya A. Lugovik, Anna V. Babina, Sona S. Arutyunyan, Darya O. Ermolaeva, Valeriya B. Saporova, Tatyana N. Kobeleva, Pavel G. Zaikin, Anna D. Mikushina, Anton S. Bukatin, Igor E. Eliseev, Boris Ts. Zajchik, Yan S. Keruchenko, Ivan S. Ohrimenko, Eduard V. Bocharov, Amir Kh. Taldaev, Vladislav A. Lushpa, Igor E. Makarenko, Roman V. Drai | 54 |
| Pharmaceutical Technology | |
| Comparison of granulated lactose properties produced by various wet granulation methods without the use of binders Aleksandr E. Baldaev, Vladislav V. Vaitman, Yana G. Shopina, Stanislav A. Kedik, Alexey V. Panov | 75 |
| Chitosan as a basis of stimuli-sensitive systems: a systematic review (review) Victor S. Pyzhov, Valeriy S. Ganykin, Darya M. Vlasova, Yaroslava D. Petukhova, Angelina I. Khodenok, Elena O. Bakhrushina | 88 |
| Research of technological and physico-chemical properties of doxepin hydrochloride Yulia M. Okhotnikova, Natalia L. Solovyova, Boris B. Sysuev, Ivan I. Krasnyuk, Zhanna M. Kozlova | 106 |
| Influence of ultrasound extraction of <i>Fucus vesiculosus</i> on the kinetics of fucoidan degradation and its properties Ekaterina D. Obluchinskaya, Olga N. Pozharitskaya | 112 |
| Wet granulation method in the technology of 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine tablets, which increases the detoxifying function of the liver Aleksandr I. Petrakov, Vladimir V. Sheikin, Sergei V. Krivoshchekov, Artem M. Guryev, Mikhail V. Belousov | 123 |
| Advances in the use of nanomicelles to enhance the efficacy of antitumour substances (review) Ekaterina V. Sanarova, Ludmila L. Nikolaeva, Stepan D. Shceglov, Zhanna M. Kozlova, Olga L. Orlova, Nataliya A. Oborotova, Anna V. Lantsova | 135 |
| Effect of particle size on release of solid dispersed particles during the "Dissolution" test Sergei A. Zolotov, Aleksey V. Panov | 149 |
| Test methods for adhesive polymer compositions in development and quality control for stoma care products on the example of adhesive baseplates (review) Ivan A. Sadkovskii, Ludmila A. Korol, Anna B. Karabanova, Anastasia V. Korolenko, Elena A. Shemetova, Ivan I. Krasnyuk, Galina V. Ramenskaya, Mark A. Mandrik | 156 |
| Development of a method of comparative analysis based on consumer properties of polymer compositions illustrated by adhesive plates Mark A. Mandrik, Sabr A. Albagachiev, Ludmila A. Korol, Elena A. Shemetova, Ivan I. Krasnyuk, Galina V. Ramenskaya, Ivan A. Sadkovskii | 170 |

Analytical Methods

Study of anatomy-diagnostic features of leaves of *Cynara scolymus* L. grown under the conditions of the Kyrgyz Republic

Symbat C. Chubakova, N. T. Farmanova, Natalia V. Bobkova, T. A. Mamatov 185

Preclinical and clinical study

The excretion study of a new derivative of 4,5-dihydroisoxazole-5-carboxamide

Ilya I. Yaichkov, Mikhail K. Korsakov, Nikita N. Volkhin, Valeria E. Zaykova, Olga E. Lasaraynz 193

Analysis of the features of planning bioequivalence studies with adaptive design for drug products analogous to endogenous compounds ademetonine

Natalia N. Eremenko 204

Evaluation of psychotropic effects of a novel chromone-containing allylmorpholine derivative in BALB/c mice

Maria M. Puchik, Daria D. Shitc, Yuriy I. Sysoev, Nikita M. Chernov, Irina A. Titovich, Sergey V. Okovityi 213

Study of the biostimulating effect of a decoction of Michurin's chokerenia leaves *in vitro* using the *Paramecium caudatum* cilia test system

Olga V. Pugacheva, Anna V. Buzlama, Alexandr Yu. Kuznetsov, Olga V. Trineeva 225

Редакционная статья / Editorial article

Интервью в рамках цикла «Мнение лидеров»

Представляем вашему вниманию новое интервью в рамках цикла «Мнение лидеров». В этот раз мы поговорили с директором федерального бюджетного учреждения «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП») Шестаковым Владиславом Николаевичем. В роли интервьюера выступила Кульджанова Наталья Вячеславовна, директор научно-производственного журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств».

The interview as part of the "Leadership Opinion" Series

We present a new interview from the «Leadership Opinion» series. This time we spoke with Vladislav N. Shestakov, Director of FSI «State Institute of Drugs and Good Practices» (FSI «SID & GP»). The interview was conducted by Natalia V. Kuldjanova, Director of the scientific and production journal «Drug Development & Registration».



«В 2024 ГОДУ ЗА ПРЕДЕЛАМИ РФ ПРОИНСПЕКТИРОВАНО 325 ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»

В 2015 году был создан орган, который осуществляет контроль за фармацевтическими предприятиями и их соответствием стандартам надлежащей производственной практики (GMP). Стандарты GMP устанавливают требования к организации производства и контролю качества лекарственных средств.

В новом цикле интервью «Мнение лидеров» мы узнали более подробно о направлениях деятельно-

сти ФБУ «ГИЛС и НП», помимо проведения инспекций. Какие сейчас преобладают тенденции в части экспорта российских лекарственных препаратов? Какова доля стандартных образцов отечественного производства на фармацевтическом рынке Российской Федерации на данный момент? Об этом и многом другом рассказал Владислав Николаевич Шестаков, директор ФБУ «ГИЛС и НП», в своем интервью.

Наталья Кульджанова: Владислав Николаевич, расскажите о направлениях деятельности ФБУ «ГИЛС и НП», помимо проведения инспекций.

Владислав Шестаков: Фармацевтическая отрасль неотделима от системы здравоохранения и работает над обеспечением населения качественными и эффективными лекарственными средствами. Сегодня мы поговорим о деятельности Государственного института лекарственных средств и надлежащих практик как одной из составляющих этой работы.

Основная деятельность ФБУ «ГИЛС и НП», а именно проведение фармацевтических инспекций, способствует обеспечению качества и безопасности фармацевтической продукции, поступающей на рынок Российской Федерации. Помимо инспектирования, ФБУ «ГИЛС и НП» вносит вклад в аналитическое обеспечение отрасли, осуществляет сбор и консолидацию данных для федеральной статистической отчетности.

Важным направлением деятельности является проведение на базе Евразийской академии надлежащих практик обучения и повышения квалификации фармацевтических специалистов. В 2024 году Евразийской академией надлежащих практик было проведено свыше 200 обучающих мероприятий, охвативших более 5000 человек. Кроме того, подразделение ФБУ «ГИЛС и НП» – НЦСО занимается аттестацией и производством стандартных образцов, используемых для контроля качества лекарственных средств.

ФБУ «ГИЛС и НП», как часть фармацевтического инспектората Минпромторга России, осуществляет взаимодействие с регуляторными органами более 70 стран мира по вопросам проведения GMP-инспекций. На сегодняшний день подписаны соглашения о сотрудничестве с регуляторными органами 18 стран. В рамках данных соглашений осуществляется информирование о предстоящих инспекциях, участие в инспекциях в качестве наблюдателей, взаимодействие с целью обмена опытом.

Наталья Кульджанова: Мы знаем, что ГИЛС и НП проводит анализ экспортного потенциала в отношении зарубежных фармацевтических рынков. Какие сейчас преобладают тенденции в части экспорта российских лекарственных препаратов?

Владислав Николаевич: Экспорт российских лекарственных препаратов демонстрирует рост и расширение географии поставок. Ежегодно Россия экспортирует около 45 тысяч тонн препаратов в 150 стран мира, что говорит о значительном потенциале отечественного фармацевтического сектора. Традиционно основными рынками сбыта являются страны СНГ. Однако в последнее время российские производители продолжают осваивать такие регионы, как Африка, Латинская Америка и Юго-Восточная Азия. Среди наиболее востребованных категорий

выделяются противоопухолевые, антидиабетические, антиретровирусные, сердечно-сосудистые, антимикробные, противовирусные препараты и вакцины.

Наталья Кульджанова: В 2019 году был поднят вопрос о создании собственной базы стандартных образцов. Какова доля стандартных образцов отечественного производства на фармацевтическом рынке Российской Федерации на данный момент? Планируется ли расширение номенклатуры?

Владислав Николаевич: Как упомянуто выше, стандартные образцы необходимы для проведения контроля качества лекарственных средств в соответствии с нормативной документацией. Они используются для проверки подлинности, чистоты, количественного содержания и активности действующих веществ, настройки аналитического оборудования, тестирования методик анализа и соблюдения нормативных требований.

В 2024 году было аттестовано 248 стандартных образцов, из которых 200 наименований финансировались государством, а 48 – за счет собственных средств ФБУ «ГИЛС и НП». Важно отметить, что 32 из этих образцов получили межгосударственный статус, что подтверждает их соответствие мировым стандартам. Кроме того, мы наблюдаем активный спрос на стандартные образцы: в прошлом году было реализовано более 2000 флаконов, а на 2025 год запланирован выпуск более 7000 флаконов, что свидетельствует о возросшей потребности в этих продуктах.

Наталья Кульджанова: Каковы основные результаты деятельности российского государственного GMP-инспектората в 2024 году?

Владислав Николаевич: В части компетенции ФБУ «ГИЛС и НП» могу сказать следующее. В 2024 году за пределами Российской Федерации проинспектировано 325 производителей лекарственных средств. Всего с 2016 года за рубежом было проведено более 3700 инспекций в 74 странах. Необходимо отметить, что фармацевтический инспекторат занимается не только инспектированием производителей лекарственных средств. Действующие инспектора вовлечены в различные направления деятельности с целью передачи накопленного практического опыта. Огромное внимание уделяется вопросам подготовки инспекторов – действующими инспекторами разрабатываются обучающие материалы и проводится обучение.

Также инспектора принимают участие в качестве спикеров в различных отраслевых мероприятиях, например во всероссийской GMP-конференции. На этой площадке осуществляется обмен опытом между представителями регуляторных органов и фармацевтической отрасли. Инспектора принимают активное участие в деятельности рабочих групп экспертного совета Евразийской академии надлежащих практик.

Данные рабочие группы осуществляют разработку проектов нормативно-правовых актов для фармацевтической отрасли, которые направляются для последующего обсуждения с регуляторами стран ЕАЭС.

Наталья Кульджанова: *На Ваш взгляд, какие изменения произойдут на фармацевтическом рынке в 2025 году?*

Владислав Николаевич: Под воздействием внедрения современных технологий фармацевтический рынок будет ожидать значительная трансформация. Во-первых, персонализированная медицина, основанная на анализе генетической информации и индивидуальных особенностей каждого пациента, станет важнейшим направлением, которое будет стимулировать создание лекарственных средств, точно направленных на конкретного пациента.

Во-вторых, искусственный интеллект должен внести серьезный вклад в ускорение процесса разработки новых препаратов. ИИ поможет быстрее находить перспективные молекулы, моделировать результаты клинических исследований и таким образом снижать затраты на исследования и разработки.

Наталья Кульджанова: *Можно уже сейчас оценить успехи российского фармпрома в рамках программы «Фарма-2030»? Что Вы бы отнесли к успехам?*

Владислав Николаевич: Стратегия «Фарма-2030», как логическое продолжение стратегии «Фарма-2020», преследует долгосрочные цели и задачи. Ее значение и успехи, по моему убеждению, бесспорны и очевидны для всех, включая врачебное сообщество, специалистов здравоохранения, пациентов и все население страны. Благодаря последовательной поддержке государства, реализации политики импортозамещения, инвестициям бизнеса фарм-отрасль демонстрирует заметные темпы устойчивого развития, даже несмотря на действующие санкционные ограничения.

Наталья Кульджанова: *В 2024 году состоялось подписание ряда соглашений между ФБУ «ГИЛС и НП» и CDSCO Индии, а также между ФБУ «ГИЛС и НП» и SECMED Республики Куба. Владислав Николаевич, расскажите, пожалуйста, более подробно, что подразумевают данные соглашения.*

Владислав Николаевич: В рамках 19-й Международной конференции органов регулирования лекарственных средств (ICDRA), организованной Центральной организацией по контролю за стандартами лекарственных средств (CDSCO) Индии, Министерством здравоохранения и благосостояния семьи правительства Индии при поддержке Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), прошедшей в Нью-Дели с 14 по 18 октября 2024 года, состоялось подписание соглашения между ФБУ «ГИЛС и НП» и CDSCO Индии.

4 ноября 2024 года на выставке FIVAV в Гаване ФБУ «ГИЛС и НП» и Центр контроля лекарств Кубы SECMED подписали соглашение о сотрудничестве в сфере GMP-инспекций.

Соглашения предусматривают информирование о предстоящих инспекциях, обучение специалистов и работу по сближению подходов в сфере инспекций на соответствие GMP. Это событие открывает новые возможности для укрепления доверия между регуляторами наших стран.

Наталья Кульджанова: *Владислав Николаевич, ведете ли Вы обсуждение о сотрудничестве с новыми странами? Если да, то расскажите, пожалуйста, с какими и в чем будет заключаться сотрудничество.*

Владислав Николаевич: Да, мы совместно с Минпромторгом России активно ведем переговоры о расширении сотрудничества. Помимо уже упомянутых стран, такие обсуждения ведутся с представителями Бразилии (ANVISA), Южной Кореи (MFDS) и ЮАР (SHPRA).

Основная цель сотрудничества заключается в углублении взаимодействия в области фармацевтических инспекций на соответствие требованиям GMP. Мы планируем проводить совместные обучающие программы, консультативные мероприятия и обмениваться актуальной информацией в рамках наших компетенций. Это позволит гармонизировать стандарты и подходы к производству, а также усилить контроль над всей цепочкой поставок медикаментов. Такое расширение взаимодействия способствует созданию единых высоких стандартов качества на глобальном уровне, что является одним из ключевых факторов повышения доверия пациентов и укрепления позиций наших производителей на международном рынке.



Редакционная статья / Editorial article

УДК 615.11

Аптекарский приказ – зарождение и становление. Часть 5

К. С. Гузев✉

АО «Ретиноиды», 143989, Россия, Московская обл., мкр. Керамик, г. Балашиха, ул. Свободы, д. 1А, оф. 404

✉ Контактное лицо: Гузев Константин Сергеевич. E-mail: guzev3@yandex.ru

Резюме

В пятой части статьи представлены сведения о функции Аптекарского приказа по снабжению Российского государства лекарственным растительным сырьем. Лекарственные растения закупались за границей, в московских торговых рядах, а также разводились и интродуцировались в аптекарских огородах. Со временем этой работе Аптекарского приказа уделялось все больше внимания, и эта функция постепенно превращалась в повинность.

The apothecary order – the origin and formation. Part 5

Konstantin S. Guzev✉

JSC «Retinoids», off. 404, 1A, Svobody str., Balashikha, Ceramic microdistrict, Moscow Region, 143983, Russia

✉ Corresponding author: Konstantin S. Guzev. E-mail: guzev3@yandex.ru

Abstract

The fifth part of the article provides information about the function of the Apothecary prikaz to supply the Russian state with medicinal plant raw materials. Medicinal plants were purchased abroad, in Moscow merchant's rows, and were also cultivated and introduced in apothecary gardens. Over time, more and more attention was paid to this work of the Apothecary prikaz, and this function gradually became a duty.

СВЕДЕНИЯ О ЗАКУПКАХ АПТЕКАРСКИМ ПРИКАЗОМ ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Для приготовления лекарств применялось как зарубежное растительное сырье, так и отечественные ингредиенты. На аптекарском дворе готовилось уже множество лекарственных форм. Это объясняется активной передачей технологических приемов от европейских аптекарей отечественным специалистам. Повышенное внимание уделялось и качеству получаемых лекарств. Растет чистота используемых растворителей (спирт, вино, масло и др.) и качество самих лекарственных компонентов (трава, цветы, плоды т. п.). Постоянно в указах на сбор и доставку растительного сырья отмечают особые требования к его сбору, сушке и доставке в Аптекарский приказ. В результате ассортимент лекарственных препаратов и ингредиентов для их производства приближается к 300 наименованиям.

ЗАКУПКИ ЗА ГРАНИЦЕЙ

Врачи, служившие в Аптекарском приказе, получали образование за границей, а потому при лечении больных в России они использовали лишь те лекарственные средства, которые были им знакомы. Опыт русской народной медицины ими во внимание не принимался. По этой причине большинство этих средств привозились из-за рубежа. Везти товары сухойшей было долго, дорого и небезопасно. Поэтому при выборе маршрута доставки медикаментов, как правило, останавливались на морском пути. В XVII в. Россия имела единственный порт, связывающий ее с Европой, – Архангельск. Корабли прибывали в порт обычно во второй половине июня, так как архангельский порт более полугода был скован льдами. Если требовалось доставить лекарства срочно или во внеурочное время, то для их транспортировки избирали другой маршрут – через Ригу, Новгород, Ладогу или Нарву. Перевалочными пунктами или местами вре-

менного хранения лекарств служили монастыри, например Никольский монастырь в Ладогe или Вологодский Спасо-Прилуцкий монастырь.

Первоначально закупку медикаментов осуществляли сами врачи перед поездкой на русскую службу. При этом они не могли знать, какие лекарства им понадобятся. Поэтому в случае отсутствия необходимых лекарств врачи составляли росписи препаратов, которые хотели бы выписать из-за границы. Согласно имеющимся челобитным Аптекарского приказа сырье и лекарственные средства доставлялись в Россию из крупных европейских и среднеазиатских центров международной торговли (Амстердама, Гамбурга, Могилёва, Вильно, Риги, Кизылбаша), хотя сами растения могли произрастать в Южной или Центральной Америке, а также в Юго-Восточной Азии (Индии и Китае).

В Европе закупа́ли винный камень, «дух из цвета свороборинного», «цвет свороборинный», «сахар свороборинный», имбирь, масло миндальное горькое, масло мятное, траву кораллину, «цвет розмаринный». Кроме приведенных лекарственных средств, закупа́ли также «лауринное» масло (лавровое масло), «винный дух», «цвет дерева самбуции», «камень безуй» (безоар), дерево и масла «сасофрас», анисовое, коричное, купоросное и «свороборинное». Через Могилёв приобретали камфару, корицу, масло деревянное, масло мушкатное, масло мятное, масло полынное и орехи мушкатные. Трудности с поставками из Европы, особенно в условиях войн и эпидемий, вынуждали искать поставщиков товаров в других регионах – на Востоке. В Персии закупа́ли хинный корень, в Китайском государстве – корицу и кардамон. Косвенным доказательством закупки медикаментов в Индии может служить упоминание в «Алфавитном перечне лекарств...» «аскулиса индейского», «листа индейского» и «орехов индейских»¹.

ЗАКУПКА В ТОРГОВЫХ РЯДАХ МОСКВЫ

Представление о закупках на территории Московского государства позволяют получить приходно-расходные книги Аптекарского приказа. Из них узнаем, что камфару можно было закупить в «Москотильном» ряду в Москве. Там же приобретали деревянное и бобковое масла, зеленый купорос, селитру для производства «крепкой водки», а также воск, чернила, бумагу и прочее. В Свечном ряду приобретались свечи для освещения «на приказной расход». Там же закупа́ли воск и смолу, нужные для изготовления мазей и пластырей. Для приготовления послед-

¹ Худин К. С. Документы Аптекарского приказа (1629–1672 гг.) как исторический источник. Дис. ... канд. ист. наук. Москва; 2021. С. 260–273. Доступно по: https://igh.ru/system/dissertations/synopsis_pdfs/000/000/039/original/d98a91866b03b3279773b13a48daa292ea8eccc4.pdf?1632215959. Ссылка активна на 10.06.2024.

них в Мясном ряду можно было раздобыть свиное или баранье сало. В Холщовом ряду покупали «холстину суровую» «для цыженья мази, пластырей, сыропов, вареных масел и для иных разных составов». Самым востребованным ассортиментом обладал Овощной ряд. В нем приобретали «изюм кафимский», «ягоды винные отборные», «финики» и «ядра миндальные», из которых готовили масло. В этом же ряду можно было приобрести бумагу различных видов: самая дешевая («бумага расхожая») употреблялась в Приказе «на завертыванье лекарств», а другие виды бумаги – для канцелярской работы. Там же закупа́лись различные склянки «на всякие расходы и на продажу».

СБОР РАСТЕНИЙ С ПОДКОНТРОЛЬНЫХ МОСКОВСКОМУ ГОСУДАРСТВУ ТЕРРИТОРИЙ

Перебои в поставках сырья из европейских стран потребовали поиска аналогичных растений, произрастающих на территории Московского царства. Для этого снаряжались экспедиции травников, зелейников, кореньщиков и ягодников в те районы государства, где сбор этих растений был бы наиболее перспективен.

Первое, о чем следует упомянуть, это сбор можжевеловых ягод. И. Я. Гурлянд, изучив этот вопрос, показал, как быстро сбор этих ягод превратился в повинность². Вначале этот вид сырья заготавливался собственными средствами Аптекарского приказа, без всякого участия населения. Позже этот сбор поручили стрельцам – «государевым людям». В документах 1657 г. государевым указом повелевалось «московским стрельцам всех приказов собрать ягод можжевеловых по четыре чети. А те ягоды прислать в Аптекарской приказ». На следующий год было велено собирать можжевеловые ягоды «стрельцам всех приказов». А с начала 1660-х годов сбор можжевеловых ягод трансформировался в повинность, которая имела четкую регламентацию: назначение ответственных за успешный сбор ягод, наличие планов сбора по населенным пунктам, увеличение объемов собираемого сырья, расширение социального состава сборщиков. Этой повинностью уже обкладывалось как посадское население Ростовского, Переславского и Ярославского уездов, так и крестьянство, принадлежащее близлежащим монастырям. К 1661 году сбор можжевеловых ягод уже был поручен местному воеводе, и за неисполнение или уклонение от этого важного поручения ему грозили серьезные взыскания. Кроме можжевеловых ягод, централизованно для нужд Аптекарского приказа в больших количествах собирались солодковый корень, «корени черемичы черной», дягиль – «дягилный корень», «почечуйная трава»

² Гурлянд И. Я. Можжевеловая повинность. Ярославль: Типография Губернского Правления; 1903. С. 17–46.

(горец почечуйный), трава зверобоя, «свороборинный цвет» (роза, шиповник) и др.¹

Из всего сказанного видно, что в начале XVII в. сбор растительного сырья в Московском государстве для нужд Аптекарского приказа приобретает системный характер и со второй его половины превращается в различные виды повинностей податного населения (крестьян, посадских, стрельцов и пр.).

РАЗВЕДЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА АПТЕКАРСКИХ ОГОРОДАХ МОСКВЫ

«Затруднения, связанные с собиранием трав в отдаленных углах России, недобросовестность сборщиков, частые неурожаи и порча их при пересылке на большие расстояния навели московское правительство на мысль о разведении нужных растений в самой Москве», – так Н. Я. Новомбергский объясняет необходимость создания при Аптекарском приказе собственной базы лекарственных растений². Более того, перебои с поставками лекарств из-за границы понуждали подъячих Аптекарского приказа к поиску лекарственных растений на территории России и пересаживанию их на московские аптекарские огороды. Имеются сведения, что на этих огородах выращивали лекарственные травы и цветы, служащие сырьем для приготовления лекарств: табак, мак, майоран, мяту, латук, анис, иссоп, портулак, ложечную траву (ложечница лекарственная, *Cochlearia officinalis*), тимьян, пион, руту (рута душистая, *Ruta graveolens*), петрушку, шиповник, штокрозу (разновидность мальвы), цикорий, шалфей, укроп, базилик, божье дерево (полынь высокая, *Artemisia abrotanum*), зорю (любисток лекарственный, *Levisticum officinale*), розмарин и др. Семена иноземных растений закупались у иностранных купцов в Архангельске³.

Как видно, ассортимент заготавливаемых лекарственных растений, обнаруженный нами в документах Аптекарского приказа, невелик. Более полный перечень лекарственного растительного сырья представлен в работе филолога О. Г. Олехнович. В приложениях к диссертационной работе она приводит список названий растений, обнаруженных и идентифицированных ею в документах Аптекарского приказа XVII в. Этот список содержит 283 растения. Часть из

них выращена в России, другая их часть привезена из-за границы. В другом приложении автор приводит перечень названий лекарственных растений на латинском и русском языках, из которого можно увидеть, какие части этих растений использовались в приготовлении тех или иных лекарств⁴.

Таблица 1. Части лекарственных растений, упомянутые в документах Аптекарского приказа XVII в.

Table 1. Parts of medicinal plants mentioned in the documents of the Apothecary Order of the XVII century

| № | Часть растения Plant part | Количество растений, части которых использовались в приготовлении лекарств Number of plants whose parts were used in the preparation of medicines |
|----|------------------------------|--|
| 1 | Древесина Wood | 8 |
| 2 | Кора Bark | 14 |
| 3 | Корень Root | 83 |
| 4 | Листья Leaves | 16 |
| 5 | Орехи Nuts | 3 |
| 6 | Семена Seeds | 68 |
| 7 | Трава Grass | 112 |
| 8 | Цветы Flowers | 46 |
| 9 | Ягоды Berries | 18 |
| 10 | Ядра орехов Nut kernels | 7 |

Содержание таблицы свидетельствует, что древние русские врачи и аптекари в своей работе использовали все части растений – от семян и ягод до корней и древесины. Наиболее употребляемой частью лекарственного растения, применяемой для изготовления лекарственных средств, является трава. За ней следуют корни, семена, цветы, ягоды и листья.

К середине XVII в. все большую роль в снабжении Аптекарского приказа начинают играть сады и огороды. Первое упоминание об аптекарском огороде описано у Л. Ф. Змеева. По его сведениям, «аптекарский огород (сад, двор) размещался за Каменным мостом

¹ Худин К. С. Документы Аптекарского приказа (1629–1672 гг.) как исторический источник. Дис. ... канд. ист. наук. Москва; 2021. С. 185–192. Доступно по: https://igh.ru/system/dissertations/synopsis_pdfs/000/000/039/original/d98a91866b03b3279773b13a48daa292ea8eccc4.pdf?1632215959. Ссылка активна на 10.06.2024.

² Новомбергский Н. Я. Врачебное строение в допетровской Руси. Томск: Типо-литография Сибирского т-ва печ. дела; 1907. С. 135.

³ Рихтер В. М. История медицины в России. Ч. 3. М.: В Университетской типографии; 1814–1820. С. 49.

⁴ Олехнович О. Г. Медицинская терминология в «Делах Аптекарского Приказа, XVII в.». Дис. ... канд. филол. наук. Екатеринбург; 2000. 307 с. Доступно по: <https://www.dissercat.com/content/meditsinskaya-terminologiya-v-delakh-aptekarskogo-prikaza-xvii-v>. Ссылка активна на 10.06.2024.

у стены Кремля, рядом с лебяжьим прудом, близ отводной башни Каменного моста на р. Неглинной» между Троицкой и Боровицкой башнями. Самое раннее упоминание об аптекарском огороде в документах Аптекарского приказа относится к октябрю 1629 г. В нем содержится информация об уплате денег стрельцу Жандыбину за то, что он «поделывал на обтекарском огороде... три прясла забору»¹.

В XVII в. под огородом понимали «огороженный участок земли для выращивания овощей», а под садом – «фруктовый сад, виноградник». К середине XVII в. сады или огороды начинают играть все большую роль в снабжении Аптекарского приказа, а ассортимент произрастающих там видов растений становится все разнообразнее. Позднее аптекарский огород, кроме функции выращивания, начинает выполнять производственную задачу по их переработке: на его территории строятся помещения (поварни, печи, перегонные кубы, сушильни), в которых проходят работы по производству лекарств. Чаще всего на огородах перегоняли спирт («перепусканье» и «водочное дело»), производили водки, масла и сиропы. Для этого в апреле приводили в порядок перегонные кубы (лембики), а в мае – июле закупали уголь. Вероятно, уголь использовался и для очистки спирта после его отгона².

Таким образом, вместе с преобразованиями Аптекарского приказа имели место изменения и в работе аптекарских огородов. Если в начале своей деятельности на огородах выращивались лишь растения для царского стола, то со временем на выделенных землях стали выращивать лекарственные растения, перечень которых рос год от года. Со временем на огородах стали сеять семена заморских трав, а позже огороды стали выполнять и производственную функцию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В начале своего существования Аптекарский приказ был узко придворным и служил для надобностей царя и его семьи. С течением времени к придворному характеру Приказа начинают примешиваться общегосударственные обязанности, которые сильно изменили прежнюю окраску его работы. Это дает основания смотреть на него как на «место правительственное по части народного здравия» или как на место, где «соединяются ветви медицинского управления». Исследователи отечественной истории убеждены, что

¹ Змеев Л. Ф. Первые аптеки в России. Медицинское обозрение. 1887;21:846.

² Худин К.С. Документы Аптекарского приказа (1629–1672 гг.) как исторический источник. Дис. ... канд. ист. наук. Москва; 2021. С. 192–193. Доступно по: https://igh.ru/system/dissertations/synopsis_pdfs/000/000/039/original/d98a91866b03b3279773b13a48daa292ea8eccc4.pdf?1632215959. Ссылка активна на 10.06.2024.

Аптекарский приказ сыграл в истории русской медицины выдающуюся роль. Так, В. В. Томашевский, подчеркивая общегосударственные заслуги этого учреждения, в первую очередь отмечает его вклад в снабжение армии, и, хотя мы этой деятельности Приказа не уделили особого внимания, нельзя не отметить, что «благодаря деятельности Аптекарского приказа – государственного учреждения, облеченного большой административной властью в области здравоохранения, – были достигнуты значительные успехи в создании стройной системы военно-медицинского дела... Организационная работа приказа обеспечила нашу армию постоянными лекарями и аптекарями с хорошо укомплектованными полевыми аптеками. При Аптекарском приказе была подготовлена большая группа отечественных квалифицированных медицинских работников, включая аптекарей и фармацевтов. Все эти мероприятия послужили основой для дальнейшего развития медицинского дела в России и явились базой для преобразований Петра I в этой области». Дальше В. В. Томашевский особо отмечает революционный характер этого учреждения. По мнению автора, «Аптекарский приказ, как медицинская организация, был более прогрессивным в сравнении с организацией врачебного дела в европейских странах. Там в основном медицинскими вопросами ведали цеховые корпорации медиков, фактически не подчиненные государству, что вносило в управление здравоохранением стихийность и разброд. При цеховой организации медицинского дела невозможно было наладить медикаментозное снабжение армии в таких масштабах, как это было сделано в России, организовать борьбу с эпидемиями, подготовить медицинские кадры, состоящие на службе государства и зависимые от него. Такого совершенного государственного учреждения с многообразной сферой деятельности, каким был российский Аптекарский приказ, в Западной Европе XVII столетия не существовало». Там же В. В. Томашевский указывает и на особую роль Аптекарского приказа как культурной и просветительской организации. Он пишет: «Борьба со знахарством и другими суевериями, пропаганда рациональной медицины, использование общепризнанных лекарств и их новых лекарственных форм, освоение новых фармацевтических технологий и приемов приготовления лекарств позволили впервые закрепить статус медицины и фармации в России как науки. Распространение медицинского просвещения среди отечественных врачей и фармацевтов, переводы медицинских книг классических авторов, составление большого количества врачебных руководств. В результате русские лекари, получившие свое образование при Аптекарском приказе, выходили квалифицированными медиками, ни в чем не уступавшими иноземным врачам и лекарям, а экзамены с вновь прибывшими в Россию врачами, регулярно проводимые руководителями Аптекарского

приказа, служили препятствием для заграничных шарлатанов и проходимцев»¹.

Учитывая вышесказанное, мы бы хотели отметить роль Аптекарского приказа как организации по заготовке необходимого сырья и производству лекарственных препаратов. Знакомство с ранее неизвестными документами Аптекарского приказа позволило установить, что его сотрудники к середине XVII в. обладали необходимыми знаниями и навыками по изготовлению большого числа лекарственных форм из отечественного сырья и из ингредиентов, закупаемых за границей. Совершенствовались применяемые технологические приемы, повышались требования к качеству сырья.

Однако в XVII в. Аптекарский приказ не смог развиться как организация по оказанию врачебной помощи в широком понимании по причине возложенных на него сторонних, помимо врачебных, обязанностей, а также вследствие самого приказного строя государственной жизни. Наиболее объективное и полное оценочное описание ситуации, сложившейся в России и связанной с функционированием Аптекарского приказа, приведено в монографии М. Соколовского. Автор отмечает, что «государственные функции Аптекарского приказа были перепутаны и неудачно

сгруппированы; группировка их была произведена не по главнейшим отраслям государственного устройства, а по мелочным и случайным отраслям хозяйствования. Петр Великий застал этот государственный организм в виде сложной машины с грубо, неумело собранными многочисленными частями, беспорядочно цеплявшимися друг за друга, мешавшими друг другу»². Такая ситуация не могла устроить молодого царя. Познакомившись с работой аптечной службы в Западной Европе во время своего Великого посольства, Петр I принимает решение по изменению таковой у себя дома. Приехав в Москву и столкнувшись с грубыми ошибками в применении лекарств, он решил кардинально поменять функционирование Аптекарского приказа. В короткий срок с помощью царских указов Аптекарский приказ был реформирован в Аптекарскую канцелярию, представляющую собой уже более высокую степень в административном управлении лечебной частью России. Однако без сомнения можно утверждать, что все медицинские и аптекарские мероприятия Петра I – создание больниц и госпиталей, организация аптек и сети аптекарских огородов, обеспечение армии медикаментами и врачебной помощью и т. п. – имели свои корни в деятельности Аптекарского приказа.

¹ Томашевский В. В. Аптекарский приказ в XVII веке. Дисс. ... канд. ист. наук. Л.: Гос. ун-т им. А. А. Жданова; 1952. С. 316–317.

² Соколовский М. К. Характер и значение деятельности Аптекарского приказа. СПб.: тип. П. П. Сойкина; 1904. С. 31–32.

Рекламная статья / Sponsored article

Серия ВЭЖХ «Скороход» – единственный на российском рынке автодозатор с прямым дозированием пробы (split-loop)



Н. А. Новожилова, А. В. Севко

Авторы подготовили статью при финансовой поддержке Sevko & Co

Серия жидкостных хроматографов «Скороход» производится по полному циклу на собственных мощностях семейного предприятия Sevko & Co в Пушкинском районе Подмосковья. Эти ВЭЖХ занимают уникальное положение на российском рынке аналитического оборудования не только благодаря максимальной локализации всех деталей в рамках одного предприятия и полной независимости прибора от дефицитных западных компонентов. Ряд технических решений, примененных в приборе, позволяет поставить Скороход на один уровень с западными производителям, покинувшими российский рынок. Некоторые решения являются уникальными и по мировым меркам. В статье речь пойдет об автодозаторе из серии «Скороход», работающем по схеме прямого дозирования пробы из иглы (split-loop), привычной для западных крупнейших производителей ВЭЖХ, но до сих пор не доступной для российских пользователей.

The unique autosampler of split-loop design (direct injection) for Russian market in Skorohod HPLC series

Natalia A. Novozhilova, Alexander V. Sevko

The authors prepared the article with the financial support of Sevko & Co

Skorohod HPLC series is manufactured by family enterprise Sevko & Co on its own production facilities in Pushkinsky district of Moscow region. This series occupies the unique position on Russian market of analytical equipment not only because of the maximum localization of all the components in one production enterprise and independence of the whole tool on the scarce Western analogue details. Technical solutions, implemented in Skorohod, let it possible to put this HPLC on the same level with high-end Western HPLC manufacturers, which left Russian market. Some of technical solutions are exclusive by world standards as well. In this article we will discuss the autosampler from Skorohod series that utilizes direct injection (split-loop), commonly used between the largest producers of HPLC, but so far not available for Russian users.

«Скороход» – это семейство жидкостных хроматографов различного назначения, объединенных неизменным принципом максимальной локализации всех узлов и деталей на территории России. «Скороход» производится **по полному циклу** на собственных мощностях семейного предприятия **Sevko & Co** в Подмосковье. Изделие является оригинальной разработкой компании и не содержит в своем составе дефицитных западных компонентов. Такой подход позволяет обеспечить стабильность и ритмичность производственного процесса, короткие сроки поставки продукции, а также **стандартный гарантийный период 2 года**. В случае возникновения внештатных ситуаций компания **Sevko & Co** предлагает оперативную замену не только расходных материалов, но и целых узлов и деталей, вплоть до электронных плат.

Максимальная автономность производственного процесса **ВЭЖХ «Скороход»** позволяет нашим пользователям сосредоточиться на своей работе и не задумываться о рисках, которые несут приборы, поставляемые параллельным импортом, незрелые китайские решения или подходы «крупноузловой сборки» по китайским лекалам с использованием западных компонентов.

Одним из ключевых компонентов любого ВЭЖХ является автодозатор. Именно от его конструктивных особенностей напрямую зависят повторяемость и надежность получаемых результатов.

В настоящее время автодозатор для ВЭЖХ – это не просто инструмент, позволяющий избавиться от ручного труда и добиться автоматизации хроматографического процесса. Этот модуль способен вывести производительность и эффективность работы

лаборатории на новый уровень либо, напротив, зря потратить ваше время и пробу. Кроме того, в фармацевтическом анализе особые требования предъявляются к кросс-переносу, так как нижний предел регистрируемых органических примесей в фармацевтических препаратах составляет от 0,05 до 0,1 %. В исключительных случаях этот предел может снижаться до 10^{-4} – 10^{-3} %. Для работы с таким уровнем концентраций кросс-перенос должен быть нулевым. Наиболее современные модели автодозаторов западных производителей предлагали своим пользователям крайне низкий уровень перекрестного загрязнения проб в сочетании с быстроедействием. Специальные решения предполагали кратное уменьшение затрачиваемого на анализ времени путем одновременного ввода проб в два аналитических канала, что открывало новые возможности для разработки методик и контроля качества в рамках фармакопейного анализа.

Все эти возможности теперь доступны в одном из уникальных модулей в составе ВЭЖХ «Скороход» – автоматическом дозаторе с прямым дозированием пробы (split-loop) (рисунок 1). Об этом модуле, **не имеющем аналогов на российском рынке**, и пойдет речь в статье.

Автоматический дозатор проб ВЭЖХ «Скороход» принципиально отличается от многочисленных устройств аспирационного типа (pulled-loop) китайско-российского производства, а также европейских и корейских OEM-марок, в изобилии представленных на российском рынке. Pulled-loop – это, по су-

ти, усовершенствованный вариант автоматизированного ручного дозирования. В автодозаторе «Скороход» реализована принципиально иная, более эффективная технология – прямое дозирование пробы из иглы в инъекционный порт (split-loop). Этот принцип используют в своих системах лидеры мирового хроматографического рынка: Shimadzu – в сериях приборов LC-20/LC-30/LC-40, LC-2030/LC-2040/LC-2050/LC-2060, Agilent – в Infinity II/Infinity III, Thermo Fisher Scientific – в хроматографах Ultimate 3000 и Vanquish, Waters – в линейках Alliance iS и Acquity UPLC I-Class Plus. Разница конструктивных решений заключается лишь в наличии одного, как у Agilent Technologies или Thermo Fisher Scientific, или же двух, как у Shimadzu, шестипортовых кранов и, соответственно, в размещении измерительного насоса в области высокого или низкого давления.

ПРОИЗВОДСТВО

С появлением автоматического дозатора «Скороход» технология автоматического прямого дозирования стала доступна и для российских пользователей без рисков параллельного импорта и вне зависимости от внешнеполитической конъюнктуры. Практически все узлы устройства делаются непосредственно в компании Sevko & Co – производство полностью укомплектовано современным оборудованием и в полной мере соответствует требованиям хроматографического приборостроения. Отдельные элементы, например сапфировые плунжеры насосов, заказыва-



Рисунок 1. Семейство жидкостных хроматографов «Скороход»

Figure 1. The Skorohod HPLC family

ются на контрактной основе у надежных российских производителей.

Детали – тела вращения, используемые в дозаторе, вытачиваются на токарных станках с ЧПУ, шестерни приводов кранов высокого и низкого давления – на зубонарезных. Финальная обработка ключевых узлов со сложной геометрией – статоров кранов высокого и низкого давления, головки дозирующего насоса – проводится на высокоточных фрезерных станках с пятью независимыми осями движения, включая резку под углом. Это позволяет максимально точно выдерживать геометрию, в частности пространственное расположение отверстий друг относительно друга, а также изготавливать узлы дозатора за минимально короткое время. Все размеры деталей строго контролируются, в том числе при помощи координатно-измерительной машины, установленной в специально оборудованной комнате.

Там, где это целесообразно, используются аддитивные технологии. Так, поддон с каналом для отвода конденсата, штатив для виал и механизм движения иглы создаются методом послойного наплавления, а панель управления – с помощью лазерной стереолитографии. Такой подход при малосерийном производстве (до 300 штук в год) наиболее экономически целесообразен и, соответственно, значительно снижает себестоимость конечной продукции. Кроме того, создать **эффективный канал для отвода конденсата** (рисунок 2) и комплементарно вписать его в конструкцию прибора без использования 3D-печати было бы просто невозможно.

Аддитивные технологии также предлагают и небывалую свободу действий для пользователя и позволяют ему почувствовать себя конструктором, причастным к созданию высокотехнологичного оборудования. Пользователь может самостоятельно напечатать держатель для сосудов любой формы и размеров в рамках габаритов эффективной поверхности автодозатора либо попросить это сделать компанию Sevko & Co. **Больше никаких ограничений по типам используемых планшетов не существует – все определяется только вашими пожеланиями!**

НАДЕЖНОСТЬ, РЕМОНТОПРИГОДНОСТЬ И ДОЛГОВЕЧНОСТЬ

Основопологающие требования, заложенные в конструкцию автодозатора, как, впрочем, и любого модуля хроматографа «Скороход», – высокая надежность, ремонтпригодность и большой рабочий ресурс. Один из основных узлов устройства – дозирующий насос (рисунок 3) – характеризуется крайне низкой дискретностью и высокой точностью. Физическое разрешение составляет 0,08 мкл на 1 шаг двигателя, который, в свою очередь, используется в режиме деления шага 1/16. Таким образом, дискретность составляет всего 0,005 мкл, что позволяет точно и воспроизводимо дозировать объемы в диапазоне 0,1–100 мкл с шагом 0,01 мкл. Долговечность насоса мно-

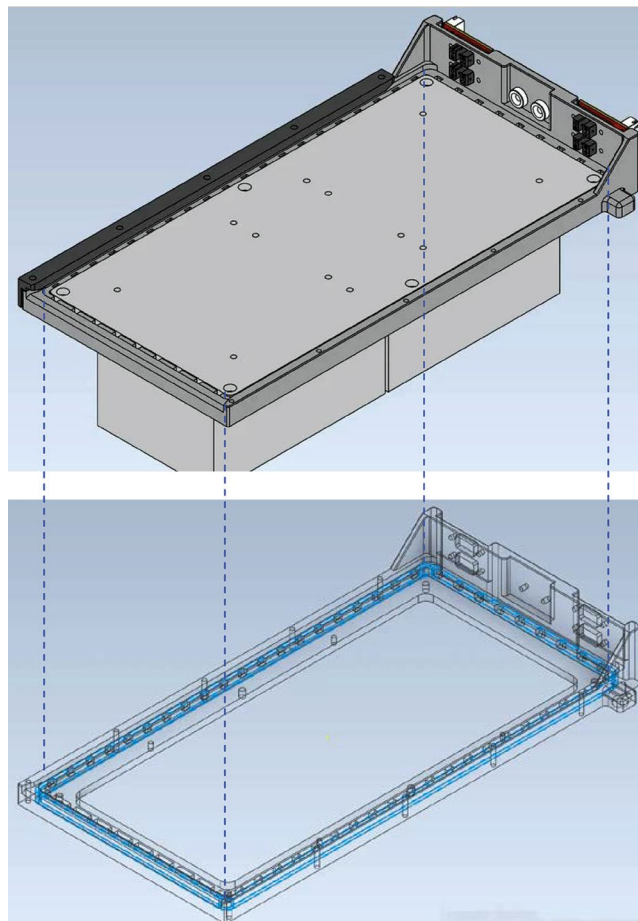


Рисунок 2. Канал для отвода конденсата в поддоне автодозатора (FDM-технология)

Figure 2. Condensate drainage channel in the autosampler tray (FDM technology)



Рисунок 3. Дозирующий насос

Figure 3. Measuring pump

гократно превышает ресурс стеклянных шприцев, используемых другими производителями. А поскольку детали и узлы хроматографов «Скороход» максимально унифицированы, уплотнение поршней насо-

сов – дозирующего, инфузионного – это универсальный и легко заменяемый расходный материал.

При эксплуатации любого ВЭЖХ одна из наиболее требовательных деталей автодозатора, с которой чаще всего возникают проблемы, – ротор крана высокого давления. Обычно он представляет собой пластину из полимерного материала (PEEK/Tefzel/Vespel), на которой по кругу под углом 60° нарезаны 3 канавки. В автодозаторе «Скороход» одна из трех канавок имеет нестандартную вытянутую форму, что делает ротор более стойким к истиранию при поворотах крана и позволяет ему безотказно и без возникновения течи работать большее число инъекций в сравнении со стандартным исполнением. Таким образом, рабочий ресурс ротора не является препятствием к длительной бесперебойной работе дозатора в режиме 24/7.

Доступ к обслуживаемым узлам автодозатора сразу с двух панелей – передней и боковой – делает удобным техническое обслуживание модуля, а при необходимости и его ремонт (рисунок 4). Замена любых расходных материалов не требует специальных инструментов. Например, замена петли на большую по объему в автодозаторе «Скороход» – это стандартная пользовательская процедура без привлечения сервисного ПО, сопутствующей замены дополнительных элементов конструкции (буферной трубки, шприца и др.), а тем более вызова сервисного инженера, чем грешат некоторые китайско-российские модели.



Рисунок 4. Боковая и передняя панели автодозатора «Скороход» с доступом к обслуживаемым узлам

Figure 4. Side and front panels of the Skorohod autosampler with an easy access to the serviced parts

Стоит также отметить, что при проектировании в автодозатор был заложен гибкий функционал пробоподготовки: не только классическая предколоночная дериватизация или добавление внутреннего стандарта, но и автоматическое разбавление с построением калибровочной зависимости, а также совместная инъекция. Последняя позволяет отобрать пробу вместе с растворителем для разбавления из отдельной вials, чтобы минимизировать дисперсию по колонке и избежать уширения пика. Влияние органического растворителя на дисперсию пробы в наибольшей степени наблюдается при уменьшении диаметра капилляров до 0,1 мм, то есть при применении быстрой хроматографии, а также при увеличении объема инъекции. Так, если при введении 1–2 мкл пробы уширения пика почти не отмечается, уже при 5–10 мкл эффект будет заметен.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРЯМОГО ДОЗИРОВАНИЯ

Существует три схемы работы автоматических дозаторов: дозирование с разделенной петлей или прямое дозирование пробы из иглы, которая в этом случае, по сути, является частью петли; дозирование с вытянутой петлей или аспирационный тип, представляющий продвинутой и автоматизированный вариант ручного дозирования; а также доставка пробы в петлю из аспирационного капилляра при помощи нагнетания давления стеклянным шприцем (pushed-loop). Последний подход не получил широкого распространения, поэтому остановимся на сравнении первых двух (рисунок 5).

Аспирационный тип дозирования более прост в исполнении, так как не требует уплотнения иглы в инъекционном порту (седла иглы). Пожалуй, на этом преимущества данного типа дозирования заканчиваются.

К примеру, **при прямом типе дозирования отбирается исключительно аналитический объем пробы** и она не расходуется зря. В автодозаторах же аспирационного типа к аналитическому объему пробы всегда отбирается дополнительный, чтобы заполнить длинную буферную трубку, идущую от крана высокого давления до шприца или до иглы, и тем самым обеспечить надлежащую воспроизводимость. Дополнительный объем может достигать пятикратного значения аналитического, что для многих анализируемых образцов неприемлемо. Конечно, в автодозаторах аспирационного типа обычно предусмотрено несколько режимов ввода пробы, например совместная инъекция с растворителем или с прослойкой воздуха, которые призваны сократить разницу между аналитическим и реально отбираемым объемом. Однако эти механизмы помогают только уменьшить, но не нивелировать разницу полностью. Кроме того, подбор и изучение разных режимов ввода ведет к потере уже не только пробы, но и времени химика-аналитика. Таким образом, аспирационный тип дозирования сложно признать оптимальным и эффективным.

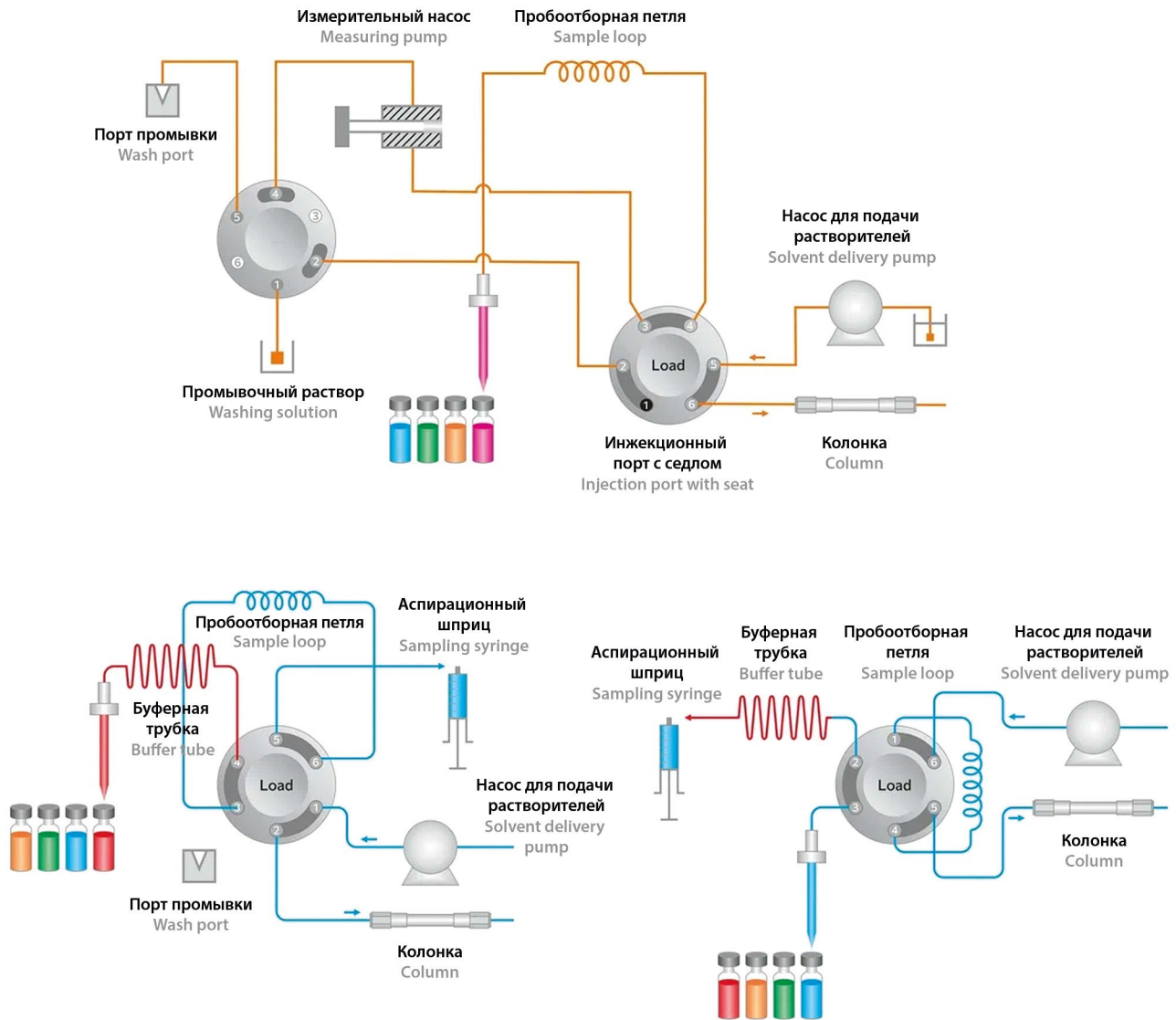


Рисунок 5. Схемы дозирования: прямое (вверху), аспирационное (два варианта исполнения внизу)
Figure 5. Sample introduction design: direct injection (split-loop type) – top, pulled-loop type – bottom

Если говорить о затратах времени и удобстве оператора, **аспираторная схема связана с трудоемким подбором промывочной жидкости** каждый раз при смене методики, так как в этом случае промывочная жидкость служит для промывки иглы не только снаружи, но и внутри и вносит существенный вклад в процесс деконтаминации. Ее неоптимальный или ошибочный подбор в автодозаторах аспирационного типа чреват повышением уровня перекрестного загрязнения между инъекциями и, как следствие, отсутствием повторяемости. При прямом дозировании интегрированная линия отбора пробы, состоящая из иглы с петлей, **непрерывно промывается подвижной фазой**, а промывочная жидкость используется только для очистки внешней поверхности иглы. Дополнительное преимущество

автодозатора «Скорострел» – возможность программирования алгоритма промывки пользователем для исключения кросс-переноса даже для самых сложных случаев применения и образцов, склонных к адсорбции на поверхности иглы.

Как правило, чем больше в конструкции дополнительных элементов, тем выше риск перекрестного загрязнения проб. Автодозаторы прямого дозирования сконструированы оптимальным образом, не содержат длинной буферной трубки, поэтому загрязнений не накапливают. Более того, автодозатор «Скорострел» имеет совмещенный с дозирующим краном инъекционный порт, в результате чего трансферная линия между этими элементами просто отсутствует. Такое конструктивное решение, а также проточный дизайн узла ввода (рисунок б), при котором инъекционный порт соосен плоскости вращения дозирующего кра-

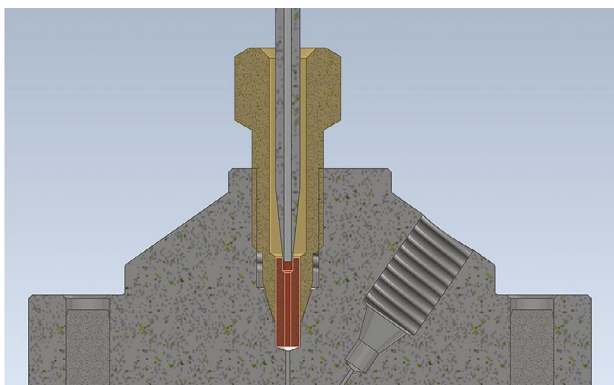
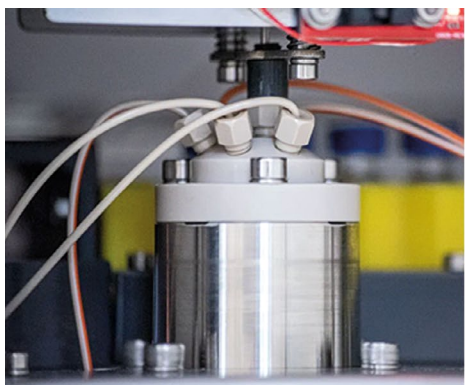


Рисунок 6. Проточный дизайн узла ввода пробы

Figure 6. Flow-through needle design

Таблица 1. Производительность автодозаторов разных типов

Table 1. Throughput of autosamplers with different sample introduction design

| | Sevko & Co «Скорород» Sevko & Co Skorohod | Agilent Technologies 1260 Infinity II | Waters Alliance iS | Типовой аспирационный Common pulled- loop type AS |
|--|--|---|---------------------------|--|
| Время одного цикла инъекции, с Injection cycle time, s | 50 | 51 | 60 | <90 |
| Количество виал объемом 2 мл Sample capacity (2 ml vials) | 153 | 132 | 144 или 162 144 or 162 | 96–108 |
| Схема дозирования Sample introduction design | split-loop | split-loop | split-loop | pulled-loop |

на, приводят к фактически **нулевому кросс-переносу**. В качестве иллюстрации приводим масс-спектры (рисунок 7) реальной пробы растительного экстракта (внизу) и пустой пробы, введенной после однократной промывки иглы (вверху), – на последнем следов пробы не регистрируется.

Немаловажным преимуществом автодозаторов прямого дозирования является их **быстродействие**. Если сравнить время одного цикла дозирования с промывкой иглы до и после инъекции (рисунок 8, таблица 1) для автодозаторов разного типа, видно, что в среднем **автодозаторы прямого ввода в 1,8 раза быстрее автодозаторов аспирационного типа**. Учитывая вместительный держатель для виал автодозатора «Скорород» (153 × 2 мл) и время одного цикла дозирования пробы, равное 50 с, можно смело утверждать, что этот инструмент не только не потратит зря вашу пробу, но и сэкономит время, повысив тем самым производительность лаборатории.

Высокие точность и повторяемость автодозатора прямого дозирования «Скорород», подтвержденные испытаниями (таблица 2, рисунок 9), заложены непосредственно в конструкцию прибора, которая исключает риски неправильного подбора промывочной жидкости, контаминации, неправильно выбранного режима ввода пробы и т. п.

Таблица 2. Автодозатор «Скорород». Повторяемость площади пика (ОСКО), %

Table 2. Skorohod autosampler. Peak area precision, % RSD

| Инъекция, № пп Injection, No. pp. | Площадь, мВ · с Area, mV · s |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| 1 | 5 226,9253 |
| 2 | 5 228,8436 |
| 3 | 5 216,1358 |
| 4 | 5 224,4435 |
| 5 | 5 215,5386 |
| 6 | 5 221,3296 |
| Среднее Average | 5222,2027 |
| СКО SD | 5,5391 |
| ОСКО, % RSD, % | 0,1061 |

СПЕЦИАЛЬНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Автодозатор «Скорород» представляет собой гибкую и универсальную платформу, которая легко масштабируется для специальных применений. Например, в конструкцию может быть включен дополнительный инъекционный кран высокого давления,

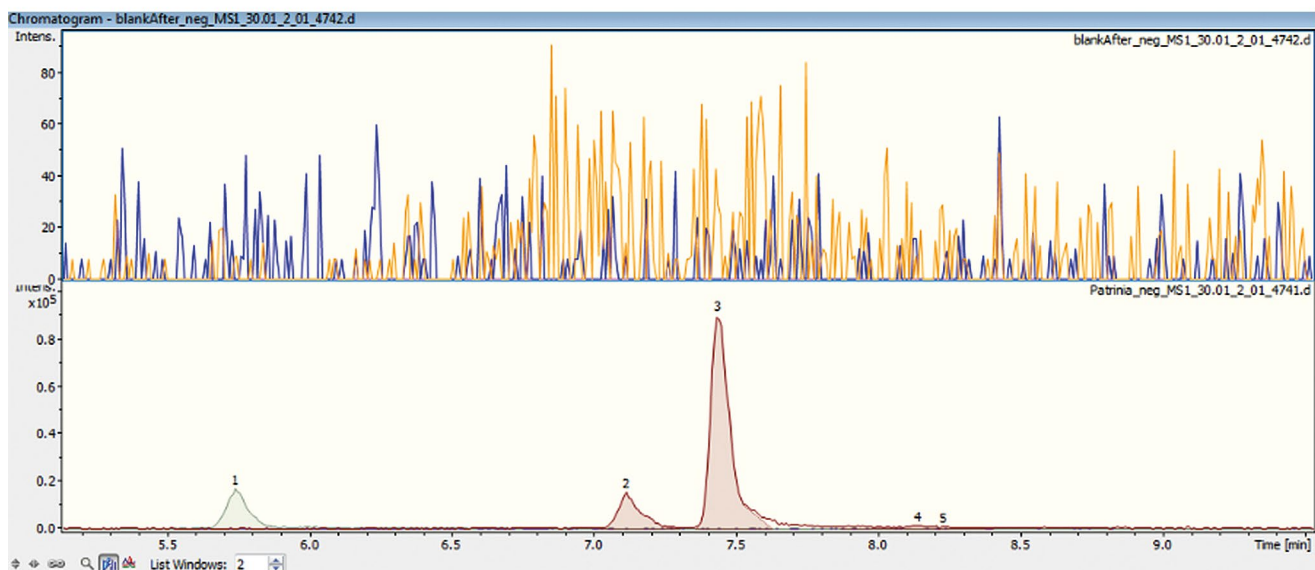


Рисунок 7. Масс-спектры, полученные на Bruker Maxis Impact HD (Q-TOF) с хроматографом «Скорход» в качестве фронтального ВЭЖХ:

вверху – пустая проба; внизу – растительный экстракт

Figure 7. Mass spectra obtained on a Bruker Maxis Impact HD (Q-TOF) with a Skorohod as a front-end HPLC:

top – blank sample; bottom – plant extract

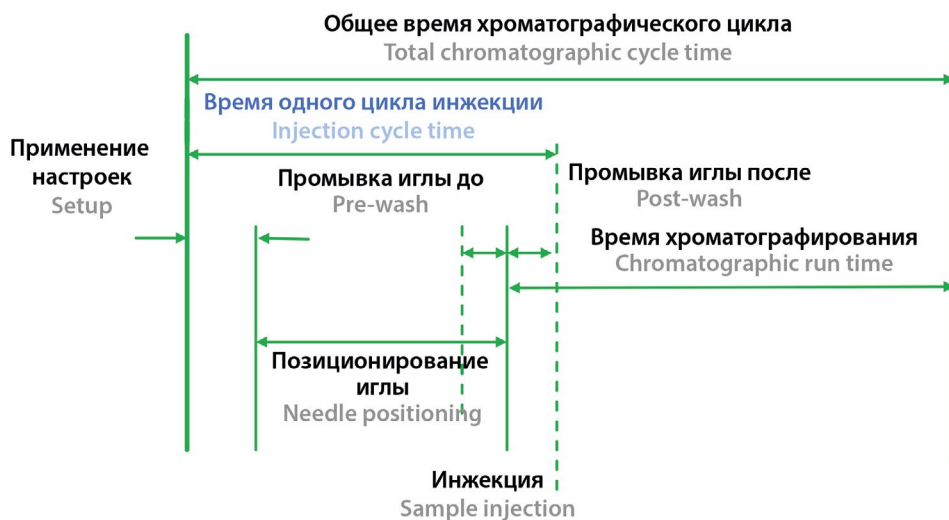


Рисунок 8. Схематичное представление времени одного цикла инъекции

Figure 8. Scheme of injection cycle time

что позволит создавать двухканальные схемы (рисунок 10). При этом возможен как последовательный, так и **одновременный ввод проб** в хроматограф.

Такие схемы могут быть полезны при разработке методик, когда одну и ту же пробу требуется проанализировать в нескольких хроматографических режимах с использованием разных подвижных фаз и/или детекторов, а также при параллельном определении в пробе катионов и анионов. Напротив, можно сконфигурировать две независимые анали-

тические линии с созданием градиента и одновременным анализом двух различных образцов. Например, при фармацевтическом контроле качества готовых ЛС одну линию использовать для определения родственных примесей, вторую – для теста на эффективность АФС. Таким образом, время, необходимое для регламентных испытаний, сократится вдвое икратно увеличится производительность лаборатории.

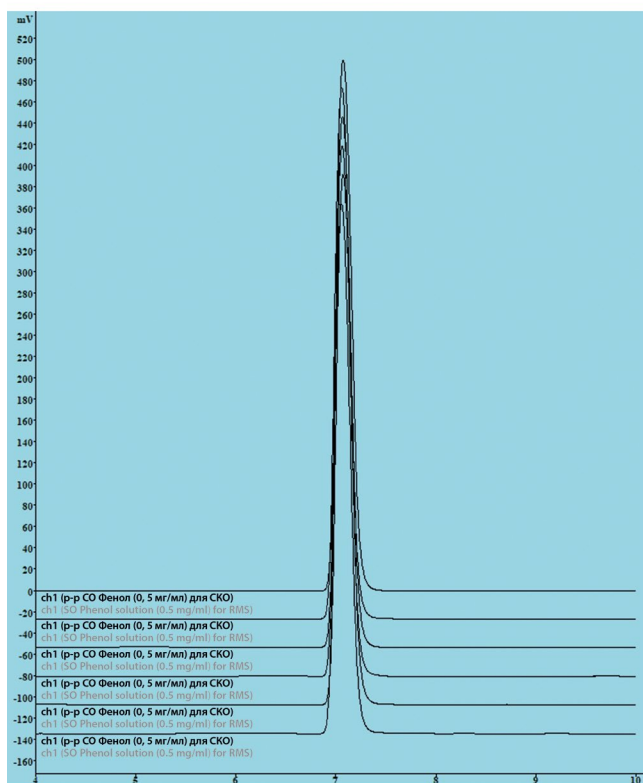


Рисунок 9. Автодозатор «Скорород». Повторяемость площади пика (СО фенола, 0,5 мг/мл, 5 мкл, $n = 6$). Детектор: СФД-1000

Figure 9. Skorohod autosampler. Peak area precision (phenol standard sample, 0.5 mg/ml, 5 μ l, $n = 6$). Detector: СФД-1000

В автодозаторе «Скорород» можно вместо 6-портового крана низкого давления установить 7-портовый кран с промывкой внешней поверхности иглы сразу несколькими растворителями (органическими, кислыми, щелочными и т. д.) или возможностью выбора из них, по аналогии со старшими моделями хроматографов Shimadzu LC-30 и LC-40. В настоящее время данная конфигурация – опциональная, в дальнейшем она запланирована в качестве базовой (рисунок 11).

Для высокопроизводительных анализов, например с масс-спектрометрическим детектором, актуально большое количество проб. Платформа автодозатора «Скорород» позволяет легко масштабировать стандартное исполнение, рассчитанное на 153 вials объемом 2 мл или три 96-луночных планшета. По заказу возможно исполнение с 306 вialами по 2 мл или шестью 96-луночными планшетами, то есть увеличение производительности вдвое.

Кроме того, универсальность платформы позволяет использовать ее не только для автодозатора, но и для конструирования автоматического коллектора фракций.

Компания Sevko & Co заботится не только о функциональности всех модулей ВЭЖХ-системы «Скорород», удобстве эксплуатации и бесперебойной штатной работе, но и о вашей безопасности. Автодозатор «Скорород» соответствует всем требованиям промышленной безопасности и оснащен системой блокировки. При открытии двери срабатывает датчик (рисунок 12) и работа манипулятора с иглой автоматически останавливается. Это полностью исключает травмирование персонала.

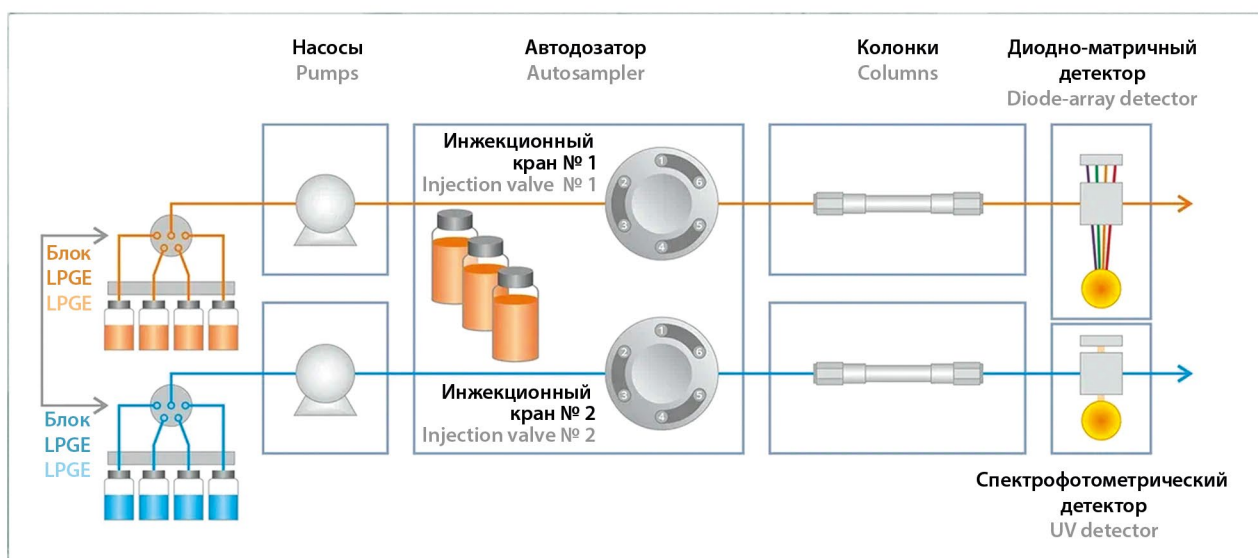


Рисунок 10. Схема двухканального ВЭЖХ «Скорород» с единым автодозатором

Figure 10. Dual-injection HPLC Skorohod with a single autosampler

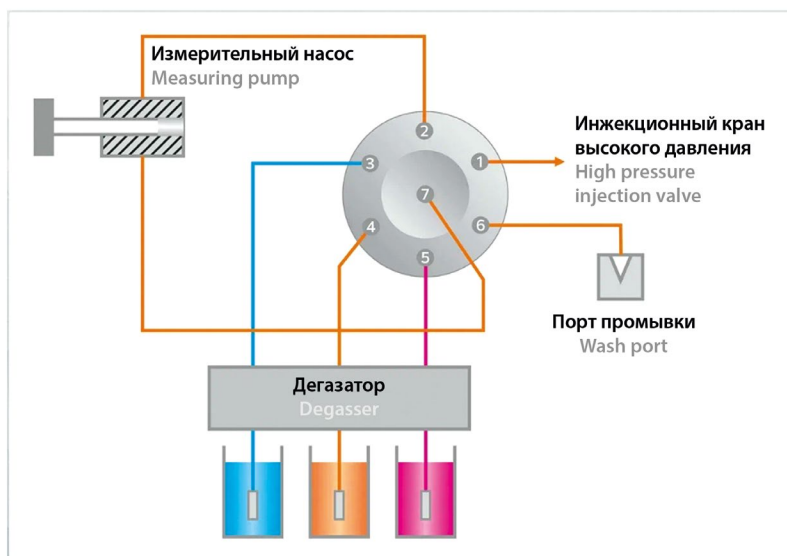


Рисунок 11. 7-портовый кран низкого давления с возможностью выбора нескольких промывочных жидкостей

Figure 11. 7-port low pressure valve for multiple solution needle rinsing



Рисунок 12. Датчик открытия двери

Figure 12. Door sensor

* * * *

Автодозатор «Скороход» компании Sevko & Co эффективно работает со сложными пробами и минимальными объемами образцов; экономит время оператора и делает его работу комфортной и безопасной; практически полностью исключает перекрестную контаминацию, тем самым повышая качество и повторяемость измерений; обладает высокой точностью и быстродействием; легок в обслуживании и ремонте.

Специальные возможности, предлагаемые Производителем, смогут удовлетворить самые взыскательные требования и помочь в разрешении нетривиальных аналитических задач.

В заключение кратко суммируем **преимущества автодозатора «Скороход» прямого дозирования пробы из иглы**, обозначенные в статье.

- ✓ Отбирается только аналитический объем пробы.
- ✓ Проба не тратится зря.
- ✓ Не нужно тратить время на подбор промывочной жидкости или режима дозирования.
- ✓ Нулевой кросс-перенос:
 - отсутствие избыточных узлов в схеме – буферной трубки, трансферной линии между инъекционным портом и дозирующим краном высокого давления;
 - проточный дизайн узла ввода пробы – инъекционный порт соосен плоскости вращения дозирующего крана;
 - непрерывная промывка дозирующей линии внутри подвижной фазой.
- ✓ Высокое быстродействие и производительность автодозатора.
- ✓ Высокая повторяемость дозирования пробы (ОСКО).

1 ИЮНЯ – 30 НОЯБРЯ 2025г.



ГХР-ПРОФИ 2025

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ОТРАСЛЕВОЙ КОНКУРС
ИННОВАЦИОННЫХ ПРОЕКТОВ
В ОБЛАСТИ КАЧЕСТВА

ФЛАГМАНЫ
КАЧЕСТВА,
МЕНЯЮЩИЕ
РЕАЛЬНОСТЬ





О возможности использования гиалуроновой кислоты в композиции с рением-188 для радиосиновиортеза

К. В. Майоров¹, Н. Д. Белоглазова¹✉, Н. Г. Сашова¹, Г. Е. Кодина²,
А. О. Малышева², О. Е. Клементьева³

¹ ООО «БЕБИГ». 123458, Россия, г. Москва, ул. Твардовского, д. 8, стр. 1

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России). 123098, Россия, г. Москва, ул. Живописная, д. 46

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России). 115522, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

✉ Контактное лицо: Белоглазова Наталья Дмитриевна. E-mail: Natalibeloglazova1997@gmail.com

ORCID: К. В. Майоров – <https://orcid.org/0000-0002-3254-2846>;
Н. Д. Белоглазова – <https://orcid.org/0009-0009-7784-2146>;
Н. Г. Сашова – <https://orcid.org/0009-0004-3588-9433>;
Г. Е. Кодина – <https://orcid.org/0000-0002-3415-4329>;
А. О. Малышева – <https://orcid.org/0000-0002-9508-2840>;
О. Е. Клементьева – <https://orcid.org/0000-0002-6604-0860>.

Статья поступила: 07.11.2024

Статья принята в печать: 28.03.2025

Статья опубликована: 28.03.2025

Резюме

Введение. Одним из самых распространенных поражений суставов является остеоартрит. Численность больных стремительно растет, и, по прогнозам, к 2050 г. количество людей в мире, заболевших остеоартритом, превысит 1 миллиард. В ряде европейских стран в качестве лечения применяется процедура радиосиновиортеза. В ее основе лежит облучение синовиального сустава при внутрисуставном введении различных радиофармпрепаратов, содержащих β-излучающие радионуклиды.

Цель. Изучение возможности создания радиофармацевтической композиции для радиосиновиортеза на основе рения-188 и гиалуроновой кислоты в качестве стабилизатора.

Материалы и методы. Раствор натрия перрената, ¹⁸⁸Re получали из генератора ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re «ГРЕН-1» (АО «ГНЦ РФ – ФЭИ», Россия). Активность ¹⁸⁸Re измеряли на дозкалибраторе ISOMED 2010 (PTW-Freiburg, Германия). Метод тонкослойной хроматографии на пластинках с тонким слоем силикагеля на алюминиевой подложке в ацетоне использовали для определения радиохимической чистоты. Измерение активности участков хроматограммы проводили на сканере хроматограмм Scan-RAM (LabLogic Systems Ltd., Великобритания). С помощью pH-метра S20 Seven Easy (METTLER TOLEDO, Швейцария) измеряли pH. Размер частиц определяли методом лазерной дифракции на приборе LA-350 с диапазоном определения 0,1–1000 мкм (HORIBA, Япония). Накопление ¹⁸⁸Re в суставе определяли на гамма-счетчике Wizard 2480 (PerkinElmer, США) после внутрисуставного введения композиции половозрелым крысам, конвенциональным альбиносам (самки).

Результаты и обсуждение. В рамках исследований проведено сравнение физико-химических свойств синтезированных композиций, полученных различными способами. Найдена оптимальная концентрация гиалуроновой кислоты и определена возможность лиофилизации реагента, содержащего гиалуроновую кислоту и другие вспомогательные вещества. Изучено биологическое поведение синтезированных композиций после внутрисуставного введения половозрелым крысам, конвенциональным альбиносам (самки).

Заключение. Разработана радиофармацевтическая композиция, содержащая рений-188 и гиалуроновую кислоту, с радиохимической чистотой более 95 %. Накопление радионуклида в коленном суставе составляло более 96 % через 3 ч после внутрисуставного введения. Данная композиция представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве радиофармацевтического лекарственного препарата для радиосиновиортеза.

Ключевые слова: ядерная медицина, радиофармацевтические лекарственные препараты, рений-188, радионуклидный генератор, гиалуроновая кислота, радиосиновиортез, остеоартрит, радиохимическая чистота

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

Вклад авторов. К. В. Майоров, Н. Д. Белоглазова – анализ литературных данных. А. О. Малышева, Г. Е. Кодина – вклад в концепцию работы, анализ и интерпретация результатов работы. О. Е. Клементьева – планирование дизайна экспериментов, их проведение, обработка полученных результатов, разработка состава лекарственной композиции. Н. Г. Сашова, Г. Е. Кодина, А. О. Малышева, О. Е. Клементьева Н. Д. Белоглазова участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Результаты работы и публикация статьи выполнены при финансовой поддержке ООО «БЕБИГ».

Для цитирования: Майоров К. В., Белоглазова Н. Д., Сашова Н. Г., Кодина Г. Е., Малышева А. О., Клементьева О. Е. О возможности использования гиалуроновой кислоты в композиции с рением-188 для радиосиновиортеза. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):28–36. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1966>

On the possibility of using hyaluronic acid in a composition with rhenium-188 for radiosynoviorthesis

Kirill V. Mayorov¹, Natalia D. Beloglazova¹✉, Natalia G. Sashova¹, Galina E. Kodina², Anna O. Malysheva², Olga E. Klementyeva³

¹ LLC "BEBIG". 8/1, Tvardovskogo str., Moscow, 123458, Russia

² State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency. 46, Zhivopisnaya str., Moscow, 123098, Russia

³ Federal State Budgetary Institution «N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation (N. N. Blokhin NMRCO). 23, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russia

✉ **Corresponding author:** Natalia D. Beloglazova. **E-mail:** Natalibeloglazova1997@gmail.com

ORCID: Kirill V. Mayorov – <https://orcid.org/0000-0002-3254-2846>;

Natalia D. Beloglazova – <https://orcid.org/0009-0009-7784-2146>;

Natalia G. Sashova – <https://orcid.org/0009-0004-3588-9433>;

Galina E. Kodina – <https://orcid.org/0000-0002-3415-4329>;

Anna O. Malysheva – <https://orcid.org/0000-0002-9508-2840>;

Olga E. Klementyeva – <https://orcid.org/0000-0002-6604-0860>.

Received: 07.11.2024

Accepted: 28.03.2025

Published: 28.03.2025

Abstract

Introduction. Osteoarthritis is one of the most common joint diseases. The number of patients is growing rapidly and by 2050, the number of people in the world suffering from osteoarthritis is expected to exceed 1 billion. In a number of European countries, radiosynoviorthesis is used as a treatment. It is based on irradiation of the joint synovium with intra-articular administration of various radiopharmaceuticals containing β -emitting radionuclides.

Aim. Development of a radiopharmaceutical composition for radiosynoviorthesis based on rhenium-188 and hyaluronic acid as a particle stabilizer.

Materials and methods Sodium perrhenate solution, ^{188}Re was obtained from a $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ generator "GREN-1" (JSC "SSC RF – IPPE", Russia). Eluate activity was measured on an ISOMED 2010 (PTW-Freiburg, Germany). Radiochemical purity was determined by thin-layer chromatography on thin-layer silica gel plates on aluminum substrate in acetone. The activity of chromatogram was measured on a Scan-RAM chromatogram scanner (LabLogic Systems Ltd., United Kingdom). pH was measured on S20 Seven Easy pH meter (METTLER TOLEDO, Switzerland). Particle size was determined by laser diffraction on an LA-350 device with a detection range of 0.1–1000 μm (HORIBA, Japan). Accumulation in the joint was determined on a Wizard 2480 gamma counter (PerkinElmer, USA) after intra-articular administration of the composition to mature conventional albino rats (females).

Results and discussion. The study included a comparison of the physico-chemical properties of the synthesized compositions with different volume activities, the optimal concentration of hyaluronic acid, and the methods for obtaining the radiopharmaceutical composition both from the liquid and freeze-dried reagents. The biological behavior of the radiopharmaceutical composition after intra-articular administration to mature conventional albino rats (females) were studied.

Conclusion. Radiopharmaceutical composition containing rhenium-188, tin dichloride and hyaluronic acid with a radiochemical purity of more than 95 % has been developed. The accumulation of the composition in the knee joint was more than 96 % 3 hours after intra-articular administration. This composition is of interest for further study as a radiopharmaceutical for radiosynoviorthesis.

Keywords: nuclear medicine, radiopharmaceuticals, rhenium-188, radionuclide generator, hyaluronic acid, radiosynoviorthesis, osteoarthritis, radiochemical purity

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. Kirill V. Mayorov, Natalia D. Beloglazova – analysis of literature data. Anna O. Malysheva, Galina E. Kodina – significant contribution to the concept of the work, analysis and interpretation of the results. Anna O. Malysheva, Olga E. Klementyeva – planning the design of experiments, conducting them, processing the results obtained, developing the radiopharmaceutical composition. Natalia G. Sashova, Galina E. Kodina, Anna O. Malysheva, Olga E. Klementyeva participated in writing the text of the article. All authors took part in the discussion of the results.

Funding. The results of the work and the publication of the article were carried out with the financial support of LLC "BEBIG".

For citation: Mayorov K. V., Beloglazova N. D., Sashova N. G., Kodina G. E., Malysheva A. O., Klementyeva O. E. On the possibility of using hyaluronic acid in a composition with rhenium-188 for radiosynoviorthesis. *Drug development & registration*. 2025;14(2):28–36. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1966>

ВВЕДЕНИЕ

Остеoarthritis (OA) продолжает оставаться самым часто встречающимся поражением суставов. По исследованиям за 2021 г. [1], проведенным Институтом измерения показателей и оценки состояния здоровья (ИМЭ), прогнозируют, что к 2050 г. количество людей, заболевших остеоартритом, превысит 1 миллиард. Рост количества пациентов с OA на 48 % отмечен с 2001 по 2005 г., согласно статистическим данным Минздрава России [2]. В Российских клинических рекомендациях OA – это гетерогенная группа заболеваний различной этиологии. Принято считать, что нарушения первоначально происходят на молекулярном уровне и только потом – с образованием анатомических и функциональных изменений, таких как дегградация хряща, костное ремоделирование, образование остеофитов, воспаление и т. д. [3]. В суставах кистей, стоп, а также в коленных и тазобедренных суставах такие поражения образуются чаще всего [4]. К стойкому выраженному нарушению функции сустава приводит прогрессирование OA. Терапия с использованием внутрисуставного введения коллоидных растворов бета-излучающих радионуклидов известна более 70 лет и показана пациентам, страдающим различными заболеваниями суставов, как отмечено в Руководстве Европейской ассоциации ядерной медицины (EANM) по радиосиновиортезу [5].

Радионуклиды и препараты для радиосиновиортеза

В зависимости от размера сустава в рутинной клинической практике используют три радиоколлоида с различными физическими свойствами: ^{90}Y иттрия цитрат только для лечения коленных суставов, ^{186}Re рения сульфид для суставов среднего размера и ^{169}Er эрбия цитрат для суставов малого размера (пястно-фаланговые, плюснефаланговые и межфаланговые). Эти препараты применяются в странах ЕС и некоторых других. Особенно интенсивно радиосиновиортез применяется в Германии ($\approx 80\%$ европейского рынка) [5]. В течение многолетней истории

применения радиосиновиортеза в оригинальной литературе и обзорах описано использование и других β^- -излучающих радионуклидов, способных к образованию коллоидных растворов или суспензий, – ^{198}Au , ^{109}Pd , ^{165}Dy , ^{166}Ho , ^{177}Lu , ^{32}P , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{117}mSn [5–9]. Ядерно-физические свойства этих радионуклидов, методы их получения, а также преимущества и недостатки препаратов на их основе подробно описаны в техническом докладе МАГАТЭ [10]. Для радионуклидной терапии рений-188 считают одним из наиболее перспективных изотопов. Энергия β^- -излучения (2,12 МэВ) достаточна, чтобы проникнуть сквозь 5–10 мм утолщенной синовиальной оболочки, а период полураспада рения-188 составляет 16,9 ч. Это обеспечивает достижение ожидаемого терапевтического эффекта от воздействия радиофармацевтического препарата (РФП) с минимумом остаточных опасных эффектов. Также возможно скинтиграфическое наблюдение за распределением активности в организме пациента благодаря гамма-излучению рения-188 ($E_\gamma = 155$ кэВ). ^{188}Re , образующийся при распаде материнского ^{188}W в колонке сорбционного генератора $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$, элюируют 0,9%-м раствором NaCl или получают в экстракционном генераторе путем экстракции ^{188}Re метилэтилкетонем с последующим упариванием экстракта и растворением осадка в 0,9%-м NaCl. В обоих вариантах ^{188}Re переходит в раствор в форме перрената натрия ($\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$) [11].

Следует отметить, что в нашей стране техника радиосиновиортеза практически не применялась после первых исследований в начале 1990-х [6], не нашедших дальнейшего развития в течение двадцати последующих лет. Позднее, в рамках федеральной целевой программы (ФЦП) «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» («Фарма-2020»), практически параллельно были реализованы 2 проекта по доклиническим исследованиям инновационных РФП на основе ^{188}Re для радиосиновиортеза [8, 12–14]. В обоих случаях для изготовления РФП предложено использовать наборы лиофилизатов, состав которых представлен ниже в таблице 1.

Таблица 1. Основные характеристики препаратов для радиосиновиортеза на основе рения-188, разработанных в рамках ФЦП «Фарма-2020»

Table 1. Main characteristics of radiopharmaceuticals (RPh) for radiosynoviorthesis based on rhenium-188, developed within the framework of the Federal Target Program "Pharma-2020"

| Проектное наименование препарата Project name of the radiopharmaceutical | Состав набора реагентов (лиофилизатов) Composition of the reagent kit (freeze-dried) | | | Источник Source of information |
|--|---|---|-------------------------------------|--|
| | Реагент № 1 Reagent No. 1 | Реагент № 2 Reagent No. 2 | Реагент № 3 Reagent No. 3 | |
| «Синорен, ¹⁸⁸ Re», набор для приготовления раствора для внутрисуставного введения "Synoren, ¹⁸⁸ Re", kit for solution preparation for intra-articular administration | SnCl ₂ · 2H ₂ O; полисорбат-80 SnCl ₂ · 2H ₂ O; polysorbate 80 | Смесь фосфатов натрия и гидроксида натрия Mixture of sodium phosphates and sodium hydroxide | – | Патент РФ на изобретение № 2624237 [13] Patent RUS No. 2624237 [13] |
| Микросферы альбумина 5–10 мкм, набор для приготовления раствора для внутрисуставного введения «Артро-рен-МРНЦ» Albumin microspheres 5–10 μm, kit for solution preparation for intra-articular administration «Arthroren-MRNC» | SnCl ₂ · 2H ₂ O; аскорбиновая кислота SnCl ₂ · 2H ₂ O; ascorbic acid | Микросферы альбумина, 5–10 мкм; полисорбат-80/твин-80 Albumin microspheres, 5–10 μm; polysorbate 80/Tween 80 | К, Na виннокислый K, Na tartrate | Патент РФ на изобретение № 2698101 [14] Patent RUS No. 2624237 [14] |

В 2022 г. начаты клинические исследования композиции «Артро-рен-МРНЦ» [15] для терапии хронического синовита крупных суставов (коленные и локтевые; в настоящее время завершается вторая фаза). Достигнут терапевтический эффект: ликвидация/снижение воспалительной реакции.

Использование гиалуроновой кислоты для радиосиновиортеза

Применение гиалуроновой кислоты (ГлК) в составе различных лекарственных средств и/или медицинских изделий для терапии суставных заболеваний известно (например, [16]) и не является предметом настоящей статьи. Однако совмещение в составе РФП радионуклида и ГлК описано относительно недавно. В патенте [17] речь идет о коллоидной суспензии ГлК с изотопом ^{117m}Sn для лечения воспаления суставов. Долгосрочное облегчение симптомов и устранение воспалительной деструкции суставов связано с терапевтическим действием излучения ^{117m}Sn, а ГлК стабилизирует радионуклид в виде коллоида олова, который удерживается в суставе, предотвращая повреждение околосуставной ткани. Активность ^{117m}Sn варьирует в интервале 0,05–20 мКи в зависимости от размера сустава. ^{117m}Sn распадается с испусканием конверсионных электронов, которые имеют ограниченный пробег в тканях и не разрушают клетки костного мозга. К преимуществам радионуклида относится наличие в спектре излучения ^{117m}Sn гамма-квантов с удобной для регистрации энергией 159 кэВ (86 %). Основным препятствием использования ^{117m}Sn является его высокая стоимость, поскольку для его наработки требуются вы-

сокопоточные реакторы [18]. С точки зрения перспектив развития радиосиновиортеза препарат ¹⁸⁸Re представляется наиболее универсальным благодаря физическим характеристикам радионуклида, описанным выше. При получении препаратов ¹⁸⁸Re в реакции восстановления дихлоридом олова (II) в нейтральной среде и при отсутствии сильных хелаторов переходит в состояние гидролизованного восстановленного рения (IV), соосаждающегося с коллоидными частицами одновременно образующихся оксидов олова. А полисорбат-80/твин-80 или ГлК стабилизирует получаемую суспензию аналогично тому, что происходит при получении РФП с ^{117m}Sn.

Цель работы – изучение возможности замены стабилизатора частиц (полисорбата-80) в РФП «Синорен,¹⁸⁸Re» на гиалуроновую кислоту и разработка на этой основе новой радиофармацевтической композиции для радиосиновиортеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Раствор натрия перрената, ¹⁸⁸Re получали из генератора ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re «ГРЕН-1» (АО «ГНЦ РФ – ФЭИ», Россия) путем его элюирования 5 мл 0,9%-го раствора NaCl. В некоторых экспериментах для увеличения объемной активности проводили фракционное элюирование, отбрасывая первые 2 мл и используя только последующие 3 мл для приготовления препарата.

«ГлК,¹⁸⁸Re» изготавливали из трех компонентов: раствора реагента № 1 (позже был получен лиофилизат реагента № 1 после оптимизации состава), лиофилизата реагента № 2 и натрия перрената, ¹⁸⁸Re, получаемого из генератора ¹⁸⁸W/¹⁸⁸Re «ГРЕН-1». При этом

реагент № 1 содержал вместо полисорбата-80 определенные количества ГлК (Cat. N 51967, Sigma-Aldrich) и маннита (ТУ 6-09-5484-90), а состав реагента № 2 был полностью аналогичен применяемому для приготовления РФП «Синорен, ^{188}Re » (таблица 1). Способы получения образцов, содержащих ГлК и ^{188}Re , описаны далее по тексту экспериментальной части.

Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах с тонким слоем силикагеля на алюминиевой подложке (Cat. N 1.05553.0001, Merck) в ацетоне определяли радиохимическую чистоту (РХЧ) «ГлК, ^{188}Re ». На старте остается коллоид рения-188 ($R_f = 0,0 \pm 0,05$), а натрия перренат продвигается с фронтом растворителя ($R_f = 0,95 \pm 0,05$). Измерение активности участков хроматограммы проводили с использованием сканера хроматограмм Scan-RAM. Значение РХЧ (содержание ^{188}Re в суспензии коллоидных частиц) должно быть не менее 90 %.

Содержание $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в реагенте № 1 контролировали спектрофотометрическим методом при длине волны 353 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм на спектрофотометре Helios Omega (Thermo Fisher Scientific, США).

Определение размера частиц в модельных растворах композиций проводили методом лазерной дифракции на приборе LA-350 с диапазоном определения 0,1–1000 фирмы Horiba.

Изучение биологического поведения препаратов проводили на половозрелых крысах-альбиносах. В коленный сустав (без патологии) вводили 0,2 мл изучаемых препаратов (6–8 МБк). Крысы были умерщвлены частичной декапитацией через 3 ч после внутрисуставной инъекции. Тушку животного до изъятия органов, а также пробы крови и мышечной ткани взвешивали. Для измерения активности были взяты: кровь (~0,5 мл), скелетная мышца (~1 г), сердце, легкие, почки, печень, желудок, селезенка, коленные суставы (в который был введен препарат и симметричный), наполненный мочевого пузыря. Радиометрия проб проведена с использованием автоматического гамма-счетчика Wizard 2480 (PerkinElmer, США). Время измерения пробы составляло 20 с по внутреннему протоколу измерения, коррекция и вычисление скорости счета (в СРМ = имп/мин) выполнялось с использованием программного обеспечения прибора. Долю РФП, накопленного в указанных органах, рассчитывали по формуле 1:

$$A_k = \frac{A_{\text{пробы}}}{A_{\text{эталон}}} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

где $A_{\text{пробы}}$ – счет образца в импульсах/мин; $A_{\text{эталон}}$ – суммарная активность всех органов животного в импульсах/мин.

Суммарную активность органов определяли, суммируя значения счета (СРМ) от каждой пробы органов для каждого животного. Счет для всего объема циркулирующей крови и всей массы скелетных

мышц вычисляли, принимая общепринятые справочные значения: массы всей циркулирующей крови – 7 %, массы всей мышечной ткани – 45 % от массы тела животных.

Данные аккумулярованной активности рассчитаны на весь орган, так как только такой формат представления результатов позволяет оценить истинный характер биологического поведения радиофармацевтической композиции и объем ее «утечки» из места введения в масштабе целостного организма.

Все процедуры с экспериментальными животными выполнены согласно правилам Европейской конвенции по защите лабораторных животных, изложенной в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС) и Руководстве по лабораторным животным [19]. Исследование одобрено на заседании локального биоэтического комитета (протокол № 38 от 03.09.2020) ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А. И. Бурназяна ФМБА России.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение степени восстановления ^{188}Re в зависимости от концентрации гиалуроновой кислоты и pH реакционной смеси

Роль ГлК при локальном введении РФП в сустав сводится к стабилизации коллоидных частиц определенного размера в препарате, а не к замене синовиальной жидкости. Поэтому концентрация ГлК в препарате должна быть значительно ниже тех, которые обычно применяют в качестве протеза синовиальной жидкости. В первую очередь на модельных растворах, в которых $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ был заменен 0,9%-м раствором NaCl, была выбрана концентрация ГлК с молекулярной массой 2 000 000–2 200 000 Дальтон, достаточная для стабилизации суспензии образующихся частиц. На основе 0,1%-го и 0,2%-го растворов ГлК были приготовлены модельные растворы радиофармацевтической композиции, где раствор $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ заменяли 0,8 мл 0,9%-го раствора NaCl для получения конечного объема препарата 1,0 мл. При использовании 0,1 мл 0,2%-го раствора ГлК образовывалась устойчивая и однородная суспензия с размером частиц 13,8 мкм (концентрация ГлК в препарате – 0,2 мг/мл или 0,02 %). Такая концентрация была выбрана для дальнейших экспериментов. Далее было проведено сравнение двух способов изготовления «ГлК, ^{188}Re ».

Способ № 1: во флакон, содержащий маннит, добавляли раствор $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ и перемешивали до полного растворения маннита. Затем прибавляли 0,1 мл 0,2%-го раствора ГлК и 0,1 мл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (200,0 мг/мл в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной). Полученную смесь перемешивали на шейкере и выдерживали при комнатной температуре 15 мин, 30 мин и 1 час. По истечении времени весь объем полученной смеси переносили во флакон с

лиофилизированным реагентом № 2, содержащий 8 мг натрия гидрофосфата додекагидрата, 1,9 мг натрия фосфата додекагидрата и 4,8 мг натрия гидроксида. Содержимое флакона перемешивали на шейкере. Объем препарата – 1,0 мл.

Способ № 2: во флакон № 2 добавляли раствор $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ и маннита. Смесь перемешивали до полного растворения лиофилизата. Далее добавляли 0,1 мл 0,2%-го раствора ГлК и 0,1 мл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (200,0 мг/мл в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной). Полученную смесь перемешивали на шейкере и выдерживали при комнатной температуре необходимое время. Пробу для определения РХЧ отбирали через 15 мин, 30 мин и 1 час (таблица 2). Из таблицы 2 видно, что при использовании способа № 2 «ГлК, ^{188}Re » всегда получались с низкими значениями РХЧ независимо от времени инкубирования. Это можно объяснить тем, что восстановление ^{188}Re преимущественно протекает в кислой среде. Поэтому для изготовления «ГлК, ^{188}Re » в дальнейших экспериментах использовали способ № 1. При этом необходимо инкубирование реакционной смеси реагента № 1 и $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ в течение 30–60 мин для достижения требуемого уровня РХЧ получаемого препарата. Выдерживание раствора смеси реагента № 1 и $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ более 1 ч существенно не меняло значение РХЧ.

Определение радиохимической чистоты радиофармацевтических композиций «ГлК, ^{188}Re », изготовленных из лиофилизированных реагентов

Ранее при разработке состава РФП «Синорен, ^{188}Re » была найдена оптимальная концентрация $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ во флаконе № 1 – 20 мг/мл [10]. В настоящем исследовании

установлено, что при снижении концентрации $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ восстановление ^{188}Re протекает плохо, значение РХЧ менее 65 %. Таким образом, было принято решение не менять содержание $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в реагенте № 1. В результате был выбран следующий состав реагента № 1 во флаконе: $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 20,0 мг; гиалуриновая кислота – 0,2 мг; маннит – 10 мг.

Изучение возможности лиофилизации реагента № 1, содержащего ГлК, было проведено на установке Genesis 25L SQ EL. Радиофармацевтическую композицию «ГлК, ^{188}Re » готовили как из лиофилизированных реагентов № 1, так и из жидкого реагента № 1 для сравнения. Для лиофилизации раствор реагента № 1 разделяли на 2 части в равных объемах. Затем одну часть раствора реагента до лиофилизации фильтровали через стерилизующий фильтр с размером пор 0,22 мкм, а другую часть оставляли нефилтрованной. Растворы реагентов фасовали во флаконы для лекарственных средств по 1 мл и помещали в предварительно охлажденную камеру лиофильной суши (таблица 3).

По окончании процесса лиофилизации камеру лиофильной суши заполняли аргоном, предварительно пропущенным через колонку с осушителем, закупоривали резиновыми пробками и завальцовывали алюминиевыми колпачками.

Радиофармацевтическую композицию «ГлК, ^{188}Re » из лиофилизатов готовили следующим образом: во флакон с реагентом № 1 вводили 1,0 мл раствора $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$. Полученную радиоактивную суспензию перемешивали на шейкере в течение 10 с и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Из флакона с реагентом № 1 отбирали все содержимое и вводили во флакон с реагентом № 2, перемешивали

Таблица 2. Результаты определения радиохимической чистоты (РХЧ) и pH «ГлК, ^{188}Re » (n = 3)

Table 2. Results of determination of radiochemical purity (RCP) and pH of "GIC, ^{188}Re " (n = 3)

| Радиохимическая чистота, % Radiochemical purity, % | Способ № 1 (восстановление ^{188}Re при pH 2,0–2,5) Method № 1 (^{188}Re reduction at pH 2.0–2.5) | Способ № 2 (восстановление ^{188}Re при pH 5,5) Method № 2 (^{188}Re reduction at pH 5.5) | pH готовой композиции pH of the finished composition | |
|---|--|--|---|--------------------------|
| | | | Способ № 1 Method № 1 | Способ № 2 Method № 2 |
| Время инкубирования 15 мин Incubation time 15 min | | | | |
| РХЧ, % RCP, % | 88,9 ± 0,4 | 35,5 ± 0,3 | 7,0 | 5,5 |
| ReO_4^- , % | 11,1 ± 0,4 | 64,5 ± 0,3 | | |
| Время инкубирования 30 мин Incubation time 30 min | | | | |
| РХЧ, % RCP, % | 91,0 ± 0,2 | 42,6 ± 0,4 | 7,0 | 5,5 |
| ReO_4^- , % | 9,0 ± 0,2 | 57,4 ± 0,4 | | |
| Время инкубирования 60 мин Incubation time 60 min | | | | |
| РХЧ, % RCP, % | 94,2 ± 0,1 | 43,1 ± 0,5 | 6,8 | 5,5 |
| ReO_4^- , % | 5,8 ± 0,1 | 56,9 ± 0,5 | | |

Таблица 3. Режим лиофилизации реагента № 1

Table 3. Lyophilization mode of reagent No. 1

| Шаг Move | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|------------------------------------|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Температура, °C Temperature, °C | -35 | -25 | -20 | -15 | -10 | 0 | +15 | +25 | +25 |
| Время выдерживания Holding time | 20 мин 20 min | 2 ч 2 h | 2 ч 2 h | 4 ч 4 h | 4 ч 4 h | 4 ч 4 h | 3 ч 3 h | 1 ч 1 h | 3 ч 3 h |

Таблица 4. Результаты определения РХЧ, pH и размера частиц радиофармацевтических композиций «ГлК,¹⁸⁸Re», изготовленных из жидкого и лиофилизованного реагентов № 1 (n = 3)

Table 4. Results of determination of RCP, pH and particle size of radiopharmaceutical compositions "GIC,¹⁸⁸Re" prepared from liquid and freeze-dried reagents No. 1 (n = 3)

| Реагент № 1 Reagent No. 1 | РХЧ, % RCP, % | pH реагента № 1 pH of reagent No. 1 | pH фармацевтической композиции pH of radiopharmaceutical composition | A, МБк/мл A, MBq/ml | Размер частиц, мкм Particle size, μm |
|--|--|--|---|------------------------|---|
| Жидкий Liquid | РХЧ 95,5 ± 0,2; ReO ₄ ⁻ 4,5 ± 0,2 RCP 95.5 ± 0.2; ReO ₄ ⁻ 4.5 ± 0.2 | 1,5 | 5,0 | 6,2 | 13,8 ± 1,1 |
| Ллиофилизат нефильтрованного раствора Lyophilisate of unfiltered solution | РХЧ 96,3 ± 0,4; ReO ₄ ⁻ 3,7 ± 0,4 RCP 96.3 ± 0.4; ReO ₄ ⁻ 3.7 ± 0.4 | 1,0 | 3,0 | 7,7 | 10,3 ± 1,3 |
| Ллиофилизат фильтрованного раствора Lyophilisate of filtered solution | РХЧ 96,0 ± 0,3; ReO ₄ ⁻ 4,0 ± 0,3 RCP 96.0 ± 0.3; ReO ₄ ⁻ 4.0 ± 0.3 | 1,0 | 3,0 | 7,7 | 9,8 ± 0,9 |

вали на шейкере в течение 10 с. Значения РХЧ всех композиций, полученных из жидкого и лиофилизованного реагентов № 1, составляли более 95 % (таблица 4).

Изучение биологического поведения радиофармацевтической композиции «ГлК,¹⁸⁸Re»

В таблице 5 представлены результаты распределения радиофармацевтической композиции «ГлК,¹⁸⁸Re» в сравнении с РФП «Синорен,¹⁸⁸Re» и РФП «Микросферы альбумина,¹⁸⁸Re» через 3 ч после их внутрисуставного введения. Существенных различий биологического поведения исследуемых композиций и известных РФП не установлено.

Накопление препаратов в коленном суставе через 3 ч после введения остается на уровне >90–95 %, что позволяет предположить перспективность применения композиции «ГлК,¹⁸⁸Re» для радионуклидной терапии ОА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определена степень восстановления ¹⁸⁸Re в зависимости от концентрации ГлК, pH среды и времени реакции при выбранной концентрации ГлК. По-

казана возможность замены полисорбата-80 в составе реагента № 1 0,2%-м раствором гиалуроновой кислоты и получения реагента № 1 в виде лиофилизата. Радиофармацевтическая композиция, содержащая рений-188, дихлорид олова и гиалуроновую кислоту, может быть получена с РХЧ более 90 %. Накопление в коленном суставе лабораторных животных составляло более 96 % через 3 ч после внутрисуставного введения. Данная композиция представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве радиофармацевтического лекарственного препарата для радиосиновиортеза.

ЛИТЕРАТУРА

- Gill T. K., Mittinty M. M., March L. M., et al. Global, regional, and national burden of other musculoskeletal disorders, 1990–2020, and projections to 2050: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Rheumatology*. 2023;5(11):e670–e682. DOI: 10.1016/S2665-9913(23)00232-1.
- Эрдес Ш. Ф., Фоломеева О. М. Ревматические заболевания и инвалидность взрослого населения Российской Федерации. *Научно-практическая ревматология*. 2007;45(4):4–9. DOI: 10.14412/1995-4484-2007-4-9.
- Насонова Е. Л., ред. Российские клинические рекомендации. Ревматология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017. 464 с.

Таблица 5. Распределение радиофармацевтических композиций «ГлК,¹⁸⁸Re» в сравнении с РФП «Синорен,¹⁸⁸Re» и РФП «Артрорен-МРНЦ» в организме крыс через 3 ч после их внутрисуставного введения (% от суммарной активности взятых органов)

Table 5. Distribution of the radiopharmaceuticals "GIK,¹⁸⁸Re" in comparison with the RPh "Synoren,¹⁸⁸Re" and the RPh "Arthroren-MRNC,¹⁸⁸Re" in rats 3 h after their intra-articular administration (% of the total activity of the organs taken)

| | «Синорен, ¹⁸⁸ Re» "Synoren, ¹⁸⁸ Re" | «Артрорен-МРНЦ» "Arthroren-MRNC, ¹⁸⁸ Re" | «ГлК, ¹⁸⁸ Re» из лиофилизата "GIK, ¹⁸⁸ Re" from freeze-dried reagent | «ГлК, ¹⁸⁸ Re» из жидкого реагента "GIK, ¹⁸⁸ Re" from liquid reagent |
|--|--|--|---|--|
| $C_{SnCl_2 \cdot 2H_2O}$ мг/мл $C_{SnCl_2 \cdot 2H_2O}$ mg/ml | 20,0 | 5,0 | 20,0 | 20,0 |
| $C_{ГлК}$ мг/мл C_{GIK} mg/ml | – | – | 0,2 | 0,2 |
| pH | 3,5 | 3,4 | 3,0 | 5,0 |
| РХЧ, % RCP, % | >90 | >95 | 96,0 | 95,5 |
| Органы Organs | Через 3 ч после введения, % 3 h after administration, % | | | |
| Кровь, мл Blood, ml | 0,13 ± 0,05 | 0,14 ± 0,03 | 0,03 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01 |
| Легкие Lungs | 0,06 ± 0,03 | 0,08 ± 0,01 | 0,04 ± 0,03 | 0,04 ± 0,02 |
| Печень Liver | 0,69 ± 0,26 | 0,54 ± 0,14 | 0,23 ± 0,06 | 0,18 ± 0,02 |
| Почки Kidneys | 0,41 ± 0,22 | 0,49 ± 0,09 | 2,59 ± 0,69 | 1,72 ± 0,27 |
| Селезенка Spleen | 0,54 ± 0,23 | 0,42 ± 0,11 | 0,01 ± 0,00 | 0,01 ± 0,00 |
| Место введения (сустав) Place of injection (joint) | 92,77 ± 3,64 | 95,52 ± 0,75 | 96,94 ± 0,81 | 97,52 ± 0,29 |

- Cooper C., Dennison E., Edwards M. H. Epidemiology of osteoarthritis. *Medicographia*. 2013;35(2):145–151.
- Kampen W. U., Boddenberg-Pätzold B., Fischer M., Gabriel M., Klett R., Konijnenberg M., Kresnik E., Lellouche H., Paycha F., Terslev L., Turkmen C., van der Zant F., Antunovic L., Panagiotidis E., Gnanasegaran G., Kuwert T., van den Wyngaert T. The EANM guideline for radiosynoviorthesis. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2022;49:681–708. DOI: 10.1007/s00259-021-05541-7.
- Дроздовский Б. Я., Иконников А. И., Крылов В. В. Радиосиновиортез в лечении больных ревматоидным артритом. *Медицинская радиология*. 1990;35(7):6–9.
- Зверев А. В., Крылов В. В., Ханов А. Г., Кочетова Т. Ю. Радиосиноэктомия – метод лечения воспалительных заболеваний суставов с помощью изотопов. *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение*. 2017;1(1):36–41.
- Кодина Г. Е., Малышева А. О., Клементьева О. Е., Таратоненкова Н. А., Лямцева Е. А., Жукова М. В., Краснопёрова А. С. «Синорен,¹⁸⁸Re» – потенциальный радиофармацевтический лекарственный препарат для радиосиноэктомии. *Радиация и риск*. 2018;27(4):76–86. DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-4-76-86.
- Shamim S. A., Arora G., Jha P., Gupta P., Behera A., Mukherjee A., Prabhu M., Ansari M. T., Vyas S., Bal C. Comparison of Lutetium-177 tin colloid and Rhenium-188 tin colloid radiosynovectomy in chronic knee arthritis. *Nuclear Medicine Communications*. 2020;41(8):721–726. DOI: 10.1097/MNM.0000000000001210.
- Production, quality control and clinical applications of radiosynovectomy agents. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2021. 140 p.
- Цивадзе А. Ю., Филянин А. Т., Романовский В. Н., Зыков М. П., Кодина Г. Е., Малышева А. О., Филянин О. А., Непомнящий О. Н. Экстракционный центробежный генератор ¹⁸⁸Re и радиофармпрепараты на его основе для радионуклидной терапии. *Радиохимия*. 2016;58(5):513–520.
- Lunev A., Klement'eva O., Zverev A. Studying of radiation safety of ¹⁸⁸Re-labeled MAA preparation for treatment of resistant synovitis. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2020;65(6):38–46. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-6-38-46.
- Кодина Г. Е. Радиофармацевтическая композиция для радиосиноэктомии и способ ее получения. Патент РФ на изобретение № RU 2624237. 03.07.2017. Бюл. № 19. Доступно по: https://yandex.ru/patents/doc/RU2624237C1_20170703. Ссылка активна на 07.11.2024.
- Зверев А. В., Дорватовский С. А., Петриев В. М., Скворцов В. Г., Каприн А. Д., Антонюк А. В., Ласковец Е. Ю. Ра-

- диофармацевтическая композиция для терапии воспалительных заболеваний суставов на основе радионуклида ^{188}Re и микросфер альбумина крови человека, а также состав и способ ее получения. Патент РФ № RU 2698101. 22.08.2019 Бюл. № 24.
15. Степченкова Е. Д., Тищенко В. К., Власова О. П., Петриев В. М., Легкодимова Н. С., Крылов В. В., Федорова А. В., Кузенкова Е. А., Остроухов А. А., Шегай П. В. Распределение активности в крови и моче пациентов, получающих системную терапию радиофармпрепаратом с ^{177}Lu и локальную (внутрисуставную) терапию радиофармпрепаратом с ^{188}Re . *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(4):404–414. DOI: 10.30895/1991-2919-2022-12-4-404-414.
 16. Филатова Ю. С., Гауэрт В. Р. Гиалуроновая кислота при внутрисуставном введении: зависимость эффекта от молекулярной массы. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2021;5(3):156–161. DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-3-156-161.
 17. Gonzales G. R., Stevenson N. R. Hyaluronan sn-117m colloid for radiosynoviorthesis and symptomatic therapy related applications. United States patent US WO 2017/062420 A1. 13.04.2017. Available at: <https://patents.google.com/patent/WO2017062420A1/en>. Accessed: 07.11.2024.
 18. Скуридин В. С. Фармацевтическая технология. Методы и технологии получения радиофармпрепаратов. М.: Издательство Юрайт; 2024. 139 с.
 19. Белозерцевой И. В., Блинова Д. В., Красильщиковой М. С., ред. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. М.: ИРБИС; 2017. 336 с.
 8. Kodina G. E., Malysheva A. O., Klementyeva O. E., Taratonenkova N. A., Lyamtseva E. A., Zhukova M. V., Krasnoperova A. S. «Synoren, ^{188}Re » – a promising radiopharmaceutical for radiosynovectomy. *Radiation and Risk*. 2018;27(4):76–86. (In Russ.) DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-4-76-86.
 9. Shamim S. A., Arora G., Jha P., Gupta P., Behera A., Mukherjee A., Prabhu M., Ansari M. T., Vyas S., Bal C. Comparison of Lutetium-177 tin colloid and Rhenium-188 tin colloid radiosynovectomy in chronic knee arthritis. *Nuclear Medicine Communications*. 2020;41(8):721–726. DOI: 10.1097/MNM.0000000000001210.
 10. Production, quality control and clinical applications of radiosynovectomy agents. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2021. 140 p.
 11. Tsvadze A. Yu., Filyanin A. T., Romanovskii V. N., Zykov M. P., Kodina G. E., Malysheva A. O., Filyanin O. A., Nepomnyashchii O. N. Extraction centrifugal generator ^{188}Re and radiopharmaceuticals based on it for radionuclide therapy. *Radiokhimiya*. 2016;58(5):513–520. (In Russ.)
 12. Lunev A., Klement'eva O., Zverev A. Studying of radiation safety of ^{188}Re -labeled MAA preparation for treatment of resistant synovitis. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2020;65(6):38–46. DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-6-38-46.
 13. Kodina G. E. Radiopharmaceutical composition for radiosynovectomy and the method for its production. Patent RUS № RU 2624237. 03.07.2017. Byul. № 19. Available at: https://yandex.ru/patents/doc/RU2624237C1_20170703. Accessed: 07.11.2024. (In Russ.)
 14. Zverev A. V., Dorvatovsky S. A., Petriev V. M., Skvortsov V. G., Kaprin A. D., Antonyuk A. V., Laskovets E. Yu. Radiopharmaceutical composition for the treatment of inflammatory joint diseases based on the radionuclide ^{188}Re and human blood albumin microspheres, as well as the composition and method for its production. Patent RUS № RU 2698101. 08.22.2019. Byul. № 24. (In Russ.)
 15. Stepchenkova E. D., Tishchenko V. K., Vlasova O. P., Petriev V. M., Legkodimova N. S., Krylov V. V., Fedorova A. V., Kuzenкова E. A., Ostroukhoff A. A., Shagai P. V. Radioactivity distribution in the blood and urine of patients receiving systemic therapy with a ^{177}Lu radiopharmaceutical and local (intra-articular) therapy with a ^{188}Re radiopharmaceutical. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(4):404–414. (In Russ.) DOI: 10.30895/1991-2919-2022-12-4-404-414.
 16. Filatova Yu. S., Gawert V. R. Intra-articular hyaluronic acid: dependence of the effect on molecular weight. *Russian Medical Inquiry*. 2021;5(3):156–161. (In Russ.) DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-3-156-161.
 17. Gonzales G. R., Stevenson N. R. Hyaluronan sn-117m colloid for radiosynoviorthesis and symptomatic therapy related applications. United States patent US WO 2017/062420 A1. 13.04.2017. Available at: <https://patents.google.com/patent/WO2017062420A1/en>. Accessed: 07.11.2024.
 18. Skuridin V. S. Pharmaceutical technology. Methods and technologies for obtaining radiopharmaceuticals. Moscow: Yurait; 2024. 139 p. (In Russ.)
 19. Belozertseva I. V., Blinov D. V., Krasilshchikova M. S., editors. Guide to the Care and Use of Laboratory Animals. Moscow: IRBIS; 2017. 336 p. (In Russ.)

REFERENCES

1. Gill T. K., Mittinty M. M., March L. M., et al. Global, regional, and national burden of other musculoskeletal disorders, 1990–2020, and projections to 2050: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Rheumatology*. 2023;5(11):e670–e682. DOI: 10.1016/S2665-9913(23)00232-1.
2. Erdes S. F., Folomeeva O. M. Rheumatic diseases and disability of Russian Federation adult population. *Rheumatology Science and Practice*. 2007;45(4):4–9. (In Russ.) DOI: 10.14412/1995-4484-2007-4-9.
3. Nasonova E. L., editor. Russian clinical guidelines. Rheumatology. Moscow: GEOTAR-Media; 2017. 464 p. (In Russ.)
4. Cooper C., Dennison E., Edwards M. H. Epidemiology of osteoarthritis. *Medicographia*. 2013;35(2):145–151.
5. Kampen W. U., Boddenberg-Pätzold B., Fischer M., Gabriel M., Klett R., Konijnenberg M., Kresnik E., Lellouche H., Paycha F., Terslev L., Turkmen C., van der Zant F., Antunovic L., Panagiotidis E., Gnanasegaran G., Kuwert T., van den Wyngaert T. The EANM guideline for radiosynoviorthesis. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2022;49:681–708. DOI: 10.1007/s00259-021-05541-7.
6. Drozdovsky B. Ya., Ikonnikov A. I., Krylov V. V. Radiosynoviorthesis in the treatment of patients with rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya radiologiya*. 1990;35(7):6–9. (In Russ.)
7. Zverev A. V., Krylov V. V., Khanov A. G., Kochetova T. Yu. Radiosynovectomy – a method of inflammatory joints diseases treatment with the use of isotopes. *RMJ. Medical Review*. 2017;1(1):36–41. (In Russ.)



Лекарственный растительный сбор для лечения заболеваний ротовой полости

К. А. Завадич¹, Е. А. Смолярчук¹, Н. В. Кудашкина², С. С. Сологова¹✉, Б. Б. Сысуев¹,
О. И. Степанова¹, С. В. Аверьянов², Л. В. Корнопольцева¹, В. С. Щекин², А. В. Самородов²,
А. А. Юсупова², А. И. Шубина¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России). 450008, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3

✉ **Контактное лицо:** Сологова Сусанна Сергеевна. **E-mail:** sologova_s_s@staff.sechenov.ru

ORCID: К. А. Завадич – <https://orcid.org/0000-0002-4792-7132>;
Е. А. Смолярчук – <https://orcid.org/0000-0002-2615-7167>;
Н. В. Кудашкина – <https://orcid.org/0000-0002-0280-143>;
С. С. Сологова – <https://orcid.org/0000-0002-8526-7147>;
Б. Б. Сысуев – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>;
О. И. Степанова – <https://orcid.org/0000-0002-9885-3727>;
С. В. Аверьянов – <https://orcid.org/0000-0003-1827-1629>;
Л. В. Корнопольцева – <https://orcid.org/0009-0005-7264-6438>;
В. С. Щекин – <https://orcid.org/0000-0003-2202-7071>;
А. В. Самородов – <https://orcid.org/0000-0001-9302-499X>;
А. А. Юсупова – <https://orcid.org/0000-0002-7763-3258>;
А. И. Шубина – <https://orcid.org/0009-0002-5646-3058>.

Статья поступила: 25.06.2024

Статья принята в печать: 02.04.2025

Статья опубликована: 04.04.2025

Резюме

Введение. Применение синтетических лекарственных средств сопряжено с возникновением ряда побочных эффектов. При выборе терапии для коррекции симптомов и лечения таких стоматологических заболеваний, как стоматит, пародонтит, гингивит, хейлит, предпочтительнее использовать лекарственные растительные средства в сочетании с традиционной терапией, которые бы улучшали устойчивость тканей пародонта к патогенным микроорганизмам. Препараты растительного происхождения обладают высокой эффективностью и хорошей переносимостью, что позволяет использовать их в современной медицине.

Цель. Разработка лекарственного сбора, обладающего противомикробным, противовоспалительным, ранозаживляющим действием.

Материалы и методы. В качестве материалов исследования использовали следующие субстанции и реактивы: сбор, содержащий траву тысячелистника, траву череды трехраздельной, соплодия ольхи и плоды аниса в соотношении 1:1:1:1, диклофенак натрия, аскорбиновую кислоту, фосфатный буфер, цитрат натрия, люминол, железа (II) сульфат, гепаринизированную кровь, зимозан, физиологический раствор, 2%-й раствор формалина, 10%-й раствор нейтрального формалина, гематоксилин, эозин. Изучение противомикробной активности проводили путем сравнения задержки роста патогенных микроорганизмов, антиоксидантная активность изучалась на хемолюминометре ХЛМ-003 (Россия), гематологические тесты на мышах проводились с помощью программного комплекса ImageJ, Sysmex KX-21N (Sysmex, Япония), микроскопа Leica RM 2145 (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Германия), бинокулярного микроскопа Leica CME (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Германия).

Результаты и обсуждение. Проведена оценка противовоспалительной, антиоксидантной, ранозаживляющей и противомикробной активности растительного сбора. По результатам эксперимента установлено, что сбор обладает антиоксидантной, ранозаживляющей и выраженной противовоспалительной активностью, сопоставимой с препаратом сравнения.

© Завадич К. А., Смолярчук Е. А., Кудашкина Н. В., Сологова С. С., Сысуев Б. Б., Степанова О. И., Аверьянов С. В., Корнопольцева Л. В., Щекин В. С., Самородов А. В., Юсупова А. А., Шубина А. И., 2025
© Zavadich K. A., Smolyarchuk E. A., Kudashkina N. V., Sologova S. S., Sysuev B. B., Stepanova O. I., Averyanov S. V., Kornopol'tseva L. V., Shchekin V. S., Samorodov A. V., Yusupova A. A., Shubina A. I., 2025

Заключение. Разработан растительный сбор, обладающий противовоспалительным, противомикробным и регенерирующим действием.

Ключевые слова: стоматит, пародонтит, растительный сбор, противовоспалительный сбор, ранозаживляющий сбор, противомикробный сбор

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

Вклад авторов. К. А. Завадич, Е. А. Смолярчук спланировали эксперимент. Н. В. Кудашкина, С. С. Сологова – сбор и подготовка сырья. Б. Б. Сысуюев, О. И. Степанова, С. В. Аверьянов – участвовали в обработке данных и обсуждении результатов. Л. В. Корнопольцева, В. С. Щекин, А. В. Самородов, А. А. Юсупова, А. И. Шубина – проведение экспериментальной работы.

Финансирование. Выполнено в рамках государственного задания на проведение прикладных научных исследований «Разработка drug-кандидатов с заданной фармакологической активностью среди тиадансодержащих гетероциклов» (№ 121112500379-2).

Для цитирования: Завадич К. А., Смолярчук Е. А., Кудашкина Н. В., Сологова С. С., Сысуюев Б. Б., Степанова О. И., Аверьянов С. В., Корнопольцева Л. В., Щекин В. С., Самородов А. В., Юсупова А. А., Шубина А. И. Лекарственный растительный сбор для лечения заболеваний ротовой полости. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):37–44. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1861>

Medicinal herbal mixture for the treatment of oral diseases

Ksenia A. Zavadich¹, Elena A. Smolyarchuk¹, Natalya V. Kudashkina², Susanna S. Sologova¹✉,
Boris B. Sysuev¹, Olga I. Stepanova¹, Sergey V. Averyanov², Lyubov V. Kornopoltseva¹,
Vlas S. Shchekin², Alexander V. Samorodov², Alina A. Yusupova², Anastasiya I. Shubina¹

¹ I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

² Bashkir State Medical University (BSMU). 3, Lenina str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450008, Russia

✉ **Corresponding author:** Susanna S. Sologova. **E-mail:** sologova_s_s@staff.sechenov.ru

ORCID: Ksenia A. Zavadich – <https://orcid.org/0000-0002-4792-7132>;
Elena A. Smolyarchuk – <https://orcid.org/0000-0002-2615-7167>;
Natalya V. Kudashkina – <https://orcid.org/0000-0002-0280-143>;
Susanna S. Sologova – <https://orcid.org/0000-0002-8526-7147>;
Boris B. Sysuev – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>;
Olga I. Stepanova – <https://orcid.org/0000-0002-9885-3727>;
Sergey V. Averyanov – <https://orcid.org/0000-0003-1827-1629>;
Lyubov V. Kornopoltseva – <https://orcid.org/0009-0005-7264-6438>;
Vlas S. Shchekin – <https://orcid.org/0000-0003-2202-7071>;
Alexander V. Samorodov – <https://orcid.org/0000-0001-9302-499X>;
Alina A. Yusupova – <https://orcid.org/0000-0002-7763-3258>;
Anastasiya I. Shubina – <https://orcid.org/0009-0002-5646-3058>.

Received: 25.06.2024

Accepted: 02.04.2025

Published: 04.04.2025

Abstract

Introduction. The use of synthetic drugs is associated with a number of side effects. When choosing a therapy to correct symptoms and treat dental diseases such as stomatitis, periodontitis, gingivitis, cheilitis, it is preferable to use herbal medicines in combination with traditional therapy, which would improve the resistance of periodontal tissues to pathogenic microorganisms. Herbal preparations are highly effective and well tolerated, which allows them to be used in modern medicine.

Aim. To develop a medicinal collection with antimicrobial, anti-inflammatory, and wound-healing effects.

Materials and methods. The following substances and reagents were used as research materials: Achilleae millefolii herba, Bidentis tripartitae herba, Alni fructus, Anisi vulgaris fructus in a ratio of 1:1:1:1, diclofenac sodium, ascorbic acid, phosphate buffer, sodium citrate, luminol, iron (II) sulfate, heparinized blood, zymosan, saline solution, 2 % formalin solution, 10 % neutral formalin solution, hematoxylin, eosin. Antimicrobial activity was studied by comparing growth retardation of pathogenic microorganisms, antioxidant activity was studied on a chemoluminometer HLM-003 (Russia), hematological tests on mice were carried out using the ImageJ software package, Sysmex KX-21N (Sysmex, Japan), Leica RM 2145 microscope (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Germany), binocular microscope Leica CME (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Germany).

Results and discussion. The evaluation of the anti-inflammatory, antioxidant, wound healing and antimicrobial activities of the plant herbal mixture was carried out. According to the results of the experiment, it was found that the herbal mixture has moderate antioxidant, wound healing and pronounced anti-inflammatory activity comparable to the comparison drug.

Conclusion. A herbal mixture has been developed that has anti-inflammatory, antimicrobial and regenerating effects.

Keywords: stomatitis, periodontitis, herbal collection, anti-inflammatory herbal mixture, wound healing herbal mixture, antimicrobial herbal mixture

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. Ksenia A. Zavadich, Elena A. Smolyarchuk planned the experiment. Natalya V. Kudashkina, S. Susanna Sologova – collection and preparation of raw materials. Boris B. Sysuev, Olga I. Stepanova, Sergey V. Averyanov – participated in data processing and discussion of results. Lyubov V. Kornopoltseva, Vlas S. Shchekin, Alexander V. Samorodov, Alina A. Yusupova, Anastasiya I. Shubina – conducting the experimental work.

Funding. Completed within the framework of the state assignment for conducting applied scientific research "Development of drug candidates with a given pharmacological activity among thietane-containing heterocycles" (No. 121112500379-2).

For citation: Zavadich K. A., Smolyarchuk E. A., Kudashkina N. V., Sologova S. S., Sysuev B. B., Stepanova O. I., Averyanov S. V., Kornopoltseva L. V., Shchekin V. S., Samorodov A. V., Yusupova A. A., Shubina A. I. Medicinal herbal mixture for the treatment of oral diseases. *Drug development & registration*. 2025;14(2):37–44. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1861>

ВВЕДЕНИЕ

Стоматологические заболевания включают в себя патологии не только зубов, но и всей ротовой полости, а также десен и мышц, ответственных за движение челюсти. Воспалительные процессы, характеризующиеся гиперемией, отеком и болевым синдромом, проявляются при недостаточной гигиене полости рта. Стomatиты, хейлиты, гингивиты, пародонтиты и другие патологии возникают при действии различных агентов, таких как грибы, вирусы, бактерии, аллергены, а также на фоне других состояний, таких как сахарный диабет, гипо- и авитаминозы и другие. Так, стоматит, характеризующийся воспалением слизистой оболочки рта, в основном имеет бактериальную, вирусную или грибковую природу; гингивит (воспаление десен) – заболевание бактериальной природы; пародонтит (воспаление тканей пародонта) является следствием гингивита, лечение которого не проводилось, а хейлит (или хейлоз) – заболевание, при котором воспаляется красная кайма, слизистая оболочка и кожа губ, – возникает при аллергических реакциях, хронических заболеваниях с поражением кожных покровов, а также при воздействии солнца и ветра. Коррекция симптомов и лечение стоматологических патологий – одно из приоритетных направлений исследований в сфере здравоохранения.

Для коррекции патологических состояний в медицинской практике используются различные комбинации растительных компонентов, в том числе водные и спиртовые извлечения, экстракты из растительного сырья [1–3]. Фармацевтический рынок России располагает большим количеством продукции, содержащей экстракты фармакопейных лекарственных растений [4–6]. Так, в состав ополаскивателей для полости рта включают экстракты цветков

ромашки аптечной, календулы, спиртовые извлечения из листьев эвкалипта, шалфея лекарственного, травы зверобоя, листьев мяты перечной и других представителей растительного мира [7]. Разработан гель «Фитоденталь», имеющий в своем составе масло пихты, шалфея, мяты и оказывающий бактерицидное, ранозаживляющее, противовоспалительное и болеутоляющее действие [8]. Известно о применении цветков бузины черной, корневищ горца красивого, коры дуба, цветков календулы лекарственной [9], цветков и листьев кипрея узколистного [10], плодов кориандра посевного, корневищ лапчатки прямостоячей, плодов лоха, листьев малины обыкновенной, цветков мальвы лесной, травы чабреца [11], алоэ вера [12] и другого лекарственного растительного сырья, в состав которого входят биологически активные вещества, обладающие противовоспалительным действием [13, 14]. Сок и плоды актинидии коломикты показаны не только при воспалительных заболеваниях полости рта, но и при гиповитаминозных состояниях, корневища ириса обладают анальгетическим действием, корневища и корни софоры желтеющей – обезболивающим, антимикробным и противовирусным, а корневища и корни, листья бадана толстолистного оказывают противовоспалительный и антисептический эффект [15]. Использование лекарственных препаратов на основе растительного сырья предлагается не только в амбулаторных условиях, но и в домашних, причем учитываются их безопасность и эффективность. Так, применяют настой из цветков гвоздики, в которых содержится гвоздичное масло, оказывающее противомикробное действие [16], а также используют корневища аира (антисептическое и обезболивающее действие, используется как «временная пломба» в полевых условиях),

траву чистотела (содержит алкалоид хелидонин, оказывающий болеутоляющее действие), траву душицы обыкновенной (компонент эфирного масла, тимол, обладает антисептическим действием), донника (содержит мелилтонин, при сушке выделяющий обладающий обезболивающим и спазмолитическим действием кумарин) и других дикорастущих растений [17]. Листья брусники обладают противовоспалительным и ранозаживляющим действием, листья вахты трехлистной также применяются при воспалительных процессах [18, 19]. Также известно о применении фитопленок, содержащих экстракты лекарственных растений [20–23].

Лекарственная форма «сбор» удобна для применения при коррекции патологических состояний полости рта. Для комплексного лечения стоматологических заболеваний используют различные комбинации лекарственных растений. Для коррекции симптомов стоматита кору ивы (30 г), кору дуба обыкновенного (20 г), цветки липы мелколистной (20 г), цветки ромашки аптечной (30 г) включают в сбор, столовую ложку готового сбора заливают 150 мл горячей воды, настаивают 30 минут, фильтруют. Используют для полоскания полости рта 3–4 раза в день в течение 5–7 дней. Цветки мальвы лесной (10 г), листья шалфея лекарственного (20 г), почки сосны обыкновенной (20 г), плоды аниса обыкновенного (20 г), цветки коровяка скипетровидного (10 г) используют для получения сбора для лечения гингивита. Столовую ложку сбора заливают 150 мл горячей воды, настаивают 30 минут, фильтруют и используют для полосканий полости рта после еды 3–4 раза в день в течение 5–7 дней. Для коррекции пародонтита применяют сбор из цветков ромашки (20 г) и корней ежевики сизой (20 г). Комбинацию из плодов рябины обыкновенной, травы тимьяна ползучего, цветков календулы (1:1:1) применяют для лечения хейлитов.

Получение нового лекарственного средства в форме сбора, созданного из лекарственного растительного сырья *Achilleae millefolii herba*, *Bidentis tripartitae herba*, *Alni fructus*, произрастающего на территории Республики Башкортостан, и культивируемого в Российской Федерации *Anisi vulgaris fructus*, и изучение его активности – основная цель данной статьи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования является сбор, разработанный на кафедре фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, состоящий из 4 официальных лекарственных растений: *Achilleae millefolii herba*, *Bidentis tripartitae herba*, *Alni fructus*, собранных на территории Республики Башкортостан, и *Anisi vulgaris fructus* (поставщик ИП М. В. Гордеев). Сбор приготовлен в соотношении компонентов 1:1:1:1. Каждый вид лекарственного сырья был подготовлен для включения в лекарственную форму в соответствии с требованиями Государственной фармако-

пеи XV издания¹, ОФС.1.4.1.0020 «Сборы» [24]: сырье измельчали до размера частиц не более 7 мм, взвешивали и тщательно перемешивали до образования равномерной смеси. Настой из сбора готовили по методике ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары» [24]: 10,0 г сбора заливали 100 мл воды комнатной температуры, настаивали в инфундирном аппарате на водяной бане в течение 15 минут, после чего охлаждали в течение 45 минут. После охлаждения водное извлечение отфильтровывали, остаток сырья отжимали, готовое водное извлечение доводили до необходимого объема. Подбор компонентов осуществляли путем микробиологического скрининга водных извлечений из лекарственного растительного сырья по зоне задержки роста патогенных микроорганизмов в сравнении со стандартными *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*.

Острую воспалительную реакцию (отек) у лабораторных белых мышей (самцов в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20–21 г) вызывали субплантарным введением (подошвенный, или плантарный, апоневроз) 0,1 мл 2%-го раствора формалина, препарат сравнения – диклофенак натрия в дозировке 10 мг/кг. Изучаемые препараты вводили ежедневно (растительный сбор по 0,5 мл внутривентрикулярно, диклофенак натрия внутримышечно в дозировке 10 мг/кг) на протяжении недели, отек лапы определяли по разнице диаметра лапы через 4 и 24 часа после индукции воспаления относительно диаметра лапы до воспаления. Антиоксидантные свойства оценивали в трех простых модельных системах при прибавлении 1 мл исследуемой смеси на 20 мл реакционной смеси, активность определялась по степени угнетения хемилюминисценции, регистрируемой хемолюминометром ХЛМ-003 (Россия) в течение 5 минут, препарат сравнения – аскорбиновая кислота (Shandong Xinhua Pharmaceutical Co., Ltd, Китай) и масло подсолнечное нерафинированное фильтрованное (ООО «Сигма», Россия). Модель I – 20 мл фосфатного буфера (pH 7,45) с добавлением цитрата и люминола (2,72 KH_2PO_4 , 7,82 KCL, 1,5 цитрата натрия $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$ на 1 литр дистиллированной воды) – использовалась для инициации активных форм кислорода, модель II состояла из куриного желтка, смешанного с фосфатным буфером в соотношении 1:5. Хемилюминисценцию инициировали добавлением 1 мл 50 мМ раствора FeSO_4 , что запускает процесс окисления ненасыщенных жирных кислот. О процессах перекисного окисления липидов судили по интенсивности свечения. Модель III использовалась для оценки влияния соединений на генерацию активных форм кислорода и включала в себя гепаринизированную кровь (50 ЕД гепарина на 1 мл крови)

¹ Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/?ysclid=lo5kyjffu5216639319>. Ссылка активна на 20.02.2024.

здоровых добровольцев. Интенсивность генерации фагоцитами активных форм кислорода определяли с помощью регистрации уровня люминолзависимой хемилюминисценции после внесения в смесь 2 мл физиологического раствора с люминолом (10^{-5} М). «Кислородный взрыв» провоцировали добавлением к 0,1 мл крови 0,01 мл 1%-й взвеси зимозана с последующим инкубированием при температуре 37 °С в течение 5 минут, причем активные формы кислорода появлялись на 1–2-й минуте после воздействия чужеродного материала на мембраны фагоцитов, а максимум достигался за 5–6 минут. Величина пика зависит от фагоцитарной активности клеток. Светосумма свечения – интегральный показатель генерации активных форм кислорода. Ранозаживляющий эффект водного извлечения из сбора определяли в условиях модели линейных ран на 70 лабораторных белых мышах в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20–21 г. В условиях общей анестезии наносили по трафарету площадью 210,5 мм² рану с помощью скальпеля и ножниц, которую впоследствии обрабатывали 1 раз в день в течение 14 суток. Площадь ран оценивалась с помощью программного комплекса ImageJ [25], после чего рассчитывали процент закрытия раны. Гематологические тесты проводили мышам на 1, 3, 7 и 11-е сутки, количество клеток крови определяли на автоматическом гематологическом анализаторе (Sysmex KX-21N, Япония), СОЭ определяли методом Панченкова. Для гистологической оценки ран материал фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. После стандартной проводки готовили парафиновые срезы микротомом Leica RM 2145 (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Германия), которые окрашивали гематоксилином и эозином. Далее на световом оптическом уровне при увеличении $\times 40$ и $\times 100$ с помощью бинокулярного мик-

роскопа Leica CME (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Германия) в 10 полях зрения оценивали морфологические изменения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка противовоспалительной активности проводилась с помощью анализа разницы диаметра лапы крысы (мм), острую воспалительную реакцию у которой вызывали введением 0,1 мл 2%-го раствора формалина, через 4 и 24 часа после индукции воспаления относительно диаметра лапы до индукции. Препарат сравнения – диклофенак натрия (ООО «Гротекс», Россия). Проведены медиана и межквартильный интервал по результатам 10 измерений. Исходя из данных измерений, противовоспалительная активность водного извлечения из сбора сопоставима с противовоспалительной активностью препарата сравнения (диклофенак натрия) (таблица 1).

Проведены медиана и межквартильный интервал по результатам 6 измерений (таблица 2).

Оценка ранозаживляющей способности проводилась на 5 опытных группах лабораторных животных (мышам). I – контрольная – группа, рану обрабатывали физиологическим раствором; II группа, рану обрабатывали водным извлечением из растительного сбора. Рану обрабатывали 1 раз в день в одно и то же время (10–11 часов дня) в течение 14 суток. Группа интактных животных включена в эксперимент для проведения сравнительной оценки состояния и поведения подопытных животных (таблица 3). Площадь оценивали с помощью программного комплекса ImageJ [25], с использованием этих измерений рассчитывали процент общего закрытия раны (% TWC) как

$$TWC, \% = [(WA_0 - WA_n) / WA_0] \cdot 100 \%,$$

где WA_0 – площадь раны в первый день; WA_n – площадь раны в соответствующий день.

Таблица 1. Противовоспалительная активность сбора, Ме [0,25–0,75]

Table 1. Anti-inflammatory activity of the collection, Me [0,25–0,75]

| № | Препарат Preparation | Время инициации отека (часы) Time of edema initiation (hours) | | |
|---|--|--|-----------------------------|----------------------------|
| | | 0 | 4 | 24 |
| 1 | Контроль, мм Control, mm | 3,2 (2,9–3,4) | 4,5 (4,3–4,7) ^a | 3,8 (3,7–4,1) ^a |
| 2 | Водное извлечение из растительного сбора, мм Water extract from herbal collection, mm | 2,9 (2,6–3,3) | 3,1 (2,7–3,4)* | 3,2 (2,9–3,4)* |
| 3 | Диклофенак натрия, мм Diclofenac sodium, mm | 3,0 (2,7–3,2) | 3,5 (3,3–3,9)* ^a | 3,2 (2,9–3,6)* |

Примечание. * $p \leq 0,05$.

** $p \leq 0,001$ – в сравнении с контролем по соответствующему времени.

^a $p \leq 0,05$ – 0 ч vs 4 ч и 24 ч.

Note. * $p \leq 0.05$.

** $p \leq 0.001$ – compared with the control for the corresponding time.

^a $p \leq 0.05$ – 0 h vs. 4 h and 24 h.

Таблица 2. Показатели хемилюминесценции на модельных системах генерации активных форм кислорода (I), перекисного окисления липидов (II) и активности макрофагов крови (III) при добавлении исследуемых веществ, % к контролю

Table 2. Chemiluminescence indices in model systems of generation of active forms of oxygen (I), lipid peroxidation (II) and activity of blood macrophages (III) with the addition of the studied substances, % of the control

| № | Препарат Preparation | Модель Model | Светосумма Light sum | Вспышка Flash |
|---|---|-----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | Водное извлечение из растительного сбора Aqueous extract from herbal collection | I | -54,1 (50,2–58,7)** ^{a, б} | -13,4 (10,5–14,9) ^{* б} |
| | | II | -46,5 (42,1–49,7)** ^{a, б} | -9,3 (8,1–12,7) ^{* б} |
| | | III | +35,4 (32,5–37,9)** ^{a, б} | +29,1 (27,4–35,7)** ^{a, б} |
| 2 | Масло подсолнечное нерафинированное фильтрованное Sunflower oil unrefined filtered | I | -26,6 (24,7–29,3)** ^{* б} | -10,1 (8,2–14,3) ^{* б} |
| | | II | -22,4 (21,9–27,4) ^{* б} | -12,4 (10,2–16,2) ^{* б} |
| | | III | -9,8 (6,8–14,7) ^{* б} | -7,9 (6,2–9,8) ^{* б} |
| 3 | Аскорбиновая кислота Ascorbic acid | I | -84,5 (79,3–87,1)** ^{* а} | -91,7 (82,3–95,2)** ^{* а} |
| | | II | -78,1 (70,4–82,4)** ^{* а} | -86,8 (80,3–92,1)** ^{* а} |
| | | II | +73,1 (66,7–72,5)** ^{* а} | +98,7 (94,8–100,3)** ^{* а} |

Примечание. * $p \leq 0,05$.

** $p \leq 0,001$ – в сравнении с контролем.

^a $p \leq 0,05$ – в сравнении с маслом подсолнечным.

^б $p \leq 0,05$ – в сравнении с аскорбиновой кислотой.

Note. * $p \leq 0.05$.

** $p \leq 0.001$ – compared with control.

^a $p \leq 0.05$ – compared with sunflower oil.

^б $p \leq 0.05$ – compared with ascorbic acid.

Таблица 3. Динамика уменьшения площади ран у мышей, Me [0,25–0,75]

Table 3. Dynamics of reduction of wound area in mice, Me [0.25–0.75]

| Группа Group | Показатель Indicator | Сутки Days | | | |
|-----------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | 1-е 1 st | 3-и 3 rd | 7-е 7 th | 11-е 11 th |
| I | S, мм ² | 213,5 (205,4–219,7) | 197,9 (151,2–164,3) | 158,6 (151,2–164,3) | 127,8 (123,9–136,5) |
| | TWC, % | – | 7,3 (6,9–7,7) | 25,7 (23,1–27,9) | 40,1 (37,5–43,2) |
| II | S, мм ² | 214,8 (209,7–218,7) | 194,6 (184,3–207,2) | 158,7 (145,3–162,9)** | 112,1 (105,6–115,9)** |
| | TWC, % | – | 9,4 (7,5–10,1) | 26,1 (24,3–28,7)** | 47,8 (45,7–50,1)** |

Примечание. S – площадь раны.

TWC – процент общего закрытия раны.

Уровень статистической значимости между сутками для соответствующих групп животных $p < 0,05$.

* $p < 0,05$ – в сравнении с I группой.

** $p < 0,05$ – в сравнении со II группой.

Note. S – wound area.

TWC – percentage of total wound closure.

The level of statistical significance between days for the corresponding groups of animals is $p < 0.05$.

* $p < 0.05$ – in comparison with group I.

** $p < 0.05$ – in comparison with group II.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стоматологические заболевания включают в себя большое количество патологий, в том числе стоматиты, пародонтиты, гингивиты и хейлиты, в основе патогенеза которых лежит воспалительная реакция. В ходе исследования был проведен анализ существующих методов коррекции симптомов и лечения забо-

леваний ротовой полости. Была изучена не только противовоспалительная и ранозаживляющая активность водного извлечения из растительного сбора, в состав которого входят трава тысячелистника, трава череды трехраздельной, соплодия ольхи и плоды аниса в соотношении 1:1:1:1, но и антиоксидантная и противомикробная активность.

Таким образом, изученные виды биологической активности достаточно выражены, чтобы рекомендовать новый состав в качестве сбора для лечения воспалительных заболеваний ротовой полости. Основные свойства травы тысячелистника: бактерицидные, антиоксидантные, регенерационные, противовоспалительные, ранозаживляющие и спазмолитические. Соплодия ольхи обладают выраженным вяжущим и дезинфицирующим действием, обусловленным дубильными веществами растения. Также соплодия ольхи оказывают противовоспалительное, десенсибилизирующее, кровоостанавливающее, бактерицидное и анальгезирующее действие. За счет образования защитной пленки на раневой поверхности дубильные вещества проявляют ранозаживляющую, противовоспалительную и бактерицидную активность и используются при лечении ран, ожогов и язв. Трава череды обладает противовоспалительным, ранозаживляющим и бактерицидным действием. Основными свойствами плодов аниса являются: противовоспалительные, спазмолитические, иммуномодулирующие, также сырье обладает бактерицидным действием, снижает показатели перекисного окисления липидов, повышает функцию иммунной системы, преимущественно В-системы, нормализует коэффициент иммунного ответа, снижает содержание иммунных комплексов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рыжова И. П. Роль фототерапии в стоматологии. Оценка знаний врачей и пациентов методом анкетирования. В сб.: Стоматология славянских государств. Белгород: ИД «БелГУ» НИУ «БелГУ»; 2022. С. 251–253.
2. Contaldo M., Di Stasio D., Romano A., Fiori F., Della Vella F., Rupe C., Lajolo C., Petrucci M., Serpico R., Lucchese A. Oral Candidiasis and Novel Therapeutic Strategies: Antifungals, Phytotherapy, Probiotics, and Photodynamic Therapy. *Current Drug Delivery*. 2023;20(5):441–456. DOI: 10.2174/15672018196666220418104042.
3. Singer L., Bourauel C. Herbalism and glass-based materials in dentistry: review of the current state of the art. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2023;34:60.
4. Миронов С. Е., Фетисова А. Н. Состояние российского рынка фармацевтической продукции растительного происхождения для профилактики и лечения воспалительных заболеваний полости рта. *Health and education millenium*. 2013;15(1–4):385–389.
5. Новиков О. О., Жилыкова Е. Т., Цимбалистов А. В., Трифонов Б. В., Малютина А. Ю., Писарев Д. И. Новый взгляд на проблему профилактики и лечения заболеваний пародонта. *Научный результат. Медицина и фармация*. 2016;2(3):4–9.
6. Каузбаева Д. Д., Тулеутаева С. Т., Ахметова С. Б. Современные методы профилактики и лечения воспалительных заболеваний пародонта. *Евразийское научное объединение*. 2020;3–2(61):131–137.
7. Гончарова Е. И. Растительные средства в профилактике и лечении заболеваний пародонта. *Российский стоматологический журнал*. 2012;16(3):48–50.
8. Свирина М. С., Губин М. А. Повышение эффективности лечения воспалительных заболеваний пародонта фитопрепаратом «Фитоденталь». *Системный анализ и управление в биомедицинских системах*. 2011;10(4):832–836.
9. Воскресенская М. Л., Плеханов А. Н., Мондодоев А. Г., Цыремпиллов С. В. Фармакотерапевтическая эффективность календулы лекарственной. *Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация*. 2017;1:73–78.
10. Бушуева Г. Р., Сыроешкин А. В., Максимова Т. В., Скальный А. В. Кипрей узколистный – перспективный источник биологически активных соединений. *Микроэлементы в медицине*. 2016;17(2):15–23.
11. Schött G., Liesegang S., Gaunitz F., Gleß A., Basche S., Hanig C., Speer K. The chemical composition of the pharmacologically active Thymus species, its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and the antiadherent effects of *T. vulgaris* on the bacterial colonization of the in situ pellicle. *Fitoterapia*. 2017;121:118–128. DOI: 10.1016/j.fitote.2017.07.005.
12. Liu C., Cui Y., Pi F., Cheng Y., Guo Y., Qian H. Extraction, Purification, Structural Characteristics, Biological Activities and Pharmacological Applications of Acemannan, a Polysaccharide from *Aloe vera*: A Review. *Molecules*. 2019;24(8):1554.
13. Алиев Р. К., Прилипко Л. И., Дамиров И. А., Исламова Н. А., Мамедов Ф. Н., Улуханов Б. Г. Лекарственные растения Азербайджана. Баку: Азербайджанское государственное издательство; 1972. 196 с.
14. Халматов Х. Х. Атлас лекарственных растений Узбекистана. Ташкент: Узбекистан; 2015. 201 с.
15. Симонова Н. В., Доровских В. А., Анохина Р. А. Лекарственные растения Амурской области. Благовещенск: Амурская государственная медицинская академия; 2016. 309 с.
16. Haro-González J. N., Castillo-Herrera G. A., Martínez-Velázquez M., Espinosa-Andrews H. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 2021;26(21):6387. DOI: 10.3390/molecules26216387.
17. Тарасовская Н. Е., Есимова Ж. К. Возможности устранения острой зубной боли в экспедиционно-полевых условиях. *Биологические науки Казахстана*. 2011;4:49–55.
18. Комарова А. В., Карташова Н. М., Чепрасова А. А. Лекарственные растения болотных фитоценозов России. *Метод З*. 2022;1:11–13.
19. Ильина Т. А. Лекарственные растения. Большая иллюстрированная энциклопедия. М.: Эксмо; 2014. 304 с.
20. Масесе П. М. Перспективные фармацевтические субстанции для лечения воспалительных заболеваний полости рта. *Современные тенденции развития технологий и науки*. 2016;2(3):38–40.
21. Касенов К. Ж. Фитопленки – достижения и перспективы применения в современной медицине (обзор). *Клиническая медицина Казахстана*. 2012;1(24):104–107.
22. Руманова А. И., Нагаева М. О., Мамедханова А. Р., Качко Е. П. Возможности применения лекарственных растительных препаратов для местного лечения воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта. *Университетская медицина Урала*. 2017;2:85–89.

23. Пупыкина К. А., Ишмакова З. Р., Шикова Ю. В., Аверьянов С. В., Пупыкина Е. В., Мавзютов А. Р., Бонвеч А. А., Гараева К. Л., Исаева А. И. Стоматологические фитопленки для лечения воспалительных заболеваний пародонта и слизистой оболочки полости рта. Патент РФ на изобретение № 2618392. 04.05.2016.
24. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2018. 3262с.
25. Chen L., Mirza R., Kwon Y., DiPietro L. A., Koh T. J. The murine excisional wound model: Contraction revisited. *Wound Repair and Regeneration*. 2015;23(6):874–877.

REFERENCES

1. Ryzhova I. P. The role of phototherapy in dentistry. Assessment of knowledge of doctors and patients by means of a questionnaire. In: *Dentistry of the Slavic states*. Belgorod: Publishing House "BelGU", NRU "BelGU"; 2022. P. 251–253. (In Russ.)
2. Contaldo M., Di Stasio D., Romano A., Fiori F., Della Vella F., Rupe C., Lajolo C., Petrucci M., Serpico R., Lucchese A. Oral Candidiasis and Novel Therapeutic Strategies: Antifungals, Phytotherapy, Probiotics, and Photodynamic Therapy. *Current Drug Delivery*. 2023;20(5):441–456. DOI: 10.2174/1567201819666220418104042.
3. Singer L., Bourauel C. Herbalism and glass-based materials in dentistry: review of the current state of the art. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2023;34:60.
4. Mironov S. E., Fetisova A. N. State of the Russian market of pharmaceutical products of plant origin for prevention and treatment of inflammatory diseases of the oral cavity. *Health and education millenium*. 2013;15(1–4):385–389. (In Russ.)
5. Novikov O. O., Zhilyakova E. T., Tsimbalistov A. V., Trifonov B. V., Malyutina A. Yu., Pisarev D. I. A new look at the problem of prevention and treatment of periodontal diseases. *Scientific result. Medicine and Pharmaceutics*. 2016;2(3):4–8. (In Russ.)
6. Kauzbaeva D. D., Tuleutaeva S. T., Akhmetova S. B. Modern methods of prevention and treatment of inflammatory periodontal diseases. *Eurasian Scientific Association*. 2020;3–2(61):131–137. (In Russ.)
7. Goncharova E. I. The use of the herbal medicinal products for the prevention and treatment of periodontal diseases. *Russian Journal of Dentistry*. 2012;16(3):48–50. (In Russ.)
8. Svirina, M. S., Gubin M. A. Improving the effectiveness of treatment of inflammatory periodontal diseases with the phytopreparation "Fitodental". *System analysis and management in biomedical systems*. 2011;10(4):832–836. (In Russ.)
9. Voskresenskaya M. L., Plekhanov A. N., Mondodoev A. G., Tsyrempilov S. V. Pharmacotherapeutic effectiveness of calendula officinalis. *BSU bulletin. Medicine and pharmacy*. 2017;1:73–77. (In Russ.)
10. Bushueva G. R., Syroeshkin A. V., Maksimova T. V., Skalny A. V. Chamaenerion angustifolium – a promising source of biologically active compounds. *Trace Elements in Medicine*. 2016;17(2):15–23. (In Russ.) DOI: 10.19112/2413-6174-2016-17-2-15-23.
11. Schött G., Liesegang S., Gaunitz F., Gleß A., Basche S., Hanig C., Speer K. The chemical composition of the pharmacologically active Thymus species, its antibacterial activity against Streptococcus mutans and the antiadherent effects of T. vulgaris on the bacterial colonization of the in situ pellicle. *Fitoterapia*. 2017;121:118–128. DOI: 10.1016/j.fitote.2017.07.005.
12. Liu C., Cui Y., Pi F., Cheng Y., Guo Y., Qian H. Extraction, Purification, Structural Characteristics, Biological Activities and Pharmacological Applications of Acemannan, a Polysaccharide from *Aloe vera*: A Review. *Molecules*. 2019;24(8):1554.
13. Aliyev R. K., Prilipko L. I., Damirov I. A., Islamova N. A., Mamedov F. N., Ulukhanov B. G. Medicinal plants of Azerbaijan. Baku: Azerbajdzhanskoe gosudarstvennoe izdatel'stvo; 1972. 196 p. (In Russ.)
14. Khalmatov H. H. Atlas of medicinal plants of Uzbekistan. Tashkent: Uzbekistan; 2015. 201 p. (In Russ.)
15. Simonova N. V., Dorovskikh V. A., Anokhina R. A. Medicinal plants of the Amur region. Blagoveshchensk: Amur State Medical Academy; 2016. 309 p. (In Russ.)
16. Haro-González J. N., Castillo-Herrera G. A., Martínez-Velázquez M., Espinosa-Andrews H. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 26(21):6387. DOI: 10.3390/molecules26216387.
17. Tarasovskaya N. E., Yesimova Zh. K. The possibilities of eliminating acute toothache in expeditionary field conditions. *Biological sciences of Kazakhstan*. 2011;4:49–55. (In Russ.)
18. Komarova A. V., Kartashova N. M., Cheprasova A. A. Medicinal plants of marsh phytocenoses of Russia. *Method J*. 2022;1:11–13. (In Russ.)
19. Ilyina T. A. Medicinal plants. The Big illustrated Encyclopedia. Moscow: Eksmo; 2014. 304 p. (In Russ.)
20. Masese P. M. Promising pharmaceutical substances for the treatment of inflammatory diseases of the oral cavity. *Modern trends in the development of technologies and science*. 2016;2(3):38–40. (In Russ.)
21. Kasenov K. Zh. Phytoplenki – achievements and prospects of application in modern medicine (review). *Journal of Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2012;1(24):104–107. (In Russ.)
22. Rumanova A. I., Nagaeva M. O., Mammadkhanova A. R., Kachko E. P. The possibilities of using medicinal herbal preparations for the local treatment of inflammatory and destructive diseases of periodontal and oral mucosa. *University Medicine of the Urals*. 2017;2:85–89. (In Russ.)
23. Pupykina K. A., Ishmakova Z. R., Shikova Yu. V., Averyanov S. V., Pupykina E. V., Mavzyutov A. R., Bonvech A. A., Garaeva K. L., Isaeva A. I. Dental phytofilms for the treatment of inflammatory diseases of the periodontium and oral mucosa. Patent RUS No. 2618392. 04.05.2016. (In Russ.)
24. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. Vol. 2. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. 3262 p. (In Russ.)
25. Chen L., Mirza R., Kwon Y., DiPietro L. A., Koh T. J. The murine excisional wound model: Contraction revisited. *Wound Repair and Regeneration*. 2015;23(6):874–877.



Потенциальные мишени для нового противотуберкулезного препарата группы диарилхинолинов тиозонида

А. Ю. Савченко¹✉, Б. В. Шилов²

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ). 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

² Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора. 630559, Россия, Новосибирская обл., рабочий поселок Кольцово

✉ Контактное лицо: Савченко Алла Юрьевна. E-mail: alursav@mail.ru

ORCID: А. Ю. Савченко – <https://orcid.org/0000-0003-2734-5036>;

Б. В. Шилов – <https://orcid.org/0000-0001-7892-835X>.

Статья поступила: 27.03.2025

Статья принята в печать: 07.05.2025

Статья опубликована: 07.05.2025

Резюме

Введение. Диарилхинолины принято считать группой оптимальных кандидатов на роль противотуберкулезных препаратов (ПТП) для лечения туберкулеза, вызванного *Mycobacterium tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью.

Цель. Провести компьютерный анализ и оценку потенциальных молекулярных мишеней отечественного противотуберкулезного препарата тиозонида с использованием современных биоинформатических подходов.

Материалы и методы. Для прогнозирования мишеней лекарства был применен сервис SEA Search Service, который, опираясь на степень химического сходства молекул, рассчитываемую по коэффициенту Танимото, предсказывает воздействие исследуемого лиганда на известные мишени. Для анализа были отобраны соединения из базы данных ChEMBL, поиск структурно подобных молекул осуществляли с расчетом меры сходства по коэффициенту Танимото. Возможные мишени тиозонида предсказывали с помощью сервиса PPB (Polypharmacology Browser for Target Prediction), используя шесть разных фингерпринтов и четыре их сочетания. Выявлен значительный потенциал тиозонида для связывания с белками микобактерий, в том числе *M. tuberculosis*. Было выполнено компьютерное прогнозирование возможных биологических мишеней тиозонида с применением сервиса PPB (Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL) для анализа полифармакологии. Инициированный на основе химической структуры тиозонида в формате SMILES поисковый запрос позволил выявить среди различных мишеней, представленных в базе данных ChEMBL наиболее вероятные для взаимодействия с изучаемым соединением.

Результаты и обсуждение. Согласно результатам компьютерного скрининга, тиозонид продемонстрировал наиболее выраженную прогнозируемую активность в отношении различных представителей рода *Mycobacterium*, в том числе *M. tuberculosis*. На основании результатов исследования наиболее вероятными мишенями с участием связывания тиозонида оказались субъединицы бактериальной АТФ-синтазы – фермента, который выполняет центральную функцию в энергетическом обмене клетки, связывая процессы синтеза и гидролиза АТФ с перемещением протонов через мембрану. В качестве возможных мишеней для молекулы тиозонида в этом сервисе также были выделены некоторые белки человека, однако сродство тиозонида к этим мишеням у данных белков можно считать довольно низким.

Заключение. Результаты исследований демонстрируют избирательную активность тиозонида в отношении микобактерий, в частности штаммов *M. tuberculosis*. Тиозонид селективно взаимодействует с ключевыми субъединицами АТФ-синтазного комплекса бактерий, нарушая его каталитическую функцию. Тиозонид демонстрирует низкое сродство к мишеням организма человека (показатель аффинности не выше 0,1).

Ключевые слова: МЛУ-туберкулез, тиозонид, белки-мишени

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

Вклад авторов. А. Ю. Савченко – концепция исследования, редактирование текста статьи. Б. В. Шилов – биоинформатический анализ и написание текста статьи.

Для цитирования: Савченко А. Ю., Шилов Б. В. Потенциальные мишени для нового противотуберкулезного препарата группы диарилхинолинов тиозонида. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(2):45–52. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2065>

Potential targets for the new anti-tuberculosis drug of the diarylquinoline group thiozonide

Alla Yu. Savchenko¹✉, Boris V. Shilov²

¹ National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute) (MEPhI). 31, Kashirskoe shosse, Moscow, 115409, Russia

² Federal Budgetary Scientific Institution "State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rospotrebnadzor. Koltsovo workers' settlement. Novosibirsk region, 630559, Russia

✉ **Corresponding author:** Alla Yu. Savchenko. **E-mail:** alursav@mail.ru

ORCID: Alla Yu. Savchenko – <https://orcid.org/0000-0003-2734-5036>;

Boris V. Shilov – <https://orcid.org/0000-0001-7892-835X>.

Received: 27.03.2025

Accepted: 07.05.2025

Published: 07.05.2025

Abstract

Introduction. Diarylquinolines are considered a group of optimal candidates for anti-tuberculosis drugs (ATDs) in the treatment of tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* exhibiting multidrug resistance.

Aim. To perform a computer-aided analysis and evaluation of the potential molecular targets of the domestic anti-tuberculosis drug thiozonide using modern bioinformatics approaches.

Material and methods. The SEA Search Service was employed to predict the drug targets. Based on the degree of chemical similarity calculated by the Tanimoto coefficient, this service predicts the effect of the investigated ligand on known targets. Compounds from the ChEMBL database were selected for the analysis, and structurally similar molecules were identified using the Tanimoto similarity measure. Possible targets of thiozonide were predicted using the PPB (Polypharmacology Browser for Target Prediction) service, which utilized six different fingerprints and four of their combinations. A significant potential of thiozonide to bind mycobacterial proteins, including those of *M. tuberculosis*, was revealed. Additionally, computer-based prediction of potential biological targets for thiozonide was carried out using the PPB (Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL) service to analyze its polypharmacology. A search query initiated based on the chemical structure of thiozonide in SMILES format enabled the identification, among various targets listed in the ChEMBL database, of those most likely to interact with the studied compound.

Results and discussion. According to the computer screening results, thiozonide demonstrated the most pronounced predicted activity against various representatives of the genus *Mycobacterium*, including *M. tuberculosis*. Based on the study findings, the most likely binding targets were the subunits of bacterial ATP synthase. This enzyme plays a central role in cellular energy metabolism by linking ATP synthesis and hydrolysis with proton translocation across the membrane. Although some human proteins were also identified as potential targets for thiozonide, the affinity of thiozonide to these human targets is considered rather low.

Conclusion. The study results demonstrate the selective activity of thiozonide against mycobacteria, particularly *M. tuberculosis* strains. Thiozonide selectively interacts with the key subunits of the bacterial ATP synthase complex, thereby disrupting its catalytic function. Moreover, thiozonide exhibits low affinity towards human targets (affinity not exceeding 0.1).

Keywords: MDR-tuberculosis, thiozonide, target proteins

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 Yu. Savchenko – research concept, editing of the article text. Boris V. Shilov – bioinformatics analysis and writing of the article text.

For citation: Savchenko A. Yu., Shilov B. V. Potential targets for the new anti-tuberculosis drug of the diarylquinoline group thiozonide. *Drug development & registration.* 2025;14(2):45–52. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2065>

ВВЕДЕНИЕ

Один из перспективных препаратов для лечения туберкулеза с множественной (МЛУ) или широкой (ШЛУ) лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis* – новый отечественный противотуберкулезный препарат тиозонид. Химически это {1R,2S+1S,2R}-1-(6-бром-2-хлорхинолил-3-ил)-4-(диметиламино)-2-(нафталин-1-ил)-1-фенилбутан-2-ол, который является «следующим» в классе диарилхинолинов после родоначальника бедаквилина. Тиозониду присуща противотуберкулезная активность, сопоставимая с таковой у рифампицина в монотерапии в эксперименте на мышах с генерализованной формой туберкулеза. Названный препарат способствовал значимой выживаемости подопытных животных в эксперименте на мышах на фоне включения его в полихимиотерапию МЛУ-ТБ [1–3]. Поскольку тиозонид входит в группу диарилхинолинов, считающихся перспективными кандидатами для создания противотуберкулезных препаратов, направленных на лечение МЛУ-туберкулеза [4, 5], важным представляется исследование его возможного воздействия на *M. tuberculosis*. Исходя из этого, в настоящем исследовании поставлена задача прогнозирования потенциальных биологических мишеней тиозонида методами биоинформатики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали редактор химических соединений Marvin Sketch компании ChemAxon. В нем создавались файлы, позволяющие описать структурную формулу тиозонида в нескольких форматах, таких как mol, inchi, sdf и smiles. Созданные файлы служили запросами к базам данных или сервисам, в которых производился поиск потенциальных мишеней тиозонида. Указанные файлы были использованы для моделирования в качестве исследуемого лиганда¹.

Мишени тиозонида были предсказаны с использованием сервиса SEA Search Service²: он на основании коэффициента Танимото, показывающего уровень химического сходства молекул, предсказывает действие изучаемого лиганда на изучаемые мишени [6].

В записях баз данных ChEMBL, содержащих информацию о более чем двух миллионах соединений, для которых известно более 19 миллионов изученных видов активности в отношении мишеней, проводили поиск подобных соединений также на основании коэффициента Танимото [7].

Сервисом SwissTargetPrediction, поддерживаемым национальным институтом биоинформатики Швейцарии, и PPB (Polypharmacology Browser for Ta-

get Prediction in ChEMBL)³, пользовались для предсказания наиболее вероятных молекул, взаимодействующих с тиозонидом. Для поиска потенциальных мишеней формировали структурный запрос в формате SMILES, который использовали для скрининга по коллекции биологических мишеней, представленных в базе ChEMBL. На представленном скриншоте базы данных визуализированы шесть различных молекулярных дескрипторов (фингерпринтов) и четыре их комбинации, использованные в нашем исследовании (рисунок 1).

Fingerprints:

- APfp Xfp MQN SMIfp
- Sfp ECfp4
- Xfp+SMIfp+Sfp (Ffp1)
- Xfp+MQN+SMIfp (Ffp2)
- Xfp+SMIfp+Sfp+ECfp4 (Ffp3)
- Xfp+MQN+SMIfp+Sfp+ECfp4 (Ffp4)

Рисунок 1. Скриншот базы данных ChEMBL с выбранными молекулярными описателями для поиска мишеней тиозонида у *M. tuberculosis*

Figure 1. Screenshot of the ChEMBL database with selected molecular descriptors for searching for thiozonide targets in *M. tuberculosis*

В исследовании были применены данные по 4613 группам, каждая из которых включала не менее десяти биоактивных молекул, протестированных на определенную биологическую мишень. Эти данные использовались для прогнозирования потенциальных мишеней тиозонида. Различные фингерпринты с разных точек зрения описывают один и тот же молекулярный объект, поэтому выбор 10 способов описания возможных мишеней был обоснован необходимостью наиболее полного обзора химического взаимодействия с более детальным и эффективным кодированием малой молекулы [8]. Подробнее типы использованных фингерпринтов, основные характеристики и возможности презентации ими атомных и молекулярных структур описаны ранее [9, 10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для идентификации потенциальных мишеней тиозонида у *M. tuberculosis* был применен сервис SEA (Similarity Ensemble Approach) Search Service. Схожесть

¹ MarvinSketch. Available at: <https://chemaxon.com/products/marvin>. Accessed: 27.03.2025.

² SEA Search Service. Available at: <http://sea.bkslab.org/>. Accessed: 27.03.2025.

³ PPB (Polypharmacology Browser for Target Prediction in ChEMBL). Available at: <http://gdbtools.unibe.ch:8080/PPB/browser.html>. Accessed: 27.03.2025.

молекул оценивалась на основании коэффициента Танимото, указанного в последнем столбце на рисунке 2. Результаты исследования выявили выраженную способность тиозонида к взаимодействию с различными бактериальными белками-мишенями. В качестве предполагаемых основных целевых макромолекул были идентифицированы белки – субъединицы АТФ-синтазы микобактерии туберкулеза (рисунок 2), включая как уже известные участки связывания для диарилхинолинов (субъединицы с), так и ранее не описанные (субъединицы альфа и бета).

База данных ChEMBL показала наличие ряда молекул, схожих структурно с тиозонидом, которые обладали ингибирующей активностью по отношению к различным микобактериям. Идентификаторы молекул, ингибирующих рост *M. tuberculosis*, выглядят следующим образом: CHEMBL4068649, CHEMBL1221879, CHEMBL1221824, CHEMBL457781, CHEMBL376488. Учитывая величину коэффициента Танимото у них и тиозонида (>91), можно говорить о высокой степени схожести видов их активности на основании схожести структур (для сходных молекул коэффициент Танимото >70).

Исследование возможных биологических мишеней тиозонида проводили с применением сервиса PPB (Polypharmacology Browser for Target Prediction), интегрированного с базой данных ChEMBL. Поиск запрос, запущенный на основе химической структуры тиозонида в формате SMILES, сделал возможным определение среди множества мишеней, содержащихся в базе данных ChEMBL, тех, что с наибольшей вероятностью могут взаимодействовать с исследуемым соединением. В результате анализа была предсказана наибольшая потенциальная активность тиозонида в отношении различных видов микобактерий, включая *Mycobacterium tuberculosis* (таблица 1, рисунок 3).

Таблица 1. Список из 15 наиболее вероятных мишеней в порядке убывания их предсказанной аффинности в отношении тиозонида и их идентификаторы в базе данных ChEMBL

Table 1. List of 15 most probable targets in descending order of their predicted affinity for thiozonide and their ChEMBL database identifiers

| Мишень Target | Идентификатор в сервисе Identifier in the service |
|---|--|
| <i>Mycobacterium_mageritense</i> | CHEMBL612959 |
| <i>Mycobacterium_chelonae</i> | CHEMBL612641 |
| <i>Mycobacterium_kansasii</i> | CHEMBL614984 |
| <i>Mycobacterium_fortuitum</i> | CHEMBL614983 |
| <i>Mycobacterium_smegmatis</i> | CHEMBL613088 |
| <i>Mycobacterium_tuberculosis</i> | CHEMBL360 |
| <i>Mycobacterium_vaccae</i> | CHEMBL613224 |
| <i>Mycobacterium_phlei</i> | CHEMBL614985 |
| <i>Mycobacterium_avium</i> | CHEMBL614982 |
| <i>Mycobacterium_tuberculosis_H37Rv</i> | CHEMBL2111188 |
| <i>Mycobacterium_bovis</i> | CHEMBL613086 |
| <i>Corynebacterium_jeikeium</i> | CHEMBL613351 |
| <i>Helicobacter_pylori</i> | CHEMBL612600 |
| <i>Mycobacterium_marinum</i> | CHEMBL614987 |
| <i>Streptococcus_mutans</i> | CHEMBL612426 |

В сервисе SwissTargetPrediction в качестве возможных мишеней для молекулы тиозонида были выделены определенные белки человека, однако вероятность их связывания с тиозонидом оказалась весьма незначительной (таблица 2).

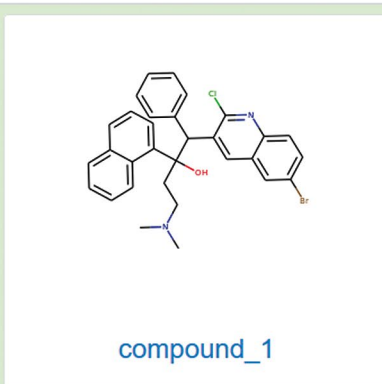
| Query | Target Key | Target Name | Description | P-Value | MaxTC |
|---|----------------|-------------|------------------------------|------------|-------|
|  | Q5TIX5_MYCSM+5 | atpE | ATP synthase subunit c | 1.269e-119 | 0.78 |
| | ATP6_MYCTU+5 | atpB | ATP synthase subunit a | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPA_MYCTU+5 | atpA | ATP synthase subunit alpha | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPB_MYCTU+5 | atpD | ATP synthase subunit beta | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPE_MYCTU+5 | atpC | ATP synthase epsilon chain | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPFD_MYCTU+5 | atpFH | ATP synthase subunit b-delta | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPF_MYCTU+5 | atpF | ATP synthase subunit b | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPG_MYCTU+5 | atpG | ATP synthase gamma chain | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPL_MYCTU+5 | atpE | ATP synthase subunit c | 1.522e-100 | 0.55 |
| | ATPL_BACP3+5 | atpE | ATP synthase subunit c | 7.119e-81 | 0.78 |

Рисунок 2. Скриншот сервиса SEA Search Service с выявленными мишенями тиозонида у *M. tuberculosis*

Figure 2. Screenshot of the SEA Search Service showing identified thiozonide targets in *M. tuberculosis*

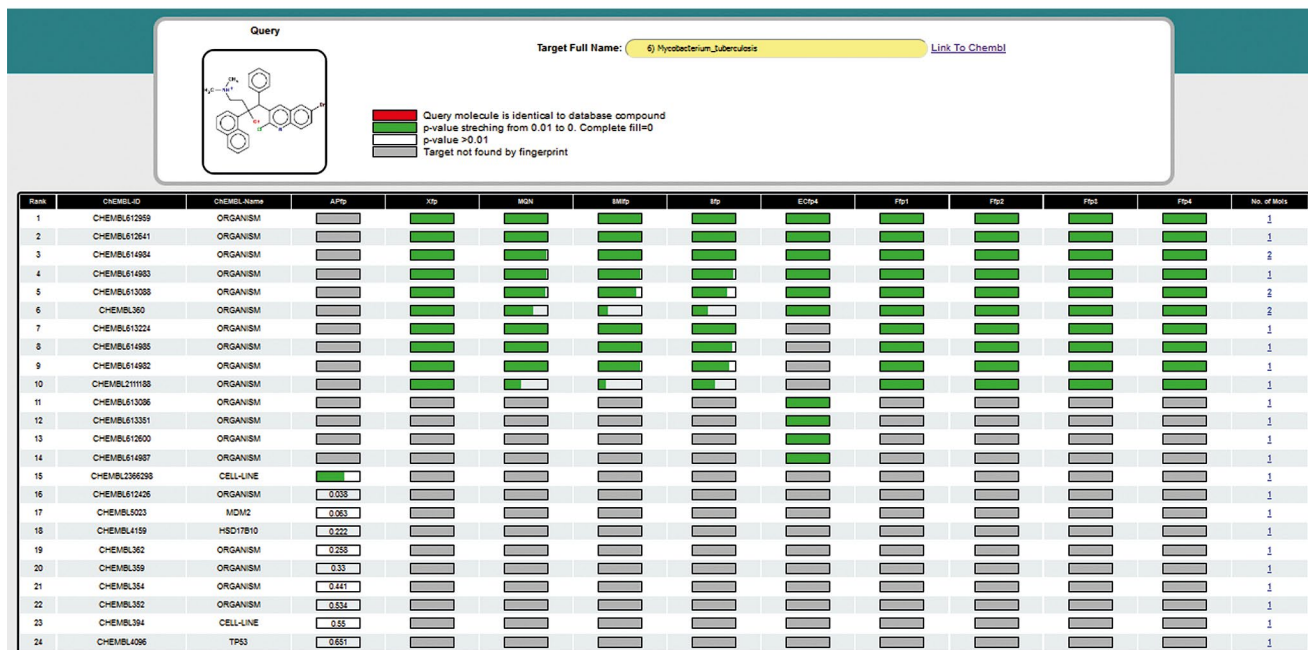


Рисунок 3. Фingerprint (Fingerprint) в отчете о поиске вероятных мишеней для тиозонида у *M. tuberculosis*

Figure 3. Fingerprints in the report on the search for potential targets for thiozonide in *M. tuberculosis*

Таблица 2. Классы вероятных мишеней для тиозонида в организме человека, предсказанные на основании данных сервиса SwissTargetPrediction

Table 2. Classes of probable targets for thiozonide in humans predicted based on SwissTargetPrediction data

| Мишень Target | Идентификатор в сервисе Identifier in the service | Показатель аффинности Affinity index |
|---|--|---|
| Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M1 (по гомологии) Muscarinic acetylcholine receptor M1 (by homology) | P11229 | 0,1 |
| Прегнановый X-рецептор Pregnane X receptor | O75469 | 0,1 |
| Серин/треонин-протеинкиназа PLK1 Serine/threonine protein kinase PLK1 | P53350 | 0,1 |
| Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M3 Muscarinic acetylcholine receptor M3 | P20309 | 0,1 |
| Ингибитор апоптоза белок 3 Inhibitor of apoptosis protein 3 | P98170 | 0,1 |
| Сфингозинкиназа 1 Sphingosine kinase 1 | Q9NYA1 | 0,1 |
| Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M2 Muscarinic acetylcholine receptor M2 | P08172 | 0,1 |
| Белок Mdm4 Mdm4 protein | O15151 | 0,1 |

| Мишень Target | Идентификатор в сервисе Identifier in the service | Показатель аффинности Affinity index |
|--|--|---|
| Белок Mdm2, связывающий p53 Mdm2 p53 binding protein | Q00987 | 0,1 |
| G-белок-связанный рецептор семейства Mas, член X1 G protein-coupled receptor Mas family, member X1 | Q96LB2 | 0,1 |
| Катепсин D Cathepsin D | P07339 | 0,1 |
| Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M4 Muscarinic acetylcholine receptor M4 | P08173 | 0,1 |
| Тирозинпротеинкиназный рецептор FLT3 Tyrosine protein kinase receptor FLT3 | P36888 | 0,1 |
| Кинезинподобный белок 1 Kinesin-like protein 1 | P52732 | 0,1 |
| Альфа-1G-субъединица T-типа кальциевого канала с управляемым напряжением Alpha-1G subunit of the T-type voltage-gated calcium channel | O43497 | 0,1 |
| Рецептор протеинтирозинкиназы erbB-2 Receptor protein tyrosine kinase erbB-2 | P04626 | 0,1 |
| Рецептор эпидермального фактора роста erbB1 Epidermal growth factor receptor erbB1 | P00533 | 0,1 |

| Мишень Target | Идентификатор в сервисе Identifier in the service | Показатель аффинности Affinity index |
|---|--|--|
| Метионинаминопептидаза 2 Methionine aminopeptidase 2 | P50579 | 0,1 |
| Антиэстрогенное связывающее место (AEBS) Anti-estrogen binding site (AEBS) | Q15125 | 0,1 |
| Протеинкиназа С-дельта Protein kinase C-delta | Q05655 | 0,1 |
| Протеинкиназа С-тета Protein kinase C-theta | Q04759 | 0,1 |
| Геранилгеранилтрансфераза типа I Geranylgeranyltransferase type I | P53609 P49354 | 0,1 |
| Двухспецифичная митогенактивируемая протеинкиназа киназа 1 Dual-specific mitogen-activated protein kinase kinase 1 | Q02750 | 0,1 |
| Рецептор меланинконцентрирующего гормона 1 Melanin-concentrating hormone receptor 1 | Q99705 | 0,1 |
| Бета-секретазы 1 Beta-secretase 1 | P56817 | 0,1 |
| Белок 4, содержащий бромодомен Bromodomain-containing protein 4 | Q60885 | 0,1 |
| Белок 2 семейства АТФаз с доменом AAA AAA domain ATPase family protein 2 | Q6PL18 | 0,1 |
| Мускариновый ацетилхолиновый рецептор M5 Muscarinic acetylcholine receptor M5 | P08912 | 0,1 |
| C5a анафилатоксина хемотактический рецептор C5a anaphylatoxin chemotactic receptor | P21730 | 0,1 |
| Грелин-рецептор Ghrelin receptor | Q92847 | 0,1 |
| МАР-киназа-активируемая протеинкиназа 2 MAP kinase-activated protein kinase 2 | P49137 | 0,1 |
| Бета-секретазы 2 Beta-secretase 2 | Q9Y5Z0 | 0,1 |
| Циклинзависимая киназа 5/активатор CDK5 1 Cyclin-dependent kinase 5/CDK5 activator 1 | Q15078 Q00535 | 0,1 |
| Ацилкоэнзим А: холестеролацилтрансфераза 1 Acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase 1 | P35610 | 0,1 |
| Ацилкоэнзим А: холестеролацилтрансфераза 2 Acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase 2 | Q75908 | 0,1 |
| Серотониновый рецептор 2b (5-HT2b) Serotonin receptor 2b (5-HT2b) | P41595 | 0,1 |

| Мишень Target | Идентификатор в сервисе Identifier in the service | Показатель аффинности Affinity index |
|--|--|--|
| Миозиновая легкая цепь киназы, гладкая мускулатура Myosin light chain kinase, smooth muscle | Q15746 | 0,1 |
| Цитохром P450 2C19 Cytochrome P450 2C19 | P33261 | 0,1 |
| Тирозинкиназный рецептор ALK ALK receptor tyrosine kinase | Q9UM73 | 0,1 |
| Пуринорецептор 7 P2X Purinoreceptor 7 P2X | Q99572 | 0,1 |
| Альфа-1H-субъединица Т-типа кальциевого канала с управляемым напряжением Alpha-1H subunit of the T-type voltage-gated calcium channel | Q95180 | 0,1 |
| Альфа-1C-субъединица L-типа кальциевого канала с управляемым напряжением Alpha-1C subunit of the L-type voltage-gated calcium channel | Q13936 | 0,1 |
| P-гликопротеин 1 P-glycoprotein 1 | P08183 | 0,1 |
| Катионный канал подсемейства V, член 3, семейства TRP Cation channel subfamily V, member 3, TRP family | Q8NET8 | 0,1 |
| Поли[АДФ-рибоза]-полимераза-1 Poly[ADP-ribose] polymerase-1 | P09874 | 0,1 |
| Рецепторподобный белок фактора роста опиоидов Opioid growth factor receptor-like protein | Q5TC84 | 0,1 |
| Метионинаминопептидаза 1 Methionine aminopeptidase 1 | P53582 | 0,1 |
| Рецептор макрофагального колоние-стимулирующего фактора Macrophage colony-stimulating factor receptor | P07333 | 0,1 |
| Рецептор фактора роста стволовых клеток Stem cell growth factor receptor | P10721 | 0,1 |
| Циклинзависимая киназа 2/циклин E Cyclin-dependent kinase 2/cyclin E | Q96020 P24941 P24864 | 0,1 |
| Серин/треонин-протеинкиназа PIM1 Serine/threonine protein kinase PIM1 | P11309 | 0,1 |
| Серин/треонин-протеинкиназа PIM2 Serine/threonine protein kinase PIM2 | Q9P1W9 | 0,1 |
| Серин/треонин-протеинкиназа PIM3 Serine/threonine protein kinase PIM3 | Q86V86 | 0,1 |
| Эмопамилсвязывающему подобный белок Emopamil-binding-like protein | Q9BY08 | 0,1 |

| Мишень Target | Идентификатор в сервисе Identifier in the service | Показатель аффинности Affinity index |
|--|--|--|
| Синтаза оксида азота, индуцируемая (по гомологии) Nitric oxide synthase, inducible (by homology) | P35228 | 0,1 |
| Везикулярный транспортер ацетилхолина Vesicular acetylcholine transporter | Q16572 | 0,1 |
| Хемокиновый рецептор типа 1 C-C Chemokine receptor type 1 C-C | P32246 | 0,1 |
| Гистаминовый рецептор H2 Histamine H2 receptor | P25021 | 0,1 |
| Диспептидилпептидаза IV Dispeptidyl peptidase IV | P27487 | 0,1 |
| Серотониновый транспортер Serotonin transporter | P31645 | 0,1 |
| Вазопрессиновый рецептор V2 (по гомологии) Vasopressin receptor V2 (by homology) | P30518 | 0,1 |
| Окситоциновый рецептор (по гомологии) Oxytocin receptor (by homology) | P30559 | 0,1 |
| МАР-киназа-сигнал-интегрирующая киназа 2 MAP kinase signal-integrating kinase 2 | Q9NBH9 | 0,1 |
| МАР-киназа-взаимодействующая серин/треонин-протеинкиназа MNK1 MAP kinase-interacting serine/threonine protein kinase MNK1 | Q9BUB5 | 0,1 |
| Толлподобный рецептор (TLR7/TLR9) Toll-like receptor (TLR7/TLR9) | Q9NR96 | 0,1 |
| Активатор плазминогена тканевого типа Tissue-type plasminogen activator | P00750 | 0,1 |
| Серотониновый рецептор 4 (5-HT4) Serotonin receptor 4 (5-HT4) | Q13639 | 0,1 |
| Натриевый канал, белок типа V, альфа-субъединица Sodium channel, protein type V, alpha subunit | Q14524 | 0,1 |
| ДНК (цитозин-5)-метилтрансфераза 1 (по гомологии) DNA (cytosine-5) methyltransferase 1 (by homology) | P26358 | 0,1 |
| Циклинзависимая киназа 9 Cyclin-dependent kinase 9 | P50750 | 0,1 |
| Рецептор 1, активируемый протеазой Protease-activated receptor 1 | P25116 | 0,1 |

В целом классы вероятных мишеней для тиозонида в организме человека, по данным сервиса SwissTargetPrediction, были оценены как низкоаффинные (вероятностный коэффициент аффинности для всех предсказанных мишеней организма человека не превышал 0,1) к тиозониду, что в дальнейшем коррелировало с результатами токсичности препара-

та у животных и его переносимости у людей [9]. Таким образом, есть основание предполагать хорошую переносимость препарата тиозонид.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В ходе использования прогностических методов биоинформатики для определения белковых мишеней препарата тиозонид было установлено, что его мишенями могут выступать микобактерии, включая *M. tuberculosis*.
2. Результаты компьютерного скрининга свидетельствуют, что основными мишенями тиозонида выступают структурные субъединицы бактериальной АТФ-синтазы – ключевого фермента энергетического метаболизма, катализирующего сопряженные реакции синтеза АТФ и трансмембранного протонного транспорта.
3. Тиозонид на основании данных показателя аффинности сервиса SwissTargetPrediction демонстрирует низкое сродство к мишеням организма человека (показатель аффинности не выше 0,1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Савченко А. Ю., Меньшикова Л. А., Раменская Г. В., Смолярчук Е. А. Фармакокинетическое исследование инновационного противотуберкулезного препарата тиозонида в плазме крови. *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(3):3–6. DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-3-3-6.
2. Бочарова И. В., Буренков М. С., Лепеха Л. Н., Смирнова Т. Г., Черноусова Л. Н., Демихова О. В. Доклинические исследования специфической активности нового противотуберкулезного препарата тиозонид. *Туберкулез и болезни легких*. 2014;(6):46–50. DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-6-46-50.
3. Савченко А. Ю., Буренков М. С., Байдин П. С., Раменская Г. В., Перова Н. В., Кукес В. Г. Противотуберкулезная активность на фоне лекарственной устойчивости возбудителя в эксперименте как основа перспективы использования препарата тиозонид. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2020;35(1):125–132. DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-1-125-132.
4. Koul A., Dendouga N., Vergauwen K., Molenberghs B., Vranckx L., Willebrords R., Ristic Z., Lill H., Dorange I., Guillemon J., Bald D., Andries K. Diarylquinolines target subunit c of mycobacterial ATP synthase. *Nature Chemical Biology*. 2007;3(6):323–324. DOI: 10.1038/nchembio884.
5. Тихонова Л. Ю., Соколова В. В., Тарасюк И. А., Екименко А. М., Черенкова М. А., Кудлай Д. А. Опыт применения препарата бедаквилин у больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя в амурской области. *Туберкулез и болезни легких*. 2018;96(6):45–50. DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-6-45-50.
6. Keiser M. J., Roth B. L., Armbruster B. N., Ernsberger P., Irwin J. J., Shoichet B. K. Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nature Biotechnology*. 2007;25(2):197–206. DOI: 10.1038/nbt1284.
7. Gaulton A., Hersey A., Nowotka M., Bento A. P., Chambers J., Mendez D., Mutowo P., Atkinson F., Bellis L. J., Cibrián-Uhalte E., Davies M., Dedman N., Karlsson A., Magariños M. P., Overington J. P., Papadatos G., Smit I.,

- Leach A. R. The ChEMBL database in 2017. *Nucleic Acids Research*. 2017;45(D1):D945–D954. DOI: 10.1093/nar/gkw1074.
8. Nguyen K. T., Blum L. C., van Deursen R., Reymond J.-L., Classification of Organic Molecules by Molecular Quantum Numbers. *ChemMedChem*. 2009;4:1803–1805. DOI: 10.1002/cmdc.200900317.
 9. Шилов Б. В., Савченко А. Ю. Изучение мишеней нового противотуберкулезного препарата группы диарилхинолинов тиозонида. *Проблемы биологии и медицины*. 2022;141(6.1):112–116.
 10. Савченко А. Ю., Раменская Г. В., Кукес В. Г., Буренков М. С., Шилов Б. В. Комплексная оценка безопасности нового противотуберкулезного препарата из группы диарилхинолинов. *Биомедицина*. 2021;17(3):105–110. DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-105-110.

REFERENCES

1. Savchenko A. Yu., Menshikova L. A., Rameskaya G. V., Smolyarchuk E. A. Studying pharmacokinetics of new anti-tuberculosis drug thiozonide in blood plasma. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(3):3–6. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2015-49-3-3-6.
2. Bocharova I. V., Burenkov M. S., Lepekha L. N., Smirnova T. G., Chernousova L. N., Demikhova O. V. Preclinical studies of the specific activity of the new antituberculosis drug thiozonide. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2014;(6):46–50. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-6-46-50.
3. Savchenko A. Yu., Burenkov M. S., Baidin P. S., Ramenskaya G. V., Perova N. V., Kukes V. G. Anti-tuberculosis activity in the presence of drug resistance as a rationale for prospect use of thiozonide. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2020;35(1):125–132. (In Russ.) DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-1-125-132.
4. Koul A., Dendouga N., Vergauwen K., Molenberghs B., Vranckx L., Willebrords R., Ristic Z., Lill H., Dorange I., Guillemont J., Bald D., Andries K. Diarylquinolines target subunit c of mycobacterial ATP synthase. *Nature Chemical Biology*. 2007;3(6):323–324. DOI: 10.1038/nchembio884.
5. Tikhonova L. Yu., Sokolova V. V., Tarasyuk I. A., Ekimenko A. M., Cherenkova M. A., Kudlay D. A. Experience of treatment of multiple drug resistant tuberculosis patients with bedaquiline in amur region. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018;96(6):45–50. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-6-45-50.
6. Keiser M. J., Roth B. L., Armbruster B. N., Ernsberger P., Irwin J. J., Shoichet B. K. Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nature Biotechnology*. 2007;25(2):197–206. DOI: 10.1038/nbt1284.
7. Gaulton A., Hersey A., Nowotka M., Bento A. P., Chambers J., Mendez D., Mutowo P., Atkinson F., Bellis L. J., Cibrián-Uhalte E., Davies M., Dedman N., Karlsson A., Magariños M. P., Overington J. P., Papadatos G., Smit I., Leach A. R. The ChEMBL database in 2017. *Nucleic Acids Research*. 2017;45(D1):D945–D954. DOI: 10.1093/nar/gkw1074.
8. Nguyen K. T., Blum L. C., van Deursen R., Reymond J.-L., Classification of Organic Molecules by Molecular Quantum Numbers. *ChemMedChem*. 2009;4:1803–1805. DOI: 10.1002/cmdc.200900317.
9. Shilov B. V., Savchenko A. Yu. Study of targets of a new anti-tuberculosis drug of the diarylquinoline group thiozonide. *Journal Problems of Biology and Medicine*. 2022;141(6.1):112–116. (In Russ.)
10. Savchenko A. Yu., Ramenskaya G. V., Kukes V. G., Burenkov M. S., Shilov B. V. Comprehensive Assessment of the Safety of a New Antituberculosis Drug from the Diarylquinolines Group. *Journal Biomed*. 2021;17(3):105–110. (In Russ.) DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-105-110.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

«РЕГУЛЯТОРНАЯ ПРАКТИКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ» —

«РЕГЛЕК 2025»

Отель «Хаятт Ридженси Москва Петровский Парк»

2–4 июня
2025 г.,
Москва

В ПРОГРАММЕ КОНФЕРЕНЦИИ

2 июня Сессия 1

Пленарное заседание

Секционные заседания

- Досье под углом зрения эксперта соотношения польза–риск: требования и трактовки
- Взаимодействие государственных при замечаниях к регистрационному досье лекарственного препарата: сколько глаз у пяти «нянек»?
- Фармакопея Евразийского экономического союза: сложные вопросы интеграции и пути их преодоления
- Регуляторная практика анти-монопольного регулирования на фармацевтическом рынке
- Международная секция

3 июня Сессия 2

Секционные заседания

- Полгода до общего рынка лекарственных средств ЕАЭС: приведение в соответствие в России. Предварительные итоги, прогнозы
- Внесение значимых изменений типа II (качество)
- Высокотехнологичные лекарственные препараты — передний край медицинской науки и «головная боль» регулятора. Когда регулирование догонит потребности отрасли?
- Орфанные препараты — «сироты» в Союзе?
- Контроль качества лекарственного средства на всех этапах его жизненного цикла: от исследований до применения

4 июня Сессия 3

Секционные заседания

- Параллельные изменения регистрационного досье — безграничные возможности или ловушка? Разбор особенностей процедуры в зависимости от выбора заявителя России в качестве референтного государства или государства признания
- Новые направления деятельности Экспертного учреждения: новые возможности для фармацевтической отрасли
- Проблемы GMP при регистрации лекарственных препаратов: когда неявное становится явным
- Регуляторные тренды в сфере обращения лекарственных средств: итоги 2024 г. и перспективы 2025 г.
- Сложные вопросы экспертизы популярных лекарств

Круглый стол

- Актуальные вопросы экспертизы и регистрации лекарственных средств

Обращаем Ваше внимание, что Оргкомитет конференции оставляет за собой право вносить изменения в программу и состав докладчиков



РегЛек

Дополнительная информация на сайте www.fru.ru
и по тел.: (495) 359-06-42, e-mail: fru@fru.ru



Первый дженерик тирзепатида GR30931: физико-химическое и биологическое сходство с референтным лекарственным средством

И. А. Луговик¹✉, А. В. Бабина¹, С. С. Арутюнян¹, Д. О. Ермолаева¹, В. Б. Сапарова^{1,2},
Т. Н. Кобелева¹, П. Г. Заикин¹, А. Д. Микушина³, А. С. Букатин³, И. Е. Елисеев⁴,
Б. Ц. Зайчик⁵, Я. К. Керученько⁵, И. С. Охрименко^{6,7}, Э. В. Бочаров^{6,7},
А. Х. Тальдаев^{6,7}, В. А. Лушпа^{6,7}, И. Е. Макаренко^{1,2}, Р. В. Драй¹

¹ Закрытое акционерное общество «Фарм-Холдинг». 198515, Россия, г. Санкт-Петербург, поселок Стрельна, ул. Связи, д. 34, литера А

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 1127006, Россия, г. Москва, ул. Долгоруковская, д. 4

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования и науки «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет имени Ж. И. Алферова Российской академии наук» (СПбАУ РАН им. Ж. И. Алферова; Академический университет им. Ж. И. Алферова, Алферовский университет). 194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, корпус 3, литера А

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики» (НИУ ВШЭ). Школа информатики, физики и технологий. 199106, Россия, Санкт-Петербург, 25-я линия Васильевского острова, д. 6, корпус 1

⁵ Научно-исследовательский центр компании «АкваХром». 117198, Россия, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 113/1, помещение 210Е-211Е

⁶ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (МФТИ, Физтех). Центр исследований молекулярных механизмов старения и возрастных заболеваний. 141701, Россия, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9

⁷ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный Научный Центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН). Лаборатория биомолекулярной ЯМР-спектроскопии. 117997, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

✉ Контактное лицо: Луговик Илья Алексеевич. E-mail: Ilia.Lugovik@geropharm.com

ORCID: И. А. Луговик – <https://orcid.org/0000-0003-3840-5049>;
А. В. Бабина – <https://orcid.org/0000-0003-3024-4009>;
С. С. Арутюнян – <https://orcid.org/0000-0002-9384-8064>;
Д. О. Ермолаева – <https://orcid.org/0009-0005-8083-7154>;
В. Б. Сапарова – <https://orcid.org/0000-0002-8445-1129>;
Т. Н. Кобелева – <https://orcid.org/0009-0006-2654-7874>;
П. Г. Заикин – <https://orcid.org/0009-0008-8467-9781>;
А. Д. Микушина – <https://orcid.org/0000-0002-9110-1813>;
А. С. Букатин – <https://orcid.org/0000-0002-5459-1438>;
И. Е. Елисеев – <https://orcid.org/0000-0002-3344-2513>;
Б. Ц. Зайчик – <https://orcid.org/0000-0003-4934-8801>;
Я. К. Керученько – <https://orcid.org/0009-0002-6889-9000>;
И. С. Охрименко – <https://orcid.org/0000-0002-1053-2778>;
Э. В. Бочаров – <https://orcid.org/0000-0002-3635-1609>;
А. Х. Тальдаев – <https://orcid.org/0000-0003-2593-1963>;
В. А. Лушпа – <https://orcid.org/0000-0002-1788-1153>;
И. Е. Макаренко – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>;
Р. В. Драй – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>.

© Луговик И. А., Бабина А. В., Арутюнян С. С., Ермолаева Д. О., Сапарова В. Б., Кобелева Т. Н., Заикин П. Г., Микушина А. Д., Букатин А. С., Елисеев И. Е., Зайчик Б. Ц., Керученько Я. К., Охрименко И. С., Бочаров Э. В., Тальдаев А. Х., Лушпа В. А., Макаренко И. Е., Драй Р. В., 2025

© Lugovik I. A., Babina A. V., Arutyunyan S. S., Ermolaeva D. O., Saparova V. B., Kobeleva T. N., Zaikin P. G., Mikushina A. D., Bukatin A. S., Eliseev I. E., Zajchik B. Ts., Keruchenko Y. K., Ohrimenko I. S., Bocharov E. V., Taldaev A. Kh., Lushpa V. A., Makarenko I. E., Drai R. V., 2025

Статья поступила: 17.04.2025

Статья принята в печать: 19.05.2025

Статья опубликована: 20.05.2025

Резюме

Введение. Метаболический синдром – мультифакторный комплекс метаболических нарушений, сопровождающийся сахарным диабетом 2 типа и абдоминальным ожирением. В фармакологической коррекции ожирения и сахарного диабета 2 типа наибольший эффект демонстрируют двойные агонисты глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1) и глюкозозависимого инсулиноотропного полипептида (GIP), в частности тирзепатид. Оригинальный препарат («Мунджаро», мнн: тирзепатид) не зарегистрирован в Евразийском экономическом союзе (ЕАЭС), что ограничивает его доступность для пациентов и приводит к необходимости разработки отечественного дженерика.

Цель. Проведение физико-химической и биологической характеристики препарата Седжаро® (GP30931) в сравнении с оригинальным препаратом Мунджаро® для установления их сопоставимости.

Материалы и методы. Исследованы три серии каждого препарата (раствор для подкожного введения, 25 мг/мл). Первичную структуру проверяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС), пептидного картирования и ЯМР (2D-ЯМР-¹H-¹H TOCSY). Вторичную структуру, структуры высшего порядка и агрегацию оценивали методами кругового дихроизма (КД), ядерного магнитного резонанса высокого разрешения (ЯМР), квантового выхода флуоресценции (КФ) и динамического рассеяния света (DLS). Профиль примесей анализировали с использованием эксклюзионной и обращенно-фазовой ВЭЖХ. Функциональную активность определяли в клеточных тестах по активации кальциевых потоков через рецепторы GLP-1 и GIP с оценкой полумаксимальной эффективной концентрации (EC₅₀); эквивалентность подтверждали методом двух односторонних тестов (TOST, 90 % доверительный интервал).

Результаты и обсуждение. ВЭЖХ-МС и картирование подтвердили идентичные массу (4 810,52 Да) и аминокислотную последовательность. Спектры ЯМР, профили КД и КФ, а также ДЛС полностью совпадали, что позволяет заключить, что вторичные и третичные структуры препаратов структурно идентичны. Содержание всех видов примесей у GP30931 не превышало значений «Мунджаро». Различие значений EC₅₀ для активации GLP-1 и GIP рецепторов составило ≤5 %, сравнительная биологическая активность находилась в пределах 0,80–1,25.

Заключение. Комплекс проведенных исследований с использованием ортогональных методов показал, что «Седжаро» (GP30931) и «Мунджаро» структурно идентичны, сопоставимы по профилю примесей и биологически эквивалентны. Полученные данные вносят значимый вклад в научное обоснование эквивалентности воспроизведенного препарата тирзепатида и референтного оригинального препарата, тем самым обеспечивая надежную основу для дальнейшей регистрации и клинического применения Седжаро® без проведения дополнительных клинических исследований.

Ключевые слова: тирзепатид, GLP-1, GIP, воспроизведенный пептид, физико-химическая характеристика, ЯМР, дженерик

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

Вклад авторов. И. А. Луговик, А. В. Бабина, И. Е. Макаренко и С. С. Арутюнян разработали программу исследования и метод ранжирования рисков. Р. В. Драй осуществлял общее руководство проектом и критический обзор всех этапов работы. Д. О. Ермолаева и В. Б. Сапарова выполнили клеточные *in-vitro*-тесты на активацию рецепторов GLP-1 и GIP и первичный анализ результатов. Т. Н. Кобелева и П. Г. Заикин провели экспериментальные работы по определению профиля родственных примесей методом обращенно-фазовой и эксклюзионной ВЭЖХ. А. Д. Микушина, А. С. Букатин и И. Е. Елисеев провели измерения динамического рассеяния света и кругового дихроизма и интерпретировали спектры. Б. Ц. Зайчик и Я. К. Керученко определили молекулярную массу, выполнили пептидное картирование с HPLC-MS и измерили квантовый выход флуоресценции. И. С. Охрименко, Э. В. Бочаров, А. Х. Тальдаев и В. А. Лушпа записали и обработали одно- и двумерные NMR-спектры, подготовили пространственную модель белка. Все авторы проводили интерпретацию результатов. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Спонсор данного исследования – ООО «ГЕРОФАРМ».

Для цитирования: Луговик И. А., Бабина А. В., Арутюнян С. С., Ермолаева Д. О., Сапарова В. Б., Кобелева Т. Н., Заикин П. Г., Микушина А. Д., Букатин А. С., Елисеев И. Е., Зайчик Б. Ц., Керученко Я. К., Охрименко И. С., Бочаров Э. В., Тальдаев А. Х., Лушпа В. А., Макаренко И. Е., Драй Р. В. Первый дженерик тирзепатида GP30931: физико-химическое и биологическое сходство с референтным лекарственным средством. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):54–74. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2084>

The first generic tirzepatide GP30931: physicochemical and biological similarity to the reference drug

Ilya A. Lugovik¹, Anna V. Babina¹, Sona S. Arutyunyan¹, Darya O. Ermolaeva¹, Valeriya B. Saparova^{1,2}, Tatyana N. Kobeleva¹, Pavel G. Zaikin¹, Anna D. Mikushina³, Anton S. Bukatin³, Igor E. Eliseev⁴, Boris Ts. Zajchik⁵, Yan S. Keruchenko⁵, Ivan S. Ohrimenko^{6,7}, Eduard V. Bocharov^{6,7}, Amir Kh. Taldaev^{6,7}, Vladislav A. Lushpa^{6,7}, Igor E. Makarenko^{1,2}, Roman V. Drai¹

¹ Closed Joint Stock Company "Pharm-Holding". 34A, Svyazi str., Strelna settlement, Saint Petersburg, 198515, Russia

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 4, Dolgorukovskaya str., Moscow, 1127006, Russia

³ Alferov Federal State Budgetary Institution of Higher Education and Science Saint Petersburg National Research Academic University of the Russian Academy of Sciences (Alferov University). 8/3A, Khlopina str., Saint Petersburg, 194021, Russia

⁴ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research University "Higher School of Economics". School of Informatics, Physics and Technology. 6/1, 25 liniya Vasil'evskogo ostrova, Saint Petersburg, 199106, Russia

⁵ Research and development center of the company "AquaChrom". room 210E-211E, 113/1, Leninsky prospekt, Moscow, 117198, Russia

⁶ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University)" (MIPT, Phystech). Center for Research of Molecular Mechanisms of Aging and Age-Related Diseases. Institutskiy pereulok, 9, Dolgoprudny, Moscow region, 141701, Russia

⁷ Shemyakin-Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry. Laboratory of Biomolecular NMR Spectroscopy. 16/10, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997, Russia

✉ **Corresponding author:** Ilya A. Lugovik. **E-mail:** Ilya.Lugovik@geropharm.com

ORCID: Ilya A. Lugovik – <https://orcid.org/0000-0003-3840-5049>;
Anna V. Babina – <https://orcid.org/0000-0003-3024-4009>;
Sona S. Arutyunyan – <https://orcid.org/0000-0002-9384-8064>;
Darya O. Ermolaeva – <https://orcid.org/0009-0005-8083-7154>;
Valeriya B. Saparova – <https://orcid.org/0000-0002-8445-1129>;
Tatyana N. Kobeleva – <https://orcid.org/0009-0006-2654-7874>;
Pavel G. Zaikin – <https://orcid.org/0009-0008-8467-9781>;
Anna D. Mikushina – <https://orcid.org/0000-0002-9110-1813>;
Anton S. Bukatin – <https://orcid.org/0000-0002-5459-1438>;
Igor E. Eliseev – <https://orcid.org/0000-0002-3344-2513>;
Boris Ts. Zajchik – <https://orcid.org/0000-0003-4934-8801>;
Yan S. Keruchenko – <https://orcid.org/0009-0002-6889-9000>;
Ivan S. Ohrimenko – <https://orcid.org/0000-0002-1053-2778>;
Eduard V. Bocharov – <https://orcid.org/0000-0002-3635-1609>;
Amir Kh. Taldaev – <https://orcid.org/0000-0003-2593-1963>;
Vladislav A. Lushpa – <https://orcid.org/0000-0002-1788-1153>;
Igor E. Makarenko – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>;
Roman V. Drai – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>.

Received: 17.04.2025

Accepted: 19.05.2025

Published: 20.05.2025

Abstract

Introduction. Metabolic syndrome is a multifactorial complex of metabolic disorders accompanied by type 2 diabetes mellitus and abdominal obesity. In the pharmacological correction of obesity and type 2 diabetes mellitus, the greatest effect is demonstrated by dual agonists of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP), in particular tirzepatide. The original drug (Mundjaro, pln: tirzepatide) is not registered in the Eurasian Economic Union (EAEU), which limits its availability to patients and leads to the need to develop a domestic generic.

Aim. Conducting a physicochemical and biological characterization of the drug Sejaro® (GP30931) in comparison with the original drug Mundjaro® to establish their comparability.

Materials and methods. Three batches of each drug (solution for subcutaneous administration, 25 mg/ml) were studied. The primary structure was verified using high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC-MS), peptide mapping and NMR (2D-NMR-¹H-¹H TOCSY). Secondary structure, higher order structures and aggregation were assessed by circular dichroism (CD), high-resolution nuclear magnetic resonance (NMR), fluorescence quantum yield (FQY) and dynamic light scattering (DLS). Impurity profiles were analyzed using size-exclusion and reversed-phase HPLC. Functional activity was determined in cellular tests for activation of calcium currents through GLP-1 and GIP receptors with an assessment of the half-maximal effective concentration (EC₅₀); equivalence was confirmed by the two-sided test (TOST, 90 % confidence interval).

Results and discussion. HPLC-MS and mapping confirmed identical mass (4,810.52 Da) and amino acid sequence. NMR spectra, CD and CF profiles, and DLS were completely consistent, which allows us to conclude that the secondary and tertiary structures of the preparations are structurally identical. The content of all types of impurities in GP30931 did not exceed the Mundjaro values. The difference in EC₅₀ values for activation of GLP-1 and GIP receptors was ≤5 %, the comparative biological activity was within 0.80–1.25.

Conclusion. The complex of studies conducted using orthogonal methods showed that "Sejaro" (GP30931) and "Mundjaro" are structurally identical, comparable in impurity profile and biologically equivalent. The obtained data make a significant contribution to the scientific substantiation of the equivalence of the reproduced drug tirzepatide and the reference original drug, thereby providing a reliable basis for further registration and clinical use of Sejaro® without conducting additional clinical studies.

Keywords: tirzepatide, GLP-1, GIP, recombinant peptide, physicochemical characterization, NMR, generic

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. Ilya A. Lugovik, Anna V. Babina, Igor E. Makarenko and Sona S. Arutyunyan developed the research program and the risk ranking method. Roman V. Drai provided overall project management and critical review of all stages of the work. Darya O. Ermolaeva and Valeriya B. Saparova performed in vitro cellular tests for GLP-1 and GIP receptor activation and the initial analysis of the results. Tatyana N. Kobeleva and Pavel G. Zaikin conducted experimental work to determine the profile of related impurities using reversed-phase and size-exclusion HPLC. Anna D. Mikushina, Anton S. Bukatin and Igor E. Eliseev measured dynamic light scattering and circular dichroism and interpreted the spectra. Boris Ts. Zajchik and Yan S. Keruchenko determined the molecular mass, performed peptide mapping with HPLC-MS and measured the fluorescence quantum yield. Ivan S. Ohrimenko, Eduard V. Bocharov, Amir Kh. Taldaev, Vladislav A. Lushpa recorded and processed one- and two-dimensional NMR spectra and prepared a spatial model of the protein. All authors interpreted the results. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The sponsor of this study is LLC "GEROPHARM".

For citation: Lugovik I. A., Babina A. V., Arutyunyan S. S., Ermolaeva D. O., Saparova V. B., Kobeleva T. N., Zaikin P. G., Mikushina A. D., Bukatin A. S., Eliseev I. E., Zajchik B. Ts., Keruchenko Y. K., Ohrimenko I. S., Bocharov E. V., Taldaev A. Kh., Lushpa V. A., Makarenko I. E., Drai R. V. The first generic tirzepatide GP30931: physicochemical and biological similarity to the reference drug. *Drug development & registration*. 2025;14(2):54–74. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2084>

ВВЕДЕНИЕ

Метаболический синдром – комплекс метаболических, гормональных и клинических нарушений на фоне инсулинорезистентности и компенсаторной гиперинсулинемии, выявляемый у 25–35 % взрослого населения развитых стран [1–3]. К наиболее значимым его проявлениям относятся сахарный диабет 2 типа, абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия и прогрессирующий неалкогольный стеатогепатит [2]. Современная модель патогенеза СД2, помимо прогрессирующей утраты β -клеточной массы и функции, включает дисфункцию гастроинтестинальных инкретинов GIP и GLP-1, модулирующих глюкозозависимую секрецию инсулина и подавление глюкагона [4–7]. У здоровых лиц инкретиновый эффект формирует 50–70 % постпрандиальной инсулиновой секреции, тогда как при СД2 его вклад снижается до 20–35 % [8]. В рамках клинических исследований было продемонстрировано, что коагонист GLP-1/GIP-рецепторов тирзепатид превосходит имеющиеся на рынке моноагонисты GLP-1 (влияние на HbA1c и снижение массы тела), такие как дулаглитид (2 фаза клинических исследований) и семаглутид (3 фаза клинических исследований). При этом профиль безопасности препаратов был схож, частота нежелательных явлений не возрастала у тирзепатида по сравнению с моноагонистами [9].

Учитывая высокое влияние метаболического синдрома на качество и продолжительность жизни, вопрос доступа к терапии тирзепатидом является критическим для пациентов ЕАЭС, при этом единственный препарат, содержащий тирзепатид («Мунджаро»), официально в ЕАЭС не зарегистрирован и в страны Союза не поставляется. Все это привело к

необходимости разработки собственных дженериков препарата тирзепатид для обеспечения доступа пациентов к наиболее современной терапии метаболического синдрома.

Химически тирзепатид представляет собой линейный пептид из 39 аминокислот, конъюгированный с фрагментом жирной двухкислотной группы 2 через линкер, соединенный с остатком лизина в положении 20. Пептидная последовательность LY3298176 также содержит два некодируемых аминокислотных остатка в положениях 2 и 13 (Aib, α -аминоизомаляновая кислота), а С-конец амидирован (рисунок 1). Технология ацилирования обеспечивает связывание альбумина, что обеспечивает режим дозирования для человека один раз в неделю. Молекулярная масса составляет 4810,52 Да [10].

Согласно определению FDA любой альфа-аминополимер, который включает 40 и менее аминокислот, представляет собой не белок, а пептид. В научных публикациях зачастую фиксируется, что воспроизведенные пептиды занимают промежуточную позицию между классическими биосимилярами и дженериками, их структура значительно сложнее любой малой молекулы, получаемой классическим химическим синтезом, однако пептиды могут быть в полной мере охарактеризованы современными методами (ЯМР, ВЭЖХ-МС высокого разрешения), и их идентичность оригинальному препарату может быть однозначно доказана¹ [11, 12]. Это отличает их от вос-

¹ ANDAs for Certain Highly Purified Synthetic Peptide Drug Products That Refer to Listed Drugs of rDNA Origin Guidance for Industry. Available at: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/andas-certain-highly-purified-synthetic-peptide-drug-products-refer-listed-drugs-rdna-origin>. Accessed: 10.04.2025.

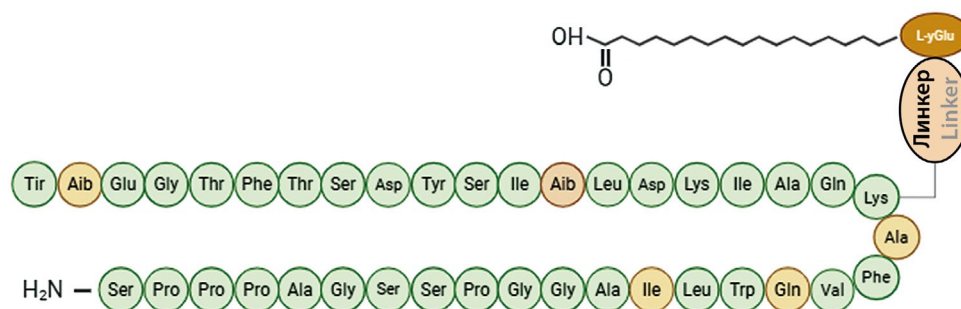


Рисунок 1. Последовательность молекулы тирзепатида. Аминокислоты, которые либо модифицированы, либо отличаются как от GLP-1, так и от GIP, выделены оранжевым цветом

Figure 1. Amino acid sequence of the tirzepatide molecule. Amino acids that are either modified or differ from both GLP-1 and GIP are highlighted in orange

произведенных белков, когда чаще можно говорить лишь о биоподобии (возможные различия в структуре молекулы при их наличии не влияют на ФК, ФД и безопасность)^{1,2,3}. С точки зрения FDA, это позволяет подавать сокращенную заявку на одобрение нового препарата (ANDA) в соответствии с разделом 505(j) Федерального закона о пищевых продуктах, лекарственных средствах и косметических средствах (FD&C Act), что аналогично подходу к «традиционным» дженерикам [11]. В ЕАЭС схожий подход, как к стандартным дженерикам: согласно 85 решению ЕЭК для химических соединений можно регистрировать по процедуре «Эвиденс биовейвер», что предполагает избыточность проведения клинических исследований при доказательстве сопоставимости физико-химическими и *in-vitro*-методами⁴. Однако также критически повышает значимость проведения исследований качества воспроизведенных пептидов.

¹ European Medicines Agency (EMA). Guideline on similar biological medicinal products (CHMP/437/04 Rev. 1). Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1_en.pdf. Accessed: 16.04.2025.

² European Medicines Agency (EMA). Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (EMA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev. 1). Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-containing-biotechnology-derived-proteins-active-substance-non-clinical-and-clinical-issues-revision-1_en.pdf. Accessed: 16.04.2025.

³ Решение Совета ЕЭК № 89 от 3 ноября 2016 года «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» (пп. 9.1, 15.7). Доступно по: <https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0089>. Ссылка активна на 16.04.2025.

⁴ Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 85 от 3 ноября 2016 г. «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Доступно по: <https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0085/> Ссылка активна на 16.04.2025.

При этом подходы к исследованиям воспроизведенных пептидов (в отличие от биосимиляров) в настоящий момент на территории ЕАЭС в полной мере не устоялись. Если же обратиться к рекомендациям FDA, то можно отметить, что в целом подходы к исследованиям сопоставимости достаточно похожи на классические подходы к биосимилярам, описанным в 89 решении (с поправкой на природу молекулы), и базируются на всесторонней характеристике молекулы по сравнению с оригинатором по следующим критериям [11, 12]: «первичная структура и базовые физико-химические свойства»; «вторичная структура и структуры высшего порядка»; «олигомеризация/агрегация»; «биологическая активность».

В данной работе представлены результаты исследования сопоставимости лекарственного препарата Седжаро® (GP30931, МНН: тирзепатид) в сравнении с оригинальным препаратом Мунджаро®. Физико-химическая характеристика препаратов включала изучение структуры тирзепатида на нескольких уровнях: исследования первичной и вторичной структуры пептида, а также структур более высокого порядка; содержания родственных примесей. Функциональная характеристика включала оценку биологической активности по отношению к основным молекулярным мишеням препарата (GLP-1- и GIR-рецепторы).

Цель: проведение физико-химической и биологической характеристики препарата Седжаро® (GP30931) в сравнении с оригинальным препаратом Мунджаро® для установления их сопоставимости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые объекты

Для сравнительного анализа были использованы 3 серии воспроизведенного препарата Седжаро® (GP30931) (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и 3 серии оригинального препарата Мунджаро® (Eli Lilly, США). Все объекты испытания были представлены в лекарственной форме «раствор для подкожного введения,

25 мг/мл». Разработка препарата Седжаро® (GP30931) была проведена в R&D-центре ООО «ГЕРОФАРМ» (ЗАО «Фарм-Холдинг»). Референтный препарат Мунджаро® был приобретен у зарубежных поставщиков на рынке Европейского союза.

Установление критических показателей качества

Критические атрибуты качества Седжаро® (GP30931) были определены для проверки стратегии контроля в процессе производства, которая дала бы индикаторы, наиболее релевантные для клинической безопасности и эффективности для пациентов (таблица 1). Ранжирование риска было основано на принципах управления рисками качества, опубликованных Международным советом по гармонизации (ICH) технических требований к регистрации фармацевтических препаратов для использования человеком^{1,2}. Оценка критичности для атрибута качества рассчитывалась как функция воздействия и неопределенности [13].

Метод ранжирования рисков позволил задать для каждого показателя диапазоны допустимых отклонений исследуемого препарата от референтного, а атрибуты, распределенные по трем уровням критичности (Tier) в зависимости от влияния на биологическую активность, фармакокинетику/фармакодинамику, иммуногенность и безопасность, подвергались статистической оценке с более жесткими пределами приемлемости для более значимых параметров. Результаты ранжирования рисков и назначения уровня для каждого из атрибутов в исследовании сопоставимости между воспроизведенным препаратом Седжаро® (GP30931) и Мунджаро® представлены в таблице 1.

Определение молекулярной массы и анализ первичной структуры

Молекулярную массу нативного белка тирзепатида определяли без проведения протеолиза масс-спектрометром высокого разрешения SYNAPT XS HDMS (Waters Corporation, США). Спектры получали в диапазоне масс 100–2000 m/z. Точность измеренных моноизотопных масс после докалибровки составляла до 5 ppm. Для обработки масс-спектров использовали программное обеспечение MassLynx, v. 4.2.

¹ International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Pharmaceutical Development Q8(R2). Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf. Accessed: 16.04.2025.

² International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Quality Risk Management Q9. Available at: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q9%20Guideline.pdf>. Accessed: 16.04.2025.

Пептидное картирование

Пептидное картирование проводили для подтверждения аминокислотной последовательности. Для проведения пептидного картирования белок подвергали ферментативному гидролизу трипсином (Fluka # 93611, "Trypsin from bovine pancreas", DPC treated), затем проводили анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) с ионизацией электрораспылением, совмещенным с хроматографом ACQUITY Premier UPLC (Waters Corporation, США). Хроматографическое разделение проводили в градиентной системе «вода – ацетонитрил» с добавлением муравьиной кислоты (А: 0,042%-я муравьиная кислота в воде; В: 0,050%-я муравьиная кислота в ацетонитриле) на колонке Waters ACQUITY BEH300 C18, 2,1 × 50 мм, размер частиц 1,7 мкм, со скоростью потока 0,3 мл/мин. Масс-спектры получали в диапазоне масс 100–2000 m/z.

Сравнительный структурно-динамический анализ методом гетероядерной ЯМР-спектроскопии высокого разрешения

Для перевода тирзепатида воспроизведенного препарата GP30931 и Мунджаро® из состава готовой лекарственной формы (ГЛФ) в буфер для проведения измерений методом ЯМР-спектроскопии использовали хроматографическую колонку HiPrep™ 26/10 Desalting (17-5087-01 Cytiva, США), заполненную хроматографическим сорбентом Sephadex® G-25 fine. Хроматографический сорбент был предварительно уравновешен в 20 mM Na/K PO₄, 50 mM NaCl с добавлением 0,1 mM EDTA согласно инструкции производителя. Препараты тирзепатида наносились на сорбент при скорости потока 5 мл/мин. В результате элюции были получены фракции тирзепатида концентрацией 1,3–1,5 мМ, помещенные затем в стандартные 5 мм ЯМР-ампулы в объеме 500 мкл с добавлением 5%-й D₂O.

Гетероядерные ЯМР-спектры тирзепатида для очищенных от низкомолекулярных примесей ГЛФ препаратов дженерика тирзепатида GP30931 и референтного лекарственного средства Мунджаро® были накоплены при 298 К на спектрометре AVANCE 700 MHz (Bruker, Германия), оснащенном гелиевым криодатчиком: одномерные ¹H-спектры в течение 30 мин, ¹H/¹H-NOESY (с временем смешивания 100 мс) – 4 ч, ¹H/¹H-TOCSY (с временем смешивания 80 мс) – 3 ч, ¹H/¹³C-HSQC-alif (алифатика) – 4 ч, ¹H/¹³C-HSQC-aro (ароматика) – 3 ч, ¹H/¹⁵N-HSQC – 3 ч.

Пространственная модель молекулы тирзепатида получена на основе крио-ЭМ структуры белка тирзепатида в комплексе с рецептором (PDB ID: 7RGP) [14] и структурно-динамических данных ЯМР с использованием PyMOL (2.5.0 Open-Source Build) и программного обеспечения OpenBabel.

Таблица 1. Ранжирование рисков

Table 1. Tier ranking

| Параметр молекулы Molecule Parameter | Атрибут Attribute | Метод Method | Tier | Статистика Statistics |
|---|--|--|------|--------------------------|
| Первичная структура Primary structure | Масса нативного белка Native protein mass | ВЭЖХ-МС HPLC-MS | 3 | – |
| | Аминокислотная последовательность Amino acid sequence | ВЭЖХ-МС, 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H TOCSY HPLC-MS, peptide mapping, 2D ¹ H- ¹ H NMR TOCSY | 3 | – |
| | Пептидное картирование Peptide mapping | ВЭЖХ-МС HPLC-MS | 3 | – |
| | Изомеризация аминокислот (замена L ↔ D, цис-/транс-) Amino acid isomerization (L-to-D conversion and cis/trans isomerization) | 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H TOCSY 2D ¹ H- ¹ H NMR TOCSY | 3 | – |
| Вторичная структура, структуры высшего порядка и агрегация Secondary structure, higher-order structures, and aggregation | Вторичная структура Secondary structure | Круговой дихроизм Circular Dichroism | 1 | mean ± 2SD range |
| | Квантовый выход флуоресценции Fluorescence quantum yield | Спектрофотометрия Spectrophotometry | 1 | mean ± 2SD range |
| | Пик распределения частиц Particle size peak | DLS Dynamic Light Scattering | 1 | mean ± 2SD range |
| | Вторичная и третичная структура Secondary structure and tertiary structure | 1D-ЯМР- ¹ H 1D ¹ H-NMR | 3 | – |
| | | 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H NOESY 2D ¹ H- ¹ H NMR NOESY | 3 | – |
| | | 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H TOCSY 2D ¹ H- ¹ H NMR TOCSY | 3 | – |
| 2D-ЯМР ¹³ C-HSQC 2D ¹³ C-HSQC NMR | | 3 | – | |
| 2D-ЯМР ¹⁵ N-HSQC (HN, H ₂ N) 2D ¹⁵ N-HSQC NMR (HN, H ₂ N) | 3 | – | | |
| Родственные примеси Related impurities | Содержание ВМБ HMW content | Эксклюзионная хроматография SEC | 1 | mean ± 2SD range |
| | G27-IM129 | ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | 1 | mean ± 2SD range |
| | G27-IM127 | ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | 1 | mean ± 2SD range |
| | G27-IM027 | ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | 1 | mean ± 2SD range |
| | Максимальная единичная примесь Maximum single impurity | ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | 1 | mean ± 2SD range |
| | Сумма примесей Total impurities | ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | 1 | mean ± 2SD range |
| Биологическая активность Biological activity | Активация кальциевых токов через GLP-1 Activation of GLP-1-mediated calcium currents | Клеточный тест Cell assay | 1 | mean ± 2SD range |
| | Активация кальциевых токов через GIP Activation of GIP-mediated calcium currents | Клеточный тест Cell assay | 1 | mean ± 2SD range |

Анализ вторичной структуры методом кругового дихроизма

Измерение спектров кругового дихроизма было проведено на спектрометре Chirascan™ (Applied Photophysics Ltd., Великобритания) в диапазоне длин волн 180–260 нм с шагом 1 нм и шириной полосы пропускания 1 нм. Непосредственно перед экспериментом образцы были переведены в 10 мМ фосфатный буфер с pH 8,0 при помощи гель-фильтрации на Bio-Gel P4 (Bio-Rad, США). Концентрация оценивалась спектрофотометрически по поглощению на длине волны 280 нм и была в диапазоне 0,1–0,2 мг/мл для всех проб. Для измерения была использована кварцевая кювета с длиной оптического пути 0,1 мм (Hellma Analytics, Германия). В общей сложности было изучено по 3 образца для каждой из трех различных серий препаратов GP30931 и Мунджаро®, спектры каждого образца измерены в пяти технических повторах. После съемки были выполнены усреднение спектров по 5 повторам, вычитание фонового спектра и конвертация в единицы молярного кругового дихроизма ($\Delta\epsilon$) в расчете на одну пептидную связь. Обработанные спектры были проанализированы при помощи алгоритма BeStSel [15, 16] для определения долей элементов вторичной структуры.

Анализ третичной структуры методом флуоресцентной спектрофотометрии

Для анализа третичной структуры определяли квантовый выход флуоресценции. Измерения проводили на спектрофлуориметре RF-5301 (Shimadzu, Япония) и спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония) при ширине спектра 250–300 нм. Так как в исследуемом препарате присутствуют аминокислотные остатки тирозина и триптофана, в качестве стандартных растворов сравнения были выбраны растворы тирозина и триптофана, спектры поглощения и флуоресценции которых практически совпадает со спектрами исследуемого вещества.

Анализ четвертичной структуры методом динамического рассеяния света (DLS)

Эксперимент был проведен на приборе Zetasizer Nano (Malvern Panalytical Ltd., Великобритания). Интенсивность обратного рассеянного света от образца в кювете регистрировалась под углом 175° относительно первичного лазера, все эксперименты проводились при температуре 25 °С. Полученные автокорреляционные функции интенсивности проанализированы с использованием мультимодальной модели анализа, в основе которой лежит аппроксимация методом наименьших квадратов. В результате были получены распределения интенсивности рассеянного света в зависимости от размеров частиц. По полученному распределению интенсивности был рассчитан средний гидродинамический диаметр частиц.

Определение примесей

В соответствии с руководством FDA исследование примесей является критически важным для демонстрации фармацевтической эквивалентности синтетического пептида по отношению к оригинальному препарату [11]. Аналитическая характеристика профиля примесей необходима для подтверждения сопоставимости безопасности, эффективности и качества, особенно в условиях, когда даже следовые количества структурно близких или неидентифицированных компонентов могут влиять на клинические свойства препарата.

Для исследования высокомолекулярных белков (ВМБ) был применен метод эксклюзионной хроматографии (SEC). Разделение проводили на колонке AdvanceBio SEC, 7,8 × 300 мм, размер частиц 2,7 мкм (Agilent Technologies, США, кат. № PL1180-5301), с защитной предколонкой AdvanceBio SEC, 7,8 × 50 мм, размер частиц 2,7 мкм (Agilent Technologies, США кат. № PL1180-1301), при температуре 30 °С со скоростью потока 0,7 мл/мин в течение 30 мин. Для идентификации G27-IM129, G27-IM127, G27-IM027 и других родственных примесей был выбран метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ). Разделение проводили с помощью колонки AdvanceBio Peptide Mapping, 4,6 × 150 мм, размер частиц 2,7 мкм (Agilent Technologies, США), при температуре 50 °С со скоростью потока 0,6 мл/мин в течение 70 мин. УФ-детектирование для определения примесей проводили на жидкостном хроматографе LC-30 Nexera (Shimadzu, Япония), спектры регистрировали при длине волны 215 нм.

Биологическая активность in vitro

В методиках оценки специфической биологической активности препаратов тирзепатида в тесте «Кальциевые токи» по активации рецептора GLP-1R в качестве тест-системы использовали клеточную линию эпителия эмбриональной почки человека HTS163L (Eurofins Scientific, Люксембург), экспрессирующую рецептор GLP-1R, в тесте «Кальциевые токи» по активации рецептора GIP-R использовали клеточную линию HTS134C (Eurofins Scientific, Люксембург), экспрессирующую рекомбинантный рецептор GIPR на своей поверхности. Клеточную линию HTS163L рассевали в черные 96-луночные планшеты с концентрацией 5000 клеток/луночку в питательной среде Basal Medium (DMEM/F12 + NEAA + 10 % FBS). Клеточную линию HTS134C рассевали с концентрацией 25 000 клеток/луночку в питательной среде Basal Medium (DMEM + 10 % FBS + NEAA + HEPES). Планшеты инкубировали при 37 °С и 5 % CO₂ 24 ± 4 ч. На следующий день среду меняли на буфер, в основе которого раствор Хенкса, содержащий 20 мМ ХЕПЕС, 2,5 мкМ пробенецид, 2 мкМ флуоресцентного красителя Fluo-8 AM (для HTS163L) или 5 мкМ флуоресцентного красителя Fluo-8 AM (для HTS134C). Планшеты инкубировали в течение

30 мин (HTS163L) или 60 мин (HTS134C) при комнатной температуре, защищая от света. Разведения исследуемых образцов готовили в буфере, содержащем раствор Хенкса, 20 мМ ХЕПЕС, 2,5 мкМ пробенецид, и вносили в лунки планшета в виде 3-кратных сток. Для клеточной линии HTS163L концентрации образцов в лунках составили: 500, 1000, 2000, 4000, 10 000, 15 000, 22 500, 60 000, 500 000, 2 000 000 пМ. Для HTS134C концентрации образцов в лунках составили: 1000, 2000, 4000, 8000, 16 000, 32 000, 64 000, 128 000, 500 000, 2 000 000 пМ. Сразу после внесения проводилось снятие флуоресценцентного сигнала на мультимодальном микропланшетном ридере CLARIOstar® (BMG LABTECH, Германия) при длине волны 480, излучении 520 нм, 100 вспышках на лунку, усилении сигнала 2000. Результаты обсчитывали в программе MARS, используя метод параллельных кривых. F-test: Global fit used – 4-параметрическая кривая (4PL), CI 95 %.

Статистическая обработка данных

Как указано выше, при помощи метода ранжирования рисков для каждого из исследуемых показателей были определены допустимые диапазоны отклонений исследуемого препарата от референтного.

TIER 1 – Включает в себя качественные признаки, определяемые как имеющие наибольший потенциальный клинический эффект. Диапазон: среднее значение референтного препарата $\pm 2SD$.

TIER 2 – Менее критичные атрибуты качества. Диапазоны: среднее значение $\pm 3SD$.

TIER 3 – Атрибуты соответствуют либо показателям с наименьшим риском потенциального клинического воздействия, либо тем признакам, которые важны, но не поддаются количественной оценке.

Для результатов биологических тестов дополнительно были построены кривые «доза – эффект» в логарифмических координатах и рассчитаны значения EC50 с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc., США). Дополнительно для оценки эквивалентности биологической активности (БА%) использован метод двух односторонних тестов (TOST, Two One-Sided Tests). Статистический анализ проведен в среде Python (версия 3.11.8) с использованием библиотеки statsmodels (версия 0.13.5).

Визуализация графиков TOST выполнена с помощью библиотеки matplotlib (версия 3.6.3). Анализ выполнялся на логарифмированных данных с использованием 90 % доверительных интервалов и границ эквивалентности 0,80–1,25 (в логарифмической шкале: от $-0,2231$ до $+0,2231$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сводные результаты по всем проведенным физико-химическим исследованиям представлены в таблице 2.

Молекулярная масса и первичная структура

С помощью метода ВЭЖХ-МС были получены спектры для нативного белка. Во всех исследуемых образцах Седжаро® (GP30931) и референтного препарата присутствовали идентичные сигналы, соответствующие ожидаемым расчетным молекулярным массам нативного белка тирзепатида (таблица 2). Далее были получены спектры фрагментации белка (ВЭЖХ-МС) и было показано, что его аминокислотная последовательность полностью соответствует заявленной для всех образцов (рисунок 2).

Первичная структура также была подтверждена методом пептидного картирования. При протеолизе в невосстанавливающих условиях происходило образование семи ожидаемых пептидов (таблица 3). Кроме ожидаемых пептидов, детектировались и фрагменты автолиза трипсина (обозначены в таблице как TR), а определенная часть белка оставалась интактной (таблица 3).

Полученные пептидные карты для образцов Седжаро® (GP30931) были идентичны образцам препарата Мунджаро®, о чем свидетельствует сравнение хроматограмм после протеолиза тирзепатида (рисунок 3).

На основании полученного одинакового профиля пептидных фрагментов и данных по молекулярной массе и аминокислотной последовательности тирзепатида Седжаро® (GP300931) и Мунджаро® можно сделать вывод об идентичности их первичной структуры.

Структуры высокого порядка

Для проведения сравнения полипептиды всех партий препаратов были переведены в одинаковый буфер для исключения влияния pH и возможного влияния компонентов ГЛФ на структуру белков [12]. Для всех шести партий были получены одномерные 1H -спектры (рисунок 4, А), двумерные $^1H/^1H$ -NOESY (рисунок 4, Б, В), $^1H/^1H$ -TOCSY (рисунок 4, Г, Д), $^1H/^15N$ -HSQC (рисунок 4, Е) и $^1H/^13C$ -HSQC (рисунок 4, Ж).

Для анализа использовались препараты с высокой концентрацией белка (более 1 мМ), что позволило эффективно накопить одномерные 1H -спектры [17], двумерные спектры $^1H/^1H$ -NOESY и $^1H/^1H$ -TOCSY, а также гетероядерные $^1H/^13C$ -HSQC и $^1H/^15N$ -HSQC с использованием естественного содержания изотопов ^{13}C и ^{15}N [18, 19]. (Последний метод получения спектров $^1H/^15N$ -ЯМР эффективен в случае исследования белков с узкими пиками в амидной области от подвижных NH- и NH₂-групп белка.)

Из сравнительного анализа одномерных и двумерных ЯМР-спектров (см. рисунок 4) очищенных от низкомолекулярных соединений состава готовой лекарственной формы препаратов тирзепатида Мунджаро® и Седжаро® (GP30931) следует, что белки из препаратов имеют идентичный аминокислотный состав, пространственную структуру и конформационную подвижность в одинаковых условиях (практически идентичные «спектральные отпечатки» в буфере 20 мМ Na/KPO₄, 50 мМ NaCl, 0,1 мМ ЭДТА).

Таблица 2. Физико-химическая характеристика

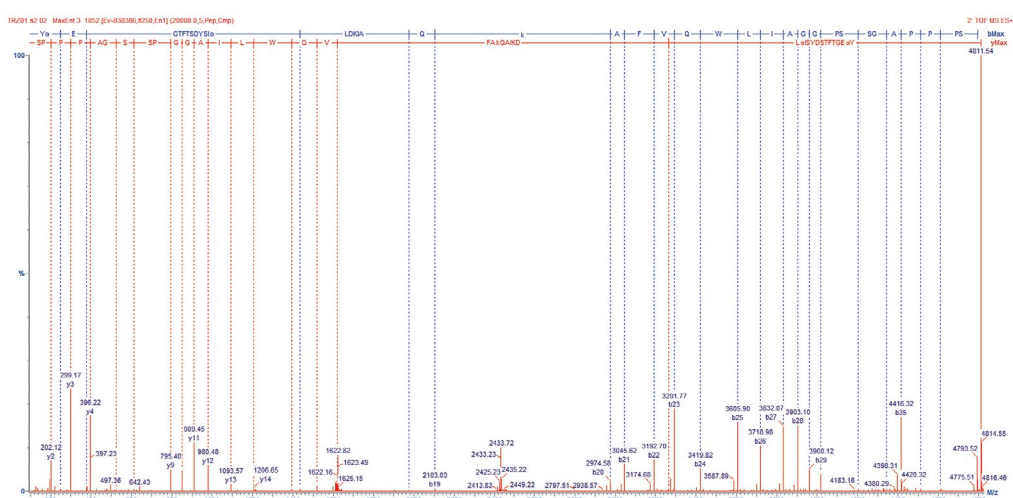
Table 2. Physicochemical characterization

| Метод Method | Атрибут Attribute | GP30931 | Мунджаро® Mounjaro® |
|--|--|--|---------------------------|
| Первичная структура и базовые физико-химические свойства Primary structure and basic physicochemical properties | | | |
| ВЭЖХ-МС HPLC-MS | Масса нативного белка, Да Native protein mass, Da | 4810,52–4810,53 | 4810,52–4810,53 |
| ВЭЖХ-МС, пептидное картирование, 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H TOCSY HPLC-MS, peptide mapping, 2D ¹ H- ¹ H NMR TOCSY | Аминокислотная последовательность Amino acid sequence | Подтверждена Confirmed | Подтверждена Confirmed |
| 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H TOCSY 2D ¹ H- ¹ H NMR TOCSY | Изомеризация аминокислот (замена L ↔ D, цис-/транс-) Amino acid isomerization (L-to-D conversion and cis/trans isomerization) | Отсутствует Absent | – |
| Вторичная структура, структуры высшего порядка и агрегация Secondary structure, higher-order structures, and aggregation | | | |
| Круговой дихроизм Circular Dichroism | α-спираль, % α-helix, % | 17,5–21,6 | 17,7–21,0 |
| | β-слой, % β-sheet, % | 21,9–27,2 | 20,8–24,7 |
| | β-повороты, % β-turns, % | 15,3–16,9 | 15,4–17,1 |
| | Неупорядоченная структура, % Random coil, % | 38,6–41,3 | 39,3–42,2 |
| 1D-ЯМР- ¹ H 1D ¹ H-NMR | Вторичная и третичная структура Secondary structure and tertiary structure | Вторичная и третичная структура дженерика идентична оригинатору The secondary and tertiary structures of the generic are identical to those of the reference product. | – |
| 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H NOESY 2D ¹ H- ¹ H NMR NOESY | | | |
| 2D-ЯМР- ¹ H- ¹ H TOCSY 2D ¹ H- ¹ H NMR TOCSY | | | |
| 2D-ЯМР ¹³ C-HSQC 2D ¹³ C-HSQC NMR | | | |
| 2D-ЯМР ¹⁵ N-HSQC (HN, H ₂ N) 2D ¹⁵ N-HSQC NMR (HN, H ₂ N) | | | |
| Флуоресцентная спектрофотометрия Fluorescence spectrophotometry | Квантовый выход флуоресценции по триптофану Tryptophan fluorescence quantum yield | 0,5–0,5 | 0,4–0,5 |
| Динамическое рассеяние света Dynamic Light Scattering, DLS | Пик распределения частиц, нм Hydrodynamic intensity diameter, nm. | 6,7–9,5 | 6,6–10,2 |
| Родственные примеси Related impurities | | | |
| SEC Size-Exclusion Chromatography | ВМБ, % High Molecular Weight Species, % | 0,11–0,14 | 0,25–0,26 |
| ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | G27-IM129, % | 0,09–0,11 | 0,63–0,64 |
| ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | G27-IM127, % | 0,12–0,14 | 0,59–0,60 |

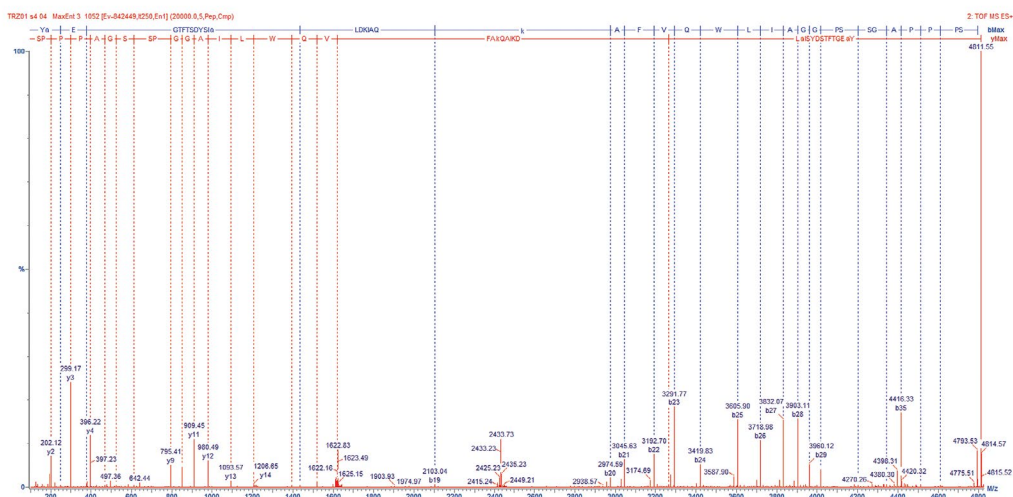
| Метод Method | Атрибут Attribute | GP30931 | Мунджаро® Mounjaro® |
|--------------------|---|-----------|------------------------|
| ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | G27-IM027, % | 0,12–014 | 0,75–0,77 |
| ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | Максимальная единичная примесь, % Maximum single impurity, % | 0,05–0,12 | 0,37–0,46 |
| ОФ-ВЭЖХ RP-HPLC | Сумма примесей, % Total impurities, % | 0,59–0,87 | 3,84–3,93 |

Примечание. Данные представлены как минимальное и максимальное значение, во всех указанных методиках было использовано по 3 серии каждого препарата.

Note. Data are presented as minimum and maximum values. All methods included 3 batches of each drug product.



А



Б

Рисунок 2. Спектры фрагментации для исследуемых образцов. Образцы: А – Мунджаро® (репрезентативная серия); Б – GP30931 (репрезентативная серия)

Figure 2. Fragmentation spectra for analyzed samples. Samples: А – Mounjaro® (representative batch); В – GP30931 (representative batch)

Таблица 3. Перечень пептидных фрагментов, регистрируемых после проведения гидролиза препаратов тирзепатида трипсином

Table 3. List of peptide fragments registered after hydrolysis of tirzepatide preparations with trypsin

| Время удержания, мин Retention time, min | Определяемая масса, Да Measured mass, Da | Теоретическая масса, Да Theoretical mass, Da | Положение Position | Последовательность Sequence |
|---|---|---|-----------------------|--|
| 4,12 | 1205,6388 | 1205,6404 | 26–39 | (W)LIAGGPSSGAPPPS-NH ₂ |
| 4,87 | | | TR | |
| 5,07 | 1125,5558 | 1125,5554 | 7–16 | (F)TSDYSIaLDK(I) |
| 5,13 | 700,3060 | 700,3068 | 1–6 | YaEGTF(T) |
| 5,51 | | | TR | |
| 5,75 | | | TR | |
| 6,27 | | | TR | |
| 6,38 | 1807,8504 | 1807,8516 | 1–16 | YaEGFTSDYSIaLDK(I) |
| 6,53 | | | TR | |
| 11,14 | 4128,2235 | 4128,2286 | 7–39 | (F)TSDYSIaLDKIAQkAFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂ |
| 11,38 | 4810,5219 | 4810,5249 | 1–39 | YaEGFTSDYSIaLDKIAQkAFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂ |
| 11,55 | 3020,6846 | 3020,6838 | 17–39 | (K)IAQkAFVQWLIAGGPSSGAPPPS-NH ₂ |
| 11,76 | 1833,0504 | 1833,0539 | 17–25 | (K)IAQkAFVQW(L) |

Характерное распределение ¹H,¹³C,¹⁵N-резонансов (химических сдвигов) указывает, что в обоих видах препаратов белок тирзепатида имеет в основном α-спиральную конформацию, дополненную высокоподвижным участком, что соответствует пространственной модели белка (рисунок 5). Наблюдаемая сильно варьирующая ширина и расщепление ЯМР-сигналов является, по-видимому, следствием медленного конформационного обмена (в микро-миллисекундном диапазоне) из-за присутствия 4 остатков пролина в высокоподвижном С-концевом участке и цис-транс-изомеризации пептидных связей Xxx-Pro.

Спектроскопия кругового дихроизма (КД) в дальнем УФ-диапазоне является стандартным методом изучения пространственной структуры белков и пептидов, и конформационные изменения в пептидных связях отражаются в соответствующих спектральных изменениях [20]. Соответственно, для изучения сопоставимости вторичных структур препаратов Седжаро® (GP30931) и Мунджаро® были измерены и изучены спектры кругового дихроизма для данных молекул. Существующие подходы к анализу спектров КД и применению данного метода для анализа белковых и пептидных препаратов были исчерпывающе рассмотрены в недавнем обзоре [21].

В данной работе для изучения сопоставимости препаратов Седжаро® (GP30931) и Мунджаро® были применены два подхода. Во-первых, спектры КД были сравнены напрямую путем расчета среднего спектра для референсного препарата (Мунджаро®) и наложения спектров референсного препарата для каждой длины волны. Из рисунка 6 видно, что все спектры препаратов Седжаро® (GP30931) качественно соответствуют спектру для Мунджаро®, что говорит о сопоставимости структур исследуемых препаратов. Важно отметить, что при обработке данных не применялись методы сглаживания.

Во-вторых, спектры КД были подвергнуты так называемой деконволюции для количественной оценки вклада различных элементов вторичной структуры и сравнения полученных значений для препаратов Седжаро® (GP30931) и Мунджаро®. Процентные доли всех элементов вторичной структуры (рисунок 7, А–Г) для исследуемых образцов GP30931 попали в доверительный интервал в 2 стандартных отклонения относительно средних значений для Мунджаро®, за исключением двух измерений для неупорядоченных структур (снижение на 0,08 и 0,48 %) и двух измерений для β-слоев (превышение на 0,26 и 1,46 %). С учетом погрешности методики (до 5 %) и полной сопоставимости вторичной структуры по данным ЯМР можно заключить, что данное отклонение не явля-

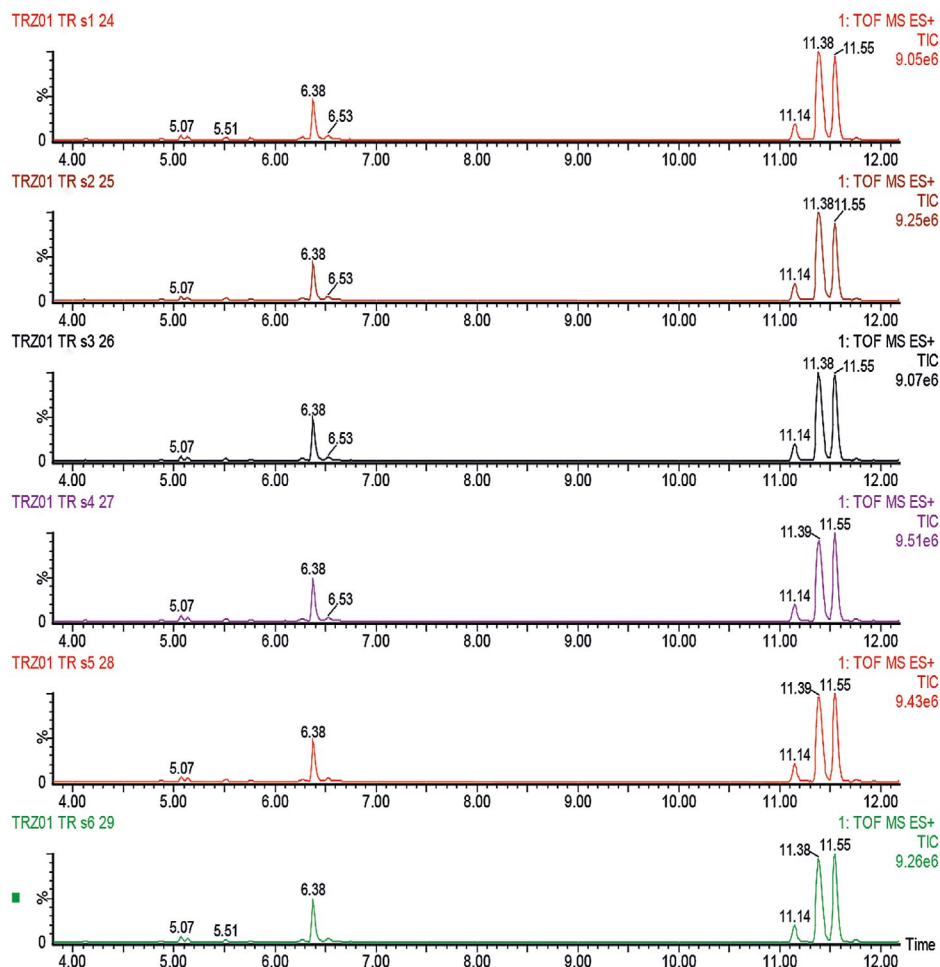


Рисунок 3. Хроматограммы продуктов протеолиза тирзепатида. TRZ01 TR S1-S3 (Мунджаро®), TRZ01 TR S1-S3 (GP30931)

Figure 3. Chromatograms of tirzepatide proteolysis products. TRZ01 TR S1-S3 (Mounjaro®), TRZ01 TR S1-S3 (GP30931)

ется значимым. Таким образом, и прямое количественное сравнение спектров КД, и сравнение определенных долей элементов вторичной структуры указывают на структурную сопоставимость препаратов GP30931 и Мунджаро®.

Собственная флуоресценция белков, обусловленная наличием ароматических аминокислотных остатков (триптофан, тирозин, фенилаланин), крайне чувствительна к конформационным изменениям белка, поэтому определение относительного квантового выхода флуоресценции является важным и информативным параметром характеристики молекул. Обобщенные квантовые выходы по триптофану для исследуемых образцов были сопоставимы между препаратами Мунджаро® и Седжаро® (GP30931), что позволяет сделать вывод о сопоставимости третичной структуры белка исследованных препаратов (рисунок 8, А).

Метод динамического лазерного рассеяния позволяет определить размер частиц и изучить их агрегацию в растворе и уже стал классическим методом анализа фармпрепаратов, что отразилось на его

включении в фармакопею¹. В данной работе с использованием стандартного протокола динамического лазерного рассеяния были получены автокорреляционные функции флуктуации интенсивности рассеянного света по времени для препаратов GP30931 и Мунджаро®. Распределение интенсивности рассеянного света по размеру (гидродинамическому диаметру) частиц показало, что все образцы обоих препаратов имеют основной пик и незначительные минорные фракции. Существенной агрегации не было обнаружено ни в одном образце. Средний гидродинамический диаметр частиц в образцах GP30931 практически не отличается от значения для референсного препарата Мунджаро® (рисунок 8, Б). Полученные данные свидетельствуют о высокой чистоте всех исследованных образцов и отсутствии агрегации белка.

¹ USP 430 Particle Size Analysis by Dynamic Light Scattering. Available at: <https://www.usp.org/harmonization-standards/pdg/general-chapters/particle-size-analysis-by-dynamic-light-scattering>. Accessed: 16.04.2025.

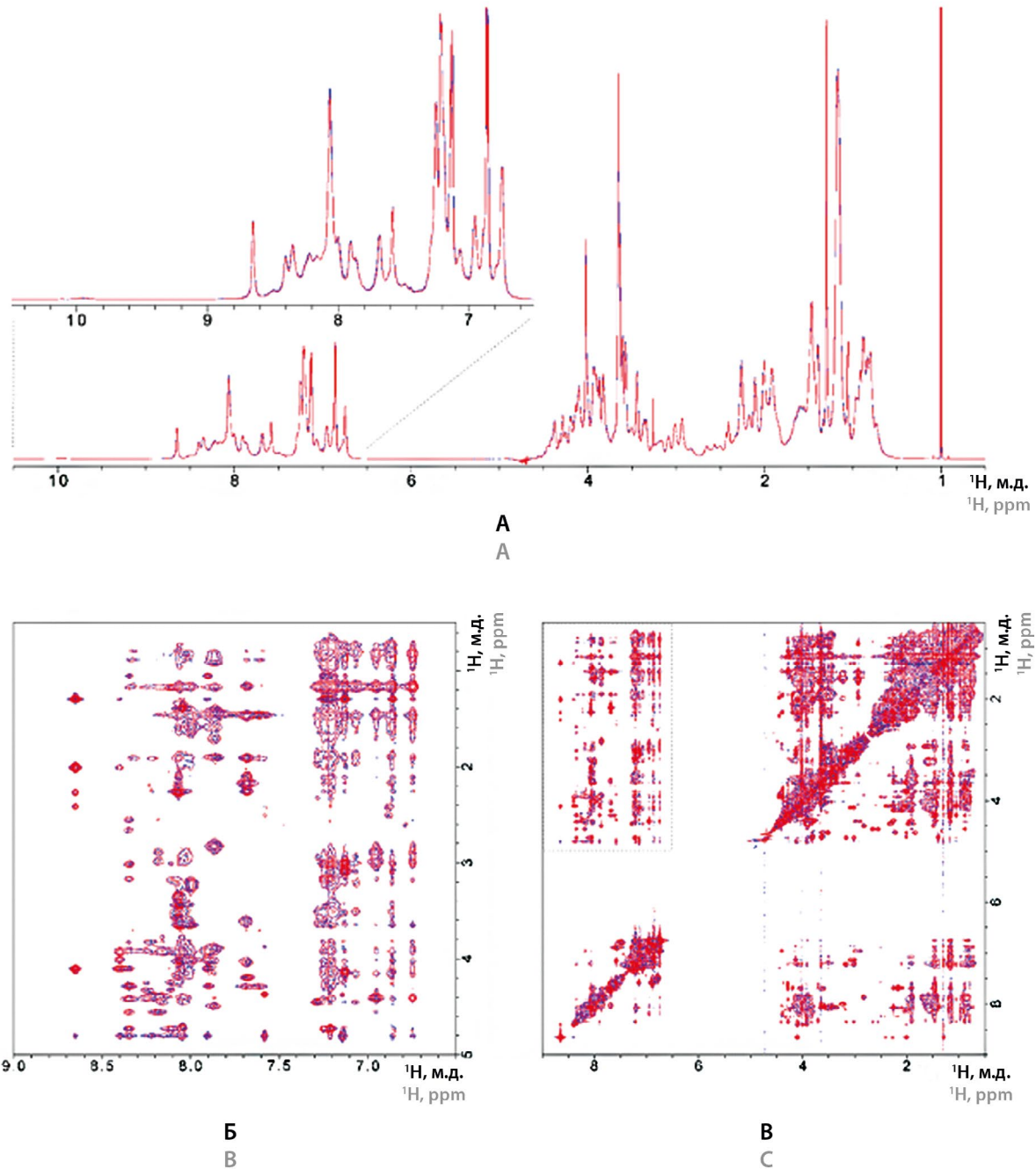
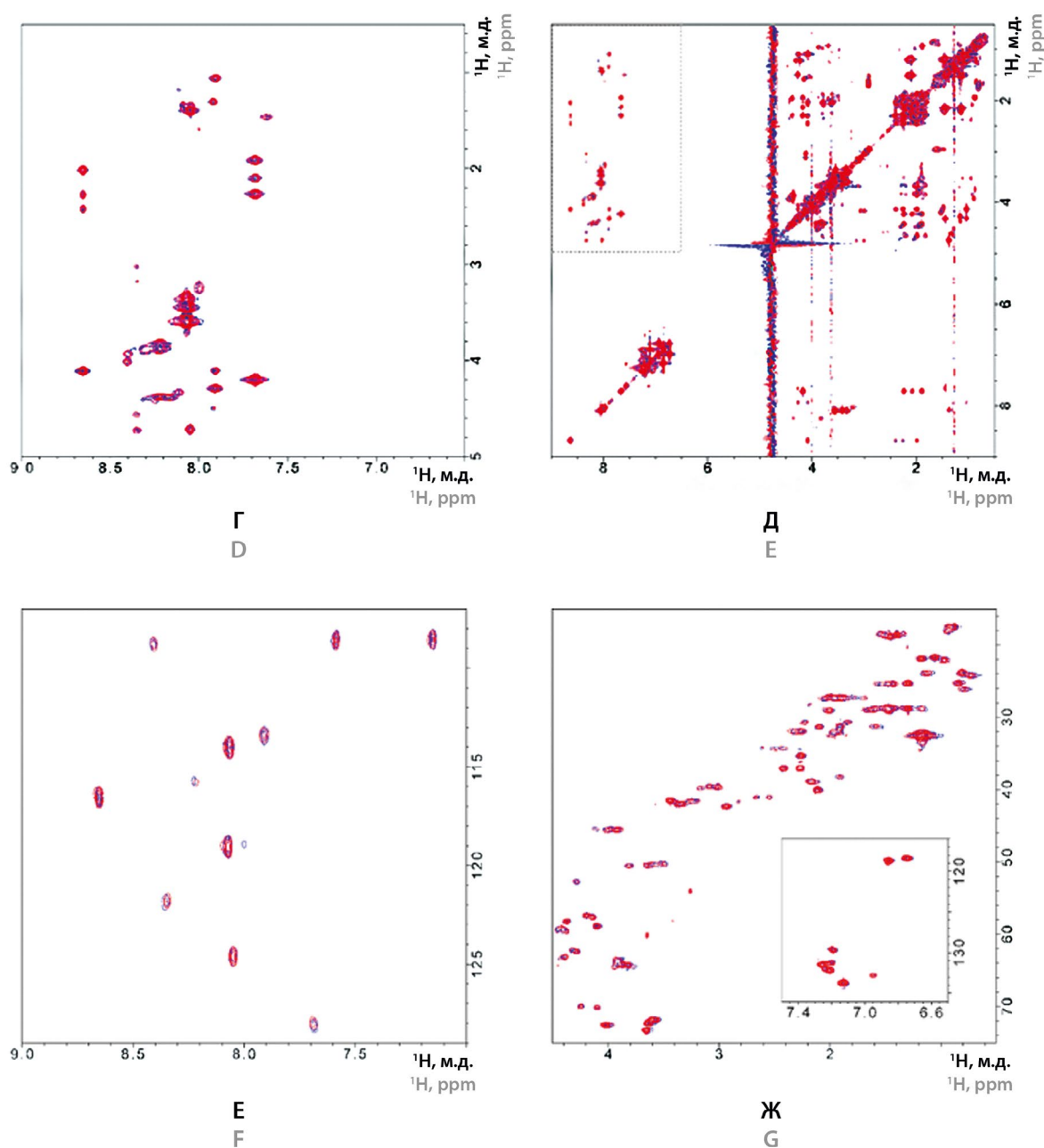


Рисунок 4. Сравнение гетероядерных ЯМР-спектров препаратов (репрезентативные серии) тирзепатида – Мунджаро® (синий цвет) и Седжаро® (GP300931) (красный цвет).

А – наложение одномерных ^1H -ЯМР-спектров препаратов тирзепатида. Увеличенная область спектра с сигналами от NH - и NH_2 -групп основной и боковых цепей белка и CH -групп ароматических колец остатков белка представлена сверху. **Б** и **В** – наложение двумерных ЯМР-спектров $^1\text{H}/^1\text{H}$ -NOESY препаратов тирзепатида. На (**Б**) отдельно расширена область спектра (обведена пунктиром на (**В**)) с кросс-пиками (посредством ЯЭО-взаимодействий (ядерный эффект Оверхаузера) между протонами) от CH -, CH_2 - и CH_3 -групп на NH -, NH_2 - и CH - (ароматика) группы белка.

Figure 4. Comparison of heteronuclear NMR spectra of tirzepatide drug products (representative batches) – Mounjaro® (blue) and Sedzaro® (GP30931) (red).

A – Overlay of 1D ^1H NMR spectra of tirzepatide products. An enlarged spectral region containing signals from NH and NH_2 groups of the protein backbone and side chains, as well as CH groups of aromatic rings of the residues, is shown above. **B** and **C** – Overlay of 2D $^1\text{H}/^1\text{H}$ -NOESY spectra of tirzepatide products. In (**B**), the region highlighted with a dashed line in (**C**) is enlarged, showing cross-peaks arising from NOE (nuclear Overhauser effect) interactions between CH , CH_2 , and CH_3 protons and NH , NH_2 , and CH (aromatic) protons.



Продолжение рисунка 4. Г и Д – наложение двумерных ЯМР-спектров $^1\text{H}/^1\text{H}$ -TOCSY препаратов тирзепатида. На (Г) отдельно расширена область спектра (обведена пунктиром на (Д)) с кросс-пиками (посредством констант спин-спинового взаимодействия между протонами через ковалентные связи) от CH -, CH_2 - и CH_3 -групп на NH -группы белка. Е – наложение двумерных ЯМР-спектров $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ -HSQC препаратов тирзепатида, накопленных на естественном содержании ^{15}N -изотопа (~0,36%). Зарегистрированы только интенсивные кросс-пики от высокоподвижных NH - и NH_2 -групп основной и боковых цепей белка. Ж – наложение двумерных ЯМР-спектров $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HSQC препаратов тирзепатида, накопленных на естественном содержании ^{13}C -изотопа (~1,1%). Зарегистрированы кросс-пики от CH -, CH_2 - и CH_3 -групп основной и боковых цепей белка. В ставке показан отдельно накопленный $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HSQC-спектр для CH -групп ароматических боковых цепей остатков

Continuation of Figure 4. D and E – Overlay of 2D $^1\text{H}/^1\text{H}$ -TOCSY spectra of tirzepatide products. In (D), the region highlighted with a dashed line in (E) is enlarged, showing cross-peaks arising from scalar (through-bond) spin-spin couplings between CH , CH_2 , and CH_3 groups and NH groups. F – Overlay of 2D $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ -HSQC spectra of tirzepatide products, acquired at natural ^{15}N abundance (~0.36%). Only intense cross-peaks from highly mobile NH and NH_2 groups of the backbone and side chains were detected. G – Overlay of 2D $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HSQC spectra of tirzepatide products, acquired at natural ^{13}C abundance (~1.1%). Cross-peaks from CH , CH_2 , and CH_3 groups of the backbone and side chains were detected. The inset shows a separately acquired $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HSQC spectrum of CH groups from aromatic side chains

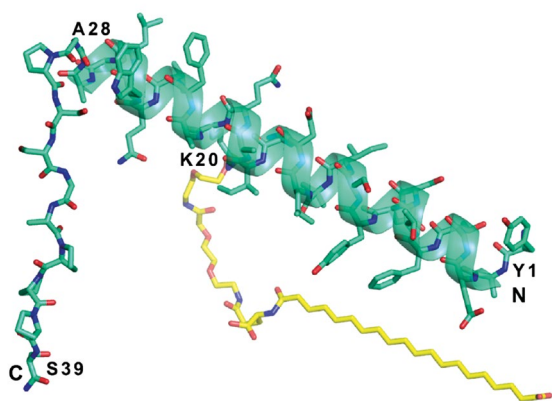


Рисунок 5. Пространственная модель белка тирзепатида, созданная на основе крио-ЭМ- (PDB ID: 7RGP) и собственных ЯМР-данных. Подписаны остатки белка, соответствующие N- и C-концам белка и его α -спирали, а также остаток лизина, конъюгированный через линкер с фрагментом жирной двухкислотной группы 2 (выделены желтым цветом)

Figure 5. Spatial model of the tirzepatide protein constructed based on cryo-EM data (PDB ID: 7RGP) and in-house NMR results. Labeled are the amino acid residues corresponding to the N- and C-termini of the protein, its α -helices, and the lysine residue conjugated via a linker to the fatty diacid fragment 2 (highlighted in yellow)

Примеси

Содержание родственных примесей и высокомолекулярных белков (ВМБ) – это один из важнейших параметров качества лекарственных препаратов. Повышенный уровень примесей потенциально может повлиять на эффективность и безопасность препарата. По результатам анализа было выявлено сниженное содержание всех исследованных примесей в образцах всех серий препарата Седжаро® (GP30931) по сравнению с сериями препарата Мунджаро® (рисунок 9, А–Г). Учитывая, что именно повышение содержания примесей оказывает негативное влияние на профиль безопасности и иммуногенности, незначительно более низкий уровень примесей у воспроизведенного препарата не вызывает опасений и может свидетельствовать о его более высокой степени очистки по сравнению с оригинальным препаратом.

Биологическая характеристика

Метаболическую активность исследуемых образцов оценивали в двух клеточных тестах, отражающих фармакологически релевантные механизмы действия препарата – активацию рецепторов GLP-1 и GIP. Для каждого теста было проведено 3 независимых повтора. Усредненные кривые «доза – эффект» для всех проведенных тестов представлены на рисунках 10, А и 11, А.

Средние значения EC_{50} для препаратов Седжаро® (GP30931) и Мунджаро® в тестах активация кальци-

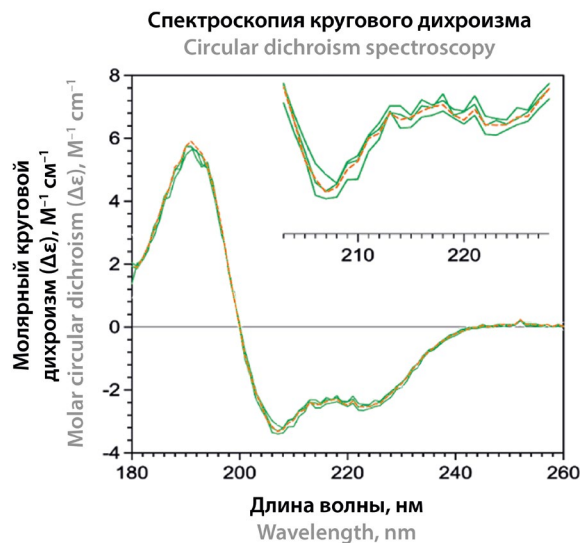


Рисунок 6. Изучение вторичной структуры препаратов GP30931 и Мунджаро® при помощи спектроскопии кругового дихроизма. Приведен усредненный спектр для 9 независимых образцов препарата Мунджаро® (оранжевым пунктиром). Усредненные по 3 независимым образцам спектры для 3 различных серий GP30931 (зеленые линии) полностью повторяют спектр для Мунджаро® по форме и амплитуде. Математические методы сглаживания и нормировки при обработке спектров не применялись. Более крупно показан диапазон с характерными для α -спирали минимумами на длинах волн 207 и 222 нм

Figure 6. Analysis of the secondary structure of GP30931 and Mounjaro® using circular dichroism spectroscopy. The averaged spectrum of 9 independent Mounjaro® samples is shown as an orange dashed line. Averaged spectra of three different GP30931 batches (3 independent samples per batch; green lines) fully match the Mounjaro® spectrum in both shape and amplitude. No mathematical smoothing or normalization was applied during spectral processing. The lower panel shows an enlarged region with characteristic α -helix minima at 207 and 222 nm

евых токов через GIP составили 47,1 нМ и 48,6 нМ соответственно, а в тесте активация кальциевых токов через GLP-1-рецепторы – 35,0 нМ и 35,2 нМ. Все значения EC_{50} для всех протестированных серий GP30931 находились в пределах допустимых значений референтного препарата для всех повторностей (рисунки 10, Б и 11, Б).

При проведении анализа методом TOST по показателю биологической активности (БА, %) воспроизведенный препарат продемонстрировал полную эквивалентность оригинальному препарату по активности как к рецептору GIP (Ratio = 1,042; 90 % CI [0,9992; 1,0868]), так и к рецептору GLP-1 (Ratio = 1,010; 90 % CI [0,9848; 1,0363]). Во всех случаях доверительные интервалы полностью находились в пределах заранее заданных границ эквивалентности (0,80–1,25) (рисунки 10, В и 11, В).

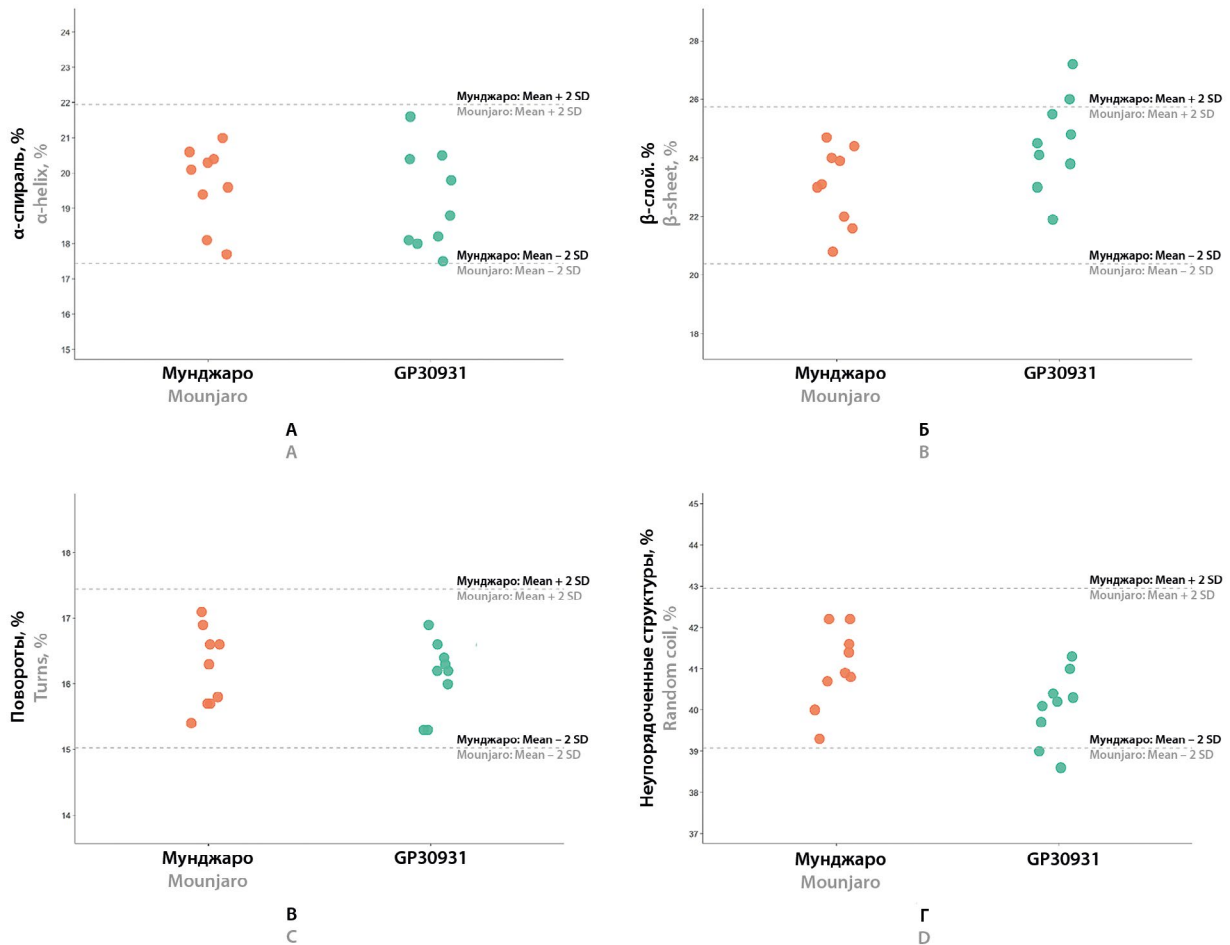


Рисунок 7. Результаты исследования вторичной структуры:

А – α-спираль, %; Б – β-слой, %; В – повороты, %; Г – неупорядоченная структура, %

Figure 7. Results of secondary structure analysis:

A – α-helix, %; B – β-sheet, %; C – turns, %; D – random coil, %

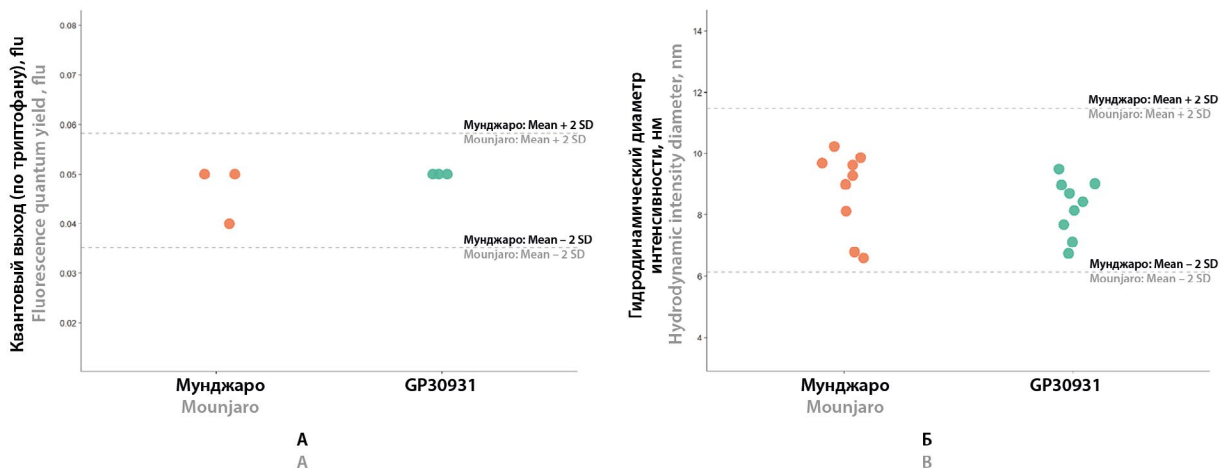


Рисунок 8. Результаты исследования высших структур пептида:

А – квантовый выход по триптофану; Б – динамическое рассеяние света

Figure 8. Results of higher-order structure analysis of the peptide:

A – tryptophan quantum yield; B – dynamic light scattering

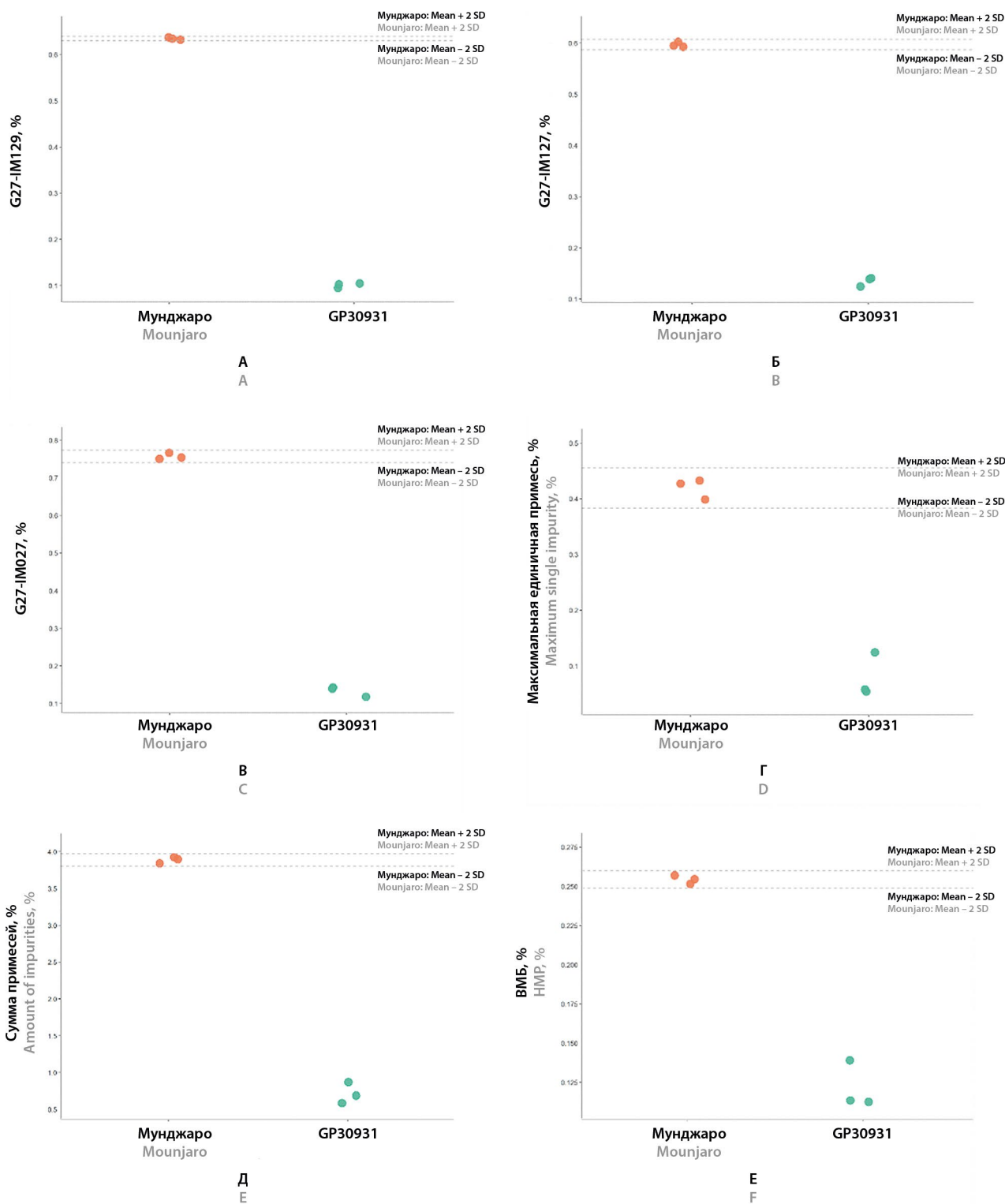


Рисунок 9. Анализ содержания примесей:

A – G27-I 12; Б – G27-I 12; В – G27-I 02; Г – максимальная единичная примесь; Д – сумма примесей; Е – ВМБ

Figure 9. Impurity content analysis:

A – G27-I 12; Б – G27-I 12; С – G27-I 02; D – maximum single impurity; E – total impurities; F – high molecular weight proteins (HMWPs)

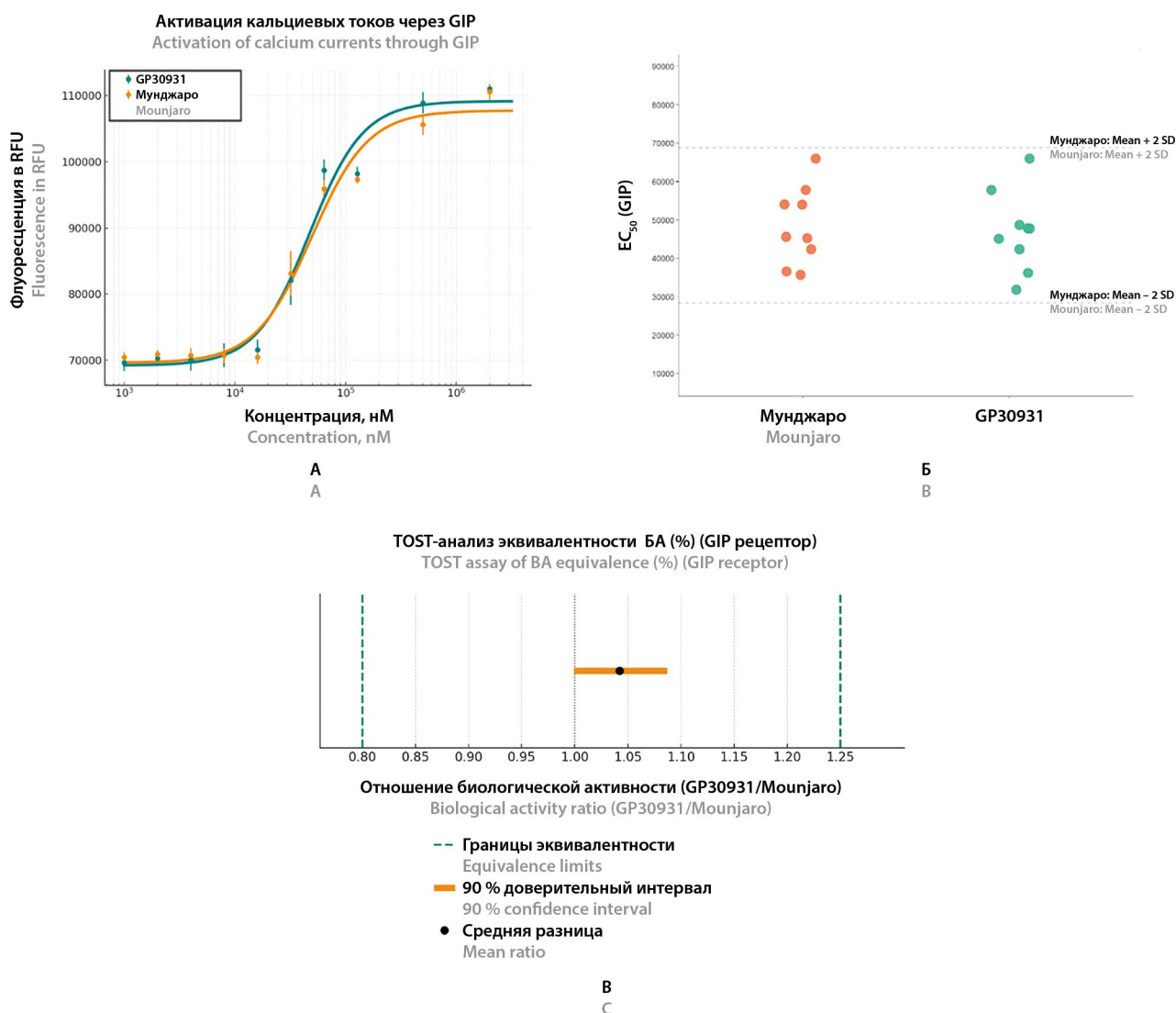


Рисунок 10. Клеточный тест «Активация кальциевых токов через GIP»:

A – усредненные кривые «доза – эффект», Mean ± SEM; **B** – точечное распределение значений EC_{50} ; **B** – TOST

Figure 10. Cell-based assay "calcium flux activation via GIP":

A – averaged dose – response curves, Mean ± SEM; **B** – scatter plot of IC_{50} values; **C** – equivalence analysis (TOST)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено комплексное исследование сопоставимости, направленное на подтверждение высокой степени аналогичности воспроизведенного пептидного препарата Седжаро® (GP30931) и референтного оригинального препарата Мунджаро® с точки зрения физико-химических и функциональных характеристик. Впервые опубликованы исчерпывающие данные по аналитической характеристике как оригинального препарата Мунджаро®, так и его дженерика Седжаро® с использованием наиболее передовых аналитических методов.

Работа включала всестороннюю и детальную оценку критических характеристик пептидной молекулы, включая анализ первичной структуры, струк-

тур более высокого порядка, а также профиль примесей. Дополнительно была проведена оценка функциональных свойств и биологической активности, учитывающая механизм действия тирзепатида как двойного агониста рецепторов GLP-1 и GIP. Исследования включали анализ активации рецепторов на клеточной модели и тесты по регистрации кальциевых потоков, что позволило достоверно подтвердить функциональную эквивалентность препаратов Седжаро® и Мунджаро®.

Для обеспечения высокой точности, надежности и воспроизводимости результатов, а также возможности выявления даже минимальных различий в структурных и функциональных характеристиках пептида в работе было использовано несколько «орто-

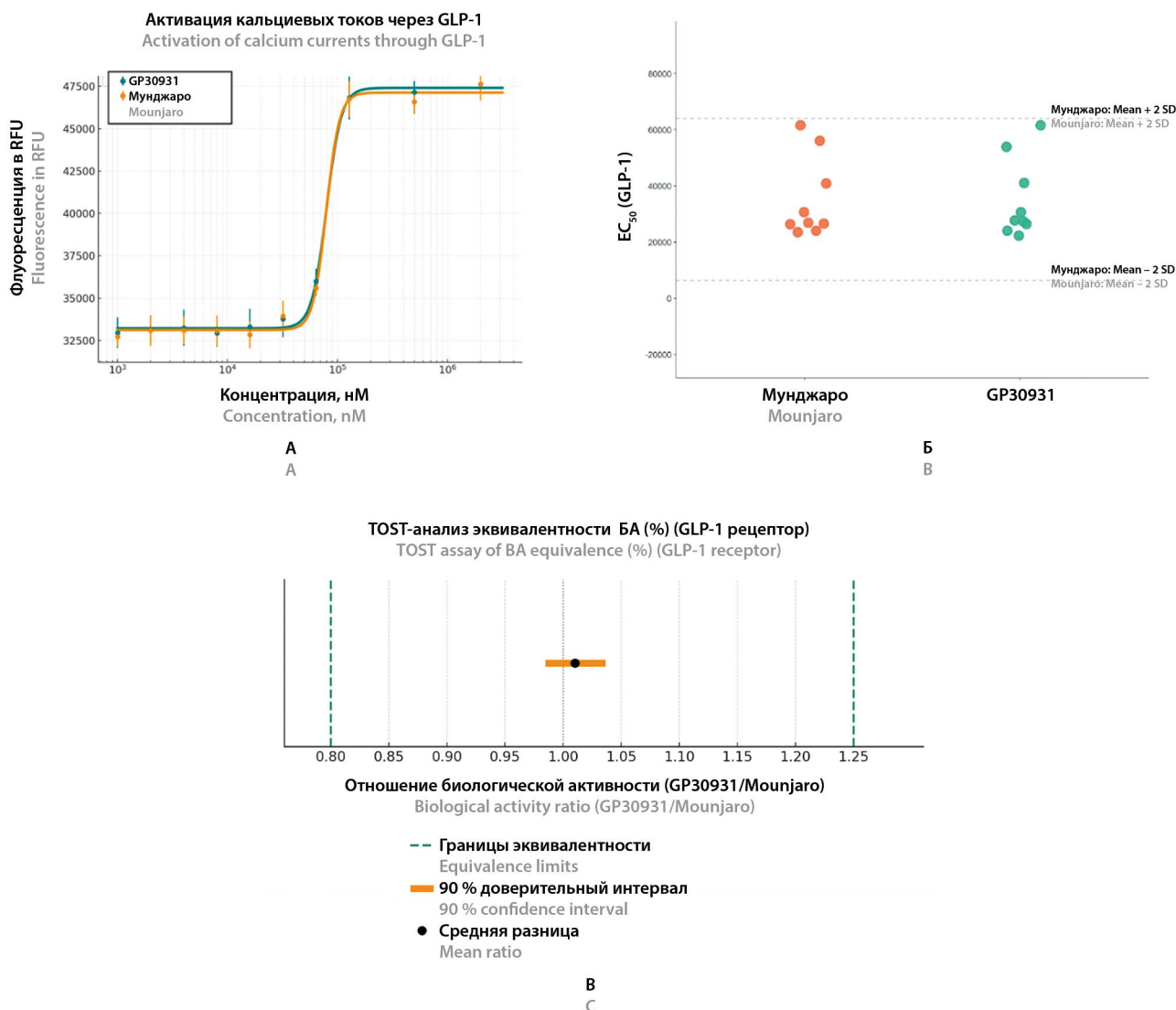


Рисунок 11. Клеточный тест «Активация кальциевых токов через GLP-1»:

А – усредненные кривые «доза – эффект», Mean ± SEM; Б – точечное распределение значений EC_{50} ; В – TOST

Figure 11. Cell-based assay "calcium flux activation via GLP-1":

A – averaged dose–response curves, Mean ± SEM; B – scatter plot of EC_{50} values; C – equivalence analysis (TOST)

гональных» методов анализа (включая ВЭЖХ-МС, круговой дихроизм, ЯМР (1D-ЯМР- 1H , 2D-ЯМР- 1H - 1H NOESY, 2D-ЯМР- 1H - 1H TOCSY, 2D-ЯМР ^{13}C -HSQC, 2D-ЯМР ^{15}N -HSQC), DLS и т. д.). Это позволило объективно оценить степень сопоставимости исследованных препаратов.

По результатам проведенного исследования была продемонстрирована структурная идентичность препаратов Седжаро® (GP30931) и Мунджаро®. Полученные данные вносят значимый вклад в научное обоснование эквивалентности воспроизведенного препарата тирзепатида и референтного оригинального препарата, тем самым обеспечивая надежную основу для дальнейшей регистрации и клинического применения Седжаро® без проведения дополнительных клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hirode G., Wong R.J. Trends in the prevalence of metabolic syndrome in the United States, 2011–2016. *Jama*. 2020;323(24):2526–2528. DOI: 10.1001/jama.2020.4501.
- Wang H. H., Lee D. K., Liu M., Portincasa P., Wang D. Q.-H. Novel insights into the pathogenesis and management of the metabolic syndrome. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*. 2020;23(3):189–230. DOI: 10.5223/pghn.2020.23.3.189.
- Belenkov Yu. N., Privalova E. V., Kaplunova V. Y., Zektsler V. Y., Vinogradova N. N., Ilgisonis I. S., Shakaryants G. A., Kozhevnikova M. V., Lishuta A. S. Metabolic Syndrome: Development of the Issue, Main Diagnostic Criteria. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2018;14(5):757–764. (In Russ.) DOI: 10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764.

4. Schwartz S.S., Epstein S., Corkey B.E., Grant S.F.A., Gavin III J.R., Aguilar R.B. The time is right for a new classification system for diabetes: rationale and implications of the β -cell-centric classification schema. *Diabetes Care*. 2016;39(2):179–186. DOI: 10.2337/dc15-1585.
5. Schwartz S.S., Epstein S., Corkey B.E., Grant S.F.A., Gavin III J.R., Aguilar R.B., Herman M.E. A unified pathophysiological construct of diabetes and its complications. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2017;28(9):645–655. DOI: 10.1016/j.tem.2017.05.005.
6. Tsygankova O.V., Veretyuk V.V., Ametov A.S. Incretins today: multiple effects and therapeutic potential. *Diabetes mellitus*. 2019;22(1):70–78. (In Russ.) DOI: 10.14341/DM9841.
7. DeFronzo R.A. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*. 2009;58(4):773–795. DOI: 10.2337/db09-9028.
8. Kim W., Egan J.M. The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment. *Pharmacological Reviews*. 2008;60(4):470–512. DOI: 10.1124/pr.108.000604.
9. Coskun T., Sloop K.W., Loghin C., Alsina-Fernandez J., Urva S., Bokvist K.B., Cui X., Briere D.A., Cabrera O., Roell W.C., Kuchibhotla U., Moyers J.S., Benson C.T., Gimeno R.E., D'Alessio D.A., Haupt A. LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist for the treatment of type 2 diabetes mellitus: from discovery to clinical proof of concept. *Molecular Metabolism*. 2018;18:3–14. DOI: 10.1016/j.molmet.2018.09.009.
10. Sweta, Gupta S., Bansal S., Devi S., Sharma S., Laxmi, Deepa. Tirzepatide a novel anti diabetic molecule unfold dual action. *Discover Public Health*. 2024;21(1):75. DOI: 10.1186/s12982-024-00200-2.
11. Fernández-Carneado J., Vallès-Miret M., Arrastia-Casado S., Almazán-Moga A., Macías M.J., Martín-Malpartida P., Vilaseca M., Díaz-Lobo M., Vazquez M., Sanahuja R.M., Gambús G., Ponsati B. First generic Teriparatide: structural and biological sameness to its reference medicinal product. *Pharmaceutics*. 2024;16(4):537. DOI: 10.3390/pharmaceutics16040537.
12. Rogers-Crovak J.A., Delaney E.J., Detlefsen D.J. Recommendation for Clarifying FDA Policy in Evaluating "Sameness" of Higher Order Structure for Generic Peptide Therapeutics. *The AAPS Journal*. 2024;27(1):8. DOI: 10.1208/s12248-024-00994-8.
13. Demmon S., Bhargava S., Ciolek D., Halley J., Jaya N., Joubert M.K., Koepf E., Smith P., Trexler-Schmidt M., Tsai P. A cross-industry forum on benchmarking critical quality attribute identification and linkage to process characterization studies. *Biologicals*. 2020;67:9–20. DOI: 10.1016/j.biologicals.2020.06.008.
14. Sun B., Willard F.S., Feng D., Alsina-Fernandez J., Chen Q., Vieth M., Ho J.D., Showalter A.D., Stutsman C., Ding L., Suter T.M., Dunbar J.D., Carpenter J.W., Mohammed F.A., Aihara E., Brown R.A., Bueno A.B., Emmerson P.J., Moyers J.S., Kobilka T.S., Coghlan M.P., Kobilka B.K., Sloop K.W. Structural determinants of dual incretin receptor agonism by tirzepatide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022;119(13):e2116506119. DOI: 10.1073/pnas.2116506119.
15. Micsonai A., Wien F., Kernya L., Lee Y.-H., Goto Y., Réfrégiers M., Kardos J. Accurate secondary structure prediction and fold recognition for circular dichroism spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(24):E3095–E3103. DOI: 10.1073/pnas.1500851112.
16. Micsonai A., Moussong É., Wien F., Boros E., Vadász H., Murvai N., Lee Y.-H., Molnár T., Réfrégiers M., Goto Y., Tantos Á., Kardos J. BeStSel: webserver for secondary structure and fold prediction for protein CD spectroscopy. *Nucleic Acids Research*. 2022;50(W1):W90–W98. DOI: 10.1093/nar/gkac345.
17. Wang D., Park J., Patil S.M., Smith C.J., Leazer Jr. J.L., Keire D.A., Chen K. An NMR-based similarity metric for higher order structure quality assessment among U.S. marketed insulin therapeutics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;109(4):1519–1528. DOI: 10.1016/j.xphs.2020.01.002.
18. Arbogast L.W., Brinson R.G., Marino J.P. Application of natural isotopic abundance ^1H - ^{13}C - and ^1H - ^{15}N -correlated two-dimensional NMR for evaluation of the structure of protein therapeutics. In: *Methods in enzymology*. New York: Academic Press; 2016. Volume 566. P. 3–34. DOI: 10.1016/bs.mie.2015.09.037.
19. Levy G.C., Godwin A.D., Hewitt J.M., Sutcliffe C. Natural abundance ^{15}N and ^{13}C spectroscopy. Aminobenzoic acids, substituted anilines, and related compounds. *Journal of Magnetic Resonance*. 1978;29(3):553–562. DOI: 10.1016/0022-2364(78)90013-6.
20. Kelly S.M., Jess T.J., Price N.C. How to study proteins by circular dichroism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*. 2005;1751(2):119–139. DOI: 10.1016/j.bbapap.2005.06.005.
21. Jones C. Circular dichroism of biopharmaceutical proteins in a quality-regulated environment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2022;219:114945. DOI: 10.1016/j.jpba.2022.114945.



Сравнение свойств гранулированной лактозы, полученной различными методами влажной грануляции без использования связующих веществ

А. Е. Балдаев✉, В. В. Вайтман, Я. Г. Шопина, С. А. Кедик, А. В. Панов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (ПТУ МИРЭА). 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 78

✉ Контактное лицо: Балдаев Александр Евгеньевич. E-mail: baldaev.alexander@gmail.com

ORCID: А. Е. Балдаев – <https://orcid.org/0009-0000-6277-1730>;

В. В. Вайтман – <https://orcid.org/0009-0007-9584-2217>;

Я. Г. Шопина – <https://orcid.org/0009-0004-2457-7020>;

С. А. Кедик – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>;

А. В. Панов – <https://orcid.org/0000-0002-1603-143X>.

Статья поступила: 19.03.2024

Статья принята в печать: 20.03.2025

Статья опубликована: 21.03.2025

Резюме

Введение. Прямое прессование – один из самых предпочтительных методов производства таблетированных лекарственных форм с точки зрения эффективности, так как он позволяет максимально сократить технологическую схему до уровня «смешивание – таблетирование – фасовка и упаковка». Однако для применения этого метода требуются вспомогательные вещества, которые обладают соответствующей сыпучестью и прессуемостью. Одним из широко используемых представителей подобных вспомогательных веществ является гранулированная лактоза. В рамках данной работы были произведены образцы чистой гранулированной лактозы методом грануляции в псевдооживленном слое и грануляцией с высоким усилием сдвига с целью сравнения фармацевтико-технологических свойств продукта, полученного по разным технологиям, и модельных таблеток.

Цель. Выбор предпочтительного способа получения гранулированной лактозы методом влажной грануляции без использования связующих веществ.

Материалы и методы. Лактоза 80 меш (Ningbo Samreal Chemical Co., Ltd., Китай и Aurora Industry Co. Ltd., Китай), лактоза 200 меш (DMV-Fonterra Excipients GmbH & Co. KG, Германия) использованы в качестве исходного сырья. Установка псевдооживленного слоя Hüttlin использована для грануляции и для сушки гранулята. Грануляция с высоким усилием сдвига выполнена в миксере-грануляторе Evio G10H (ООО «ФармТехнолоджис», Россия). Таблетирование проведено на роторном таблеточном прессе. Вибросита, тестер насыпной плотности и тестер сыпучести использовались для анализа порошков, тестер прочности и распадаемости – для анализа таблеток.

Результаты и обсуждение. Были испытаны три подхода к получению лактозы для прямого прессования: 1) грануляция лактозы в псевдооживленном слое; 2) модификация поверхности лактозы 80 меш распылением раствора лактозы в псевдооживленном слое; 3) грануляция лактозы с использованием усилия сдвига. Первым критерием приемлемости для оценки полученных образцов была выбрана сыпучесть. При достижении необходимой сыпучести переходили к таблетированию модельной смеси. Полученные результаты демонстрируют, что наилучший продукт получается с помощью грануляции с высоким усилием сдвига.

Заключение. Проведено сравнение различных способов получения гранулированной лактозы. По результатам сравнения выбрана технология грануляции с усилием сдвига. Свойства полученного гранулята и модельных таблеток соответствуют установленным критериям приемлемости.

Ключевые слова: лактоза, прямое прессование, влажная грануляция, псевдооживленный слой, вспомогательное вещество

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

Вклад авторов. А. Е. Балдаев – разработка дизайна исследования, написание статьи. В. В. Вайтман – статистическая обработка данных, ведение технологического процесса. Я. Г. Шопина – сбор данных, проведение фармацевтико-технологических испытаний. С. А. Кедик – научное руководство и консультирование. А. В. Панов – рецензирование и редактирование статьи.

Для цитирования: Балдаев А. Е., Вайтман В. В., Шопина Я. Г., Кедик С. А., Панов А. В. Сравнение свойств гранулированной лактозы, полученной различными методами влажной грануляции без использования связующих веществ. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(2):75–86. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1784>

Comparison of granulated lactose properties produced by various wet granulation methods without the use of binders

Aleksandr E. Baldaev✉, Vladislav V. Vaitman, Yana G. Shopina, Stanislav A. Kedik, Alexey V. Panov

MIREA – Russian Technological University. 78, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia

✉ **Corresponding author:** Aleksandr E. Baldaev. **E-mail:** baldaev.alexander@gmail.com

ORCID: Aleksandr E. Baldaev – <https://orcid.org/0009-0000-6277-1730>;

Vladislav V. Vaitman – <https://orcid.org/0009-0007-9584-2217>;

Yana G. Shopina – <https://orcid.org/0009-0004-2457-7020>;

Stanislav A. Kedik – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>;

Alexey V. Panov – <https://orcid.org/0000-0002-1603-143X>.

Received: 19.03.2024

Accepted: 20.03.2025

Published: 21.03.2025

Abstract

Introduction. Direct compression is one of the most preferred methods for the production of tablet dosage forms in terms of efficiency, since it allows you to minimize the technological process down to the level of "mixing-tableting-filling and packaging". However, this method requires excipients that have appropriate flowability and compressibility. One of the widely used examples of such excipients is granulated lactose. In this work, samples of pure granulated lactose were produced by fluid bed granulation and high shear granulation in order to compare the technological properties of the product obtained using different technologies.

Aim. Selecting the preferred method for producing granulated lactose using the wet granulation method without the use of binders.

Materials and methods. Lactose 80 mesh (Ningbo Samreal Chemical Co., Ltd., China and Aurora Industry Co. Ltd., China), lactose 200 mesh (DMV-Fonterra Excipients GmbH & Co KG, Germany) were used as raw materials. A Hüttlin fluid bed was used for granulation and for drying. High-shear granulation was performed in high-shear mixer-granulator Evio G10H (LLC "PharmTechnologies", Russia). Tableting was carried out on a rotary tablet press. Vibrating sieves, bulk density tester and flowability tester were used for the analysis of powders, and strength and disintegration testers were used for the analysis of tablets.

Results and discussion. Three approaches to obtain lactose for direct compression were tested: 1) lactose granulation in a fluidized bed; 2) modifying the surface of lactose 80 mesh particles by spraying lactose solution in a fluidized bed; 3) lactose high-shear granulation. Flowability was chosen as the first acceptance criterion for evaluating the obtained samples. When the required flowability was achieved, we proceeded to tableting the model mixture. The results obtained demonstrate that the best product is obtained by high-shear granulation.

Conclusion. A comparison was made of different methods for producing granulated lactose. Based on the comparison results, shear granulation technology was selected. The properties of the resulting granulate and model tablets meet the established acceptance criteria.

Keywords: lactose, direct compression, wet granulation, fluid bed, excipients

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. Aleksandr E. Baldaev – development of the study design, writing the article. Vladislav V. Vaitman – statistical analysis, technological process management. Yana G. Shopina – data collection, sample testing. Stanislav A. Kedik – scientific guidance and consulting. Alexey V. Panov – reviewing and editing the article.

For citation: Baldaev A. E., Vaitman V. V., Shopina Ya. G., Kedik S. A., Panov A. V. Comparison of granulated lactose properties produced by various wet granulation methods without the use of binders. *Drug development & registration.* 2025;14(2):75–86. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1784>

ВВЕДЕНИЕ

Технология прямого прессования представляет собой способ получения таблеток, который не требует стадии грануляции исходных компонентов смеси. Основное преимущество этой технологии заключается в экономичности рутинного процесса производства таблеток, так как в этом случае задействовано наименьшее количество единиц оборудования: только смеситель и таблеточный пресс. Однако возможность использования метода прямого прессования ограничена фармацевтико-технологическими свойствами исходного сырья [1]. Необходимо добавление функциональных вспомогательных веществ, которые могут компенсировать недостаточную сыпучесть или прессуемость субстанции и обеспечить стабильный процесс прессования [2]. На эти свойства порошков прямое влияние оказывает размер и природа частиц: как правило, крупные частицы обладают высокой сыпучестью и низкой прессуемостью; мелкие частицы – наоборот – за счет высокой площади поверхности и силы Ван-дер-Ваальса [3].

На рынке вспомогательных веществ представлены различные решения для использования в прямом прессовании. Например, сухие связующие вещества, которые увеличивают прессуемость смеси, обладая при этом достаточной сыпучестью при использовании в небольших количествах [4]. Существуют также скользящие вещества, которые могут улучшить сыпучесть смеси, но их использование ограничено из-за негативного влияния на другие свойства массы для таблетирования [5]. Наибольший интерес представляют функциональные наполнители, которые сочетают в себе превосходные свойства сыпучести и прессуемости. Одним из таких наполнителей является лактозы моногидрат [6].

Лактоза производится из молочной сыворотки путем кристаллизации. Существуют два стабильных стереических изомера лактозы: α -лактозы моногидрат и β -лактоза безводная. Частицы лактозы, получаемой при кристаллизации, представляют собой достаточно прочные клиновидные кристаллы [7]. Крупный размер частиц лактозы, который получается в результате стандартного промышленного процесса кристаллизации, не может обеспечить достаточной прочности таблетки, а высокая прочность кристаллов ограничивает хрупкую деформацию частиц [8]. В связи с этим для обеспечения необходимой прочности таблетки лактоза должна быть измельченной. Но измельченная лактоза не обладает достаточной сыпучестью для использования в прямом прессовании [9].

Один из способов производства функционального наполнителя из лактозы моногидрата – получение гранулята, содержащего в себе достаточное количество мелкой фракции для обеспечения прессуемости при таблетировании и обладающего достаточной сыпучестью за счет агломерации мелких

частиц в гранулы, которые обладают хрупкой деформацией [10]. Так как лактоза хорошо растворима в воде, процесс грануляции возможно провести без использования связующих веществ [11].

Существуют коммерчески доступные варианты гранулированной лактозы, производимой в Европе. На территории России было запущено производство лактозы моногидрата фармакопейного качества, однако по описанным выше причинам фракционный состав лактозы требует доработки для возможности ее использования в технологии прямого прессования таблеток. В связи с этим актуальна тема разработки технологии получения гранулированной лактозы, которую можно будет использовать в качестве функционального наполнителя для производства таблетированных лекарственных форм.

Цель исследования: выбор предпочтительного способа получения гранулированной лактозы методом влажной грануляции без использования связующих веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

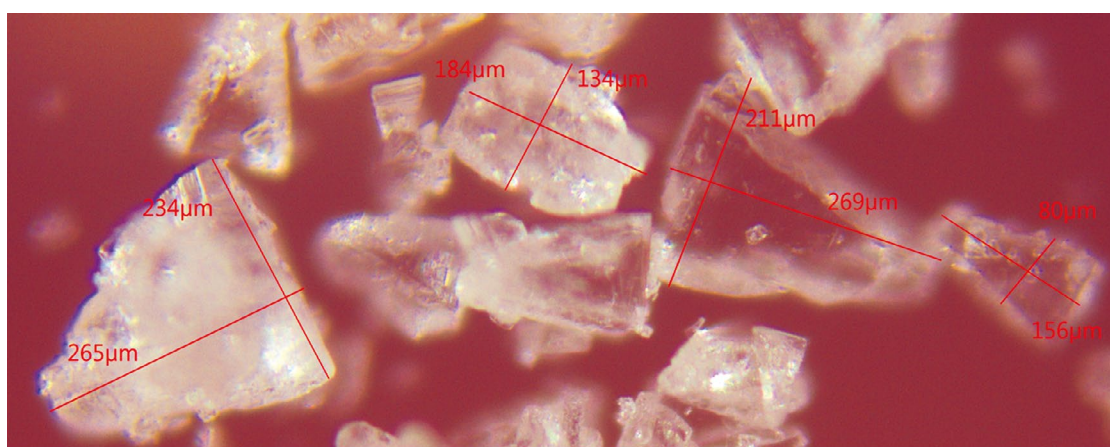
В работе использованы лактозы моногидрат 80 меш (Ningbo Samreal Chemical Co., Ltd., Китай и Aurora Industry Co. Ltd., Китай) и лактоза 200 меш (DMV-Fonterra Excipients GmbH & Co. KG, Германия) в качестве исходного сырья для производства гранулята. Микрористаллическая целлюлоза Heweten 102 (JRS PHARMA GmbH & Co. KG, Германия) и магния стеарат (FACI METALEST S.L.U., Испания) использованы для производства модельных таблеток. Для проведения грануляции и сушки гранулята, полученного методом высокого усилия сдвига, использована установка псевдооживленного слоя Hüttlin Solidlab 2 (BOSCH, Германия). Грануляция с усилием сдвига выполнена в миксере-грануляторе Evio G10H (ООО «ФармТехнолоджис», Россия). Модельные таблетки были произведены на роторном таблеточном прессе UNIC PC-27 (Rimek Karnavati Engineering, Ltd., Индия). Фракционный состав порошков изучался методом ситового анализа на приборе AS 200 control (Retsch GmbH, Германия). Насыпная плотность порошков до и после уплотнения контролировалась с помощью тестера насыпной плотности PT-TD200 (Pharma Test, Германия). Тестер сыпучести PTG-S4 (Pharma Test, Германия) использовался для анализа сыпучести порошков. Для анализа фармацевтико-технологических параметров таблеток использовался тестер прочности RZ-1 (DGM Pharma-Apparate Handel AG, Швейцария) и тестер распадаемости PTZ AUTO (Pharma Test, Германия).

Для полученных данных по сыпучести рассчитывали стандартное отклонение выборки из 5 значений. Для данных по прочности рассчитывали стандартное отклонение выборки из 10 значений.

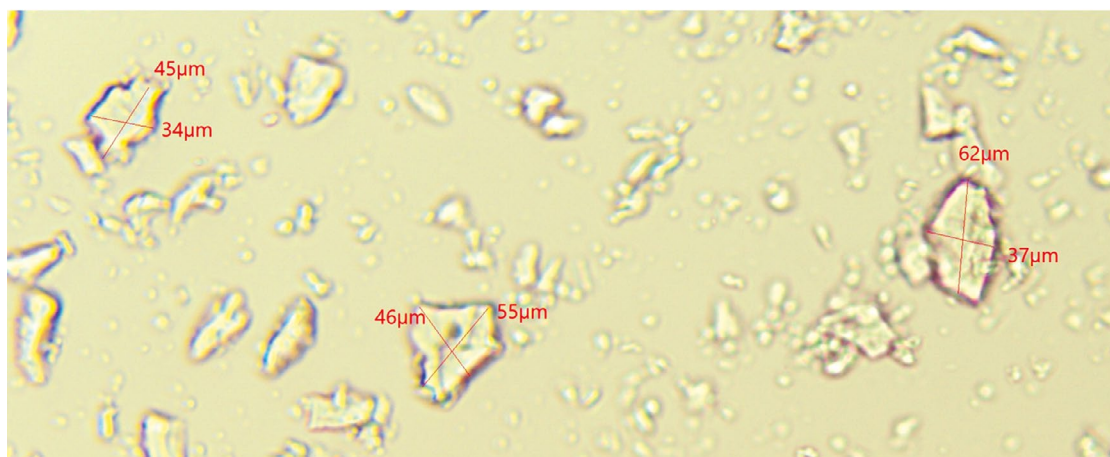
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве первого метода грануляции выбрана грануляция в псевдооживленном слое крупной (размер частиц менее 180 мкм, марка 80 меш) и мелкой (размер частиц менее 90 мкм, марка 200 меш) фракции лактозы моногидрата. Как отмечено выше, крупная лактоза обладает хорошей сыпучестью и плохой прессируемостью, тогда как мелкая лактоза имеет противоположные свойства. В связи с этим крупная лактоза была использована в качестве «ядра», вокруг которого будут наращиваться гранулы за счет связывания мелкой фракции лактозы. Исходные частицы представляли собой кристаллы лактозы моногидрата 80 меш формы «томагавк», то есть моноклинные сфероидальные частицы с трапециевидными боковыми гранями, ромбическими верхними и нижними частями

ми и скошенными гранями у основания и вершины, схожие с характерной формой лезвия топора [4], и кристаллы менее правильной формы лактозы 200 меш, так как эта марка лактозы была произведена методом размола (рисунок 1). Подразумевается схожесть с характерной формой лезвия топора. В фармакопеях (Ph. Eur., USP, ГФ РФ) описаны только более правильные формы, набор форм совпадает в этих фармакопеях со статьей ОФС.1.2.1.0009 Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ) XV издания. Форма томагавка для лактозы упоминается во многих статьях, например в статье R. Wijayasinghe et al. ([4] в списке литературы): «The α -lactose crystals are monoclinic sphenoidal and have only 1 axis of symmetry. They have trapezoidal side faces, rhombic tops and bottoms, and beveled faces at the base and apex, giving the crystal a distinct tomahawk appearance».



А
А



Б
В

Рисунок 1. Изображения лактозы моногидрата, полученные оптическим микроскопом при увеличении 100х: А – лактоза 80 меш в отраженном свете; Б – лактоза 200 меш в проходящем свете

Figure 1. Images of lactose monohydrate obtained with an optical microscope at 100x magnification: А – lactose 80 mesh in reflected light; В – lactose 200 mesh in transmitted light

Грануляцию проводили на установке псевдооживленного слоя. Общий объем загрузки сухих компонентов составлял 4000 г. В качестве связующего раствора использовали раствор лактозы 30 % в количестве 1800 г. Расход входящего воздуха составлял 110 м³/ч, скорость распыления изменяли в диапазоне 40–60 г/мин.

Полученные результаты по показателю «сыпучесть» представлены на рисунке 2.

В качестве критерия приемлемости для сыпучести гранулята была выбрана сыпучесть **не более** 15 с/100 г, что эквивалентно 6,67 г/с. Согласно литературным данным, данное значение сыпучести является пограничным для использования в технологии прямого прессования [1]. По полученным результатам видно, что уже соотношение 1:1 не позволяет добиться необходимой сыпучести. Только соотношение 1:0,82 (2200 г крупной и 1800 г мелкой лактозы) позволило получить гранулят с необходимой сыпучестью.

Далее, чтобы проверить пригодность полученной гранулированной лактозы для прямого прессования, изучили прессуемость гранулята. Для этого произвели модельные таблетки следующего состава: 89 % гранулята, 10 % микрокристаллической целлюлозы, 1 % магния стеарата. Значение 50 Н было выбрано как **нижняя граница** для показателя «прочность». В соответствии с фармакопейной статьей ГФ РФ прочность таблеток диаметром 9 мм должна составлять не менее 30 Н [ОФС.1.4.2.0011.15]. Более высокий критерий приемлемости был выбран в связи с тем,

что большинство субстанций обладают плохой прессуемостью и вспомогательное вещество для прямого прессования должно быть способно компенсировать этот недостаток АФС. Норма распадаемости в 3 мин (180 с) была выбрана с той целью, чтобы полученную гранулированную лактозу можно было применять для производства таблеток, диспергируемых в полости рта, для которых это верхняя граница по показателю «распадаемость» согласно требованиям ГФ РФ [ОФС.1.4.1.0015.15].

Данные по прочности и распадаемости модельных таблеток приведены на рисунке 3.

По диаграмме можно сделать вывод о том, что наилучший по сыпучести гранулят не позволяет получить таблетки, удовлетворяющие выбранным критериям приемлемости по показателю «распадаемость». Единственный гранулят, обладающий необходимой прочностью и распадаемостью, – это гранулят, полученный из соотношения исходных фракций 1:1. В связи с полученными результатами следующим шагом в разработке технологии была попытка улучшения сыпучести гранулята за счет изменения параметров грануляции.

Для подбора параметров грануляции были выбраны соотношения 1:1 и 1:3, как наиболее перспективные. Соотношение 1:3 было выбрано исходя из соображения, что улучшение сыпучести гранулята может также положительно отразиться на распадаемости таблеток за счет укрупнения частиц и увеличения их пористости.

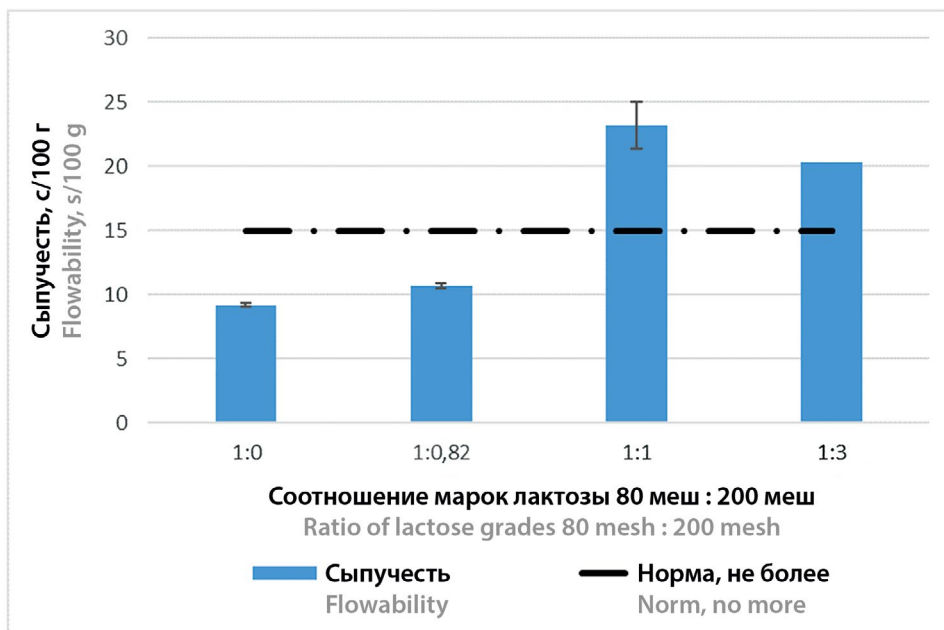


Рисунок 2. Зависимость сыпучести гранулированной лактозы от соотношения исходных фракций лактозы в сравнении с лактозой 80 меш

Figure 2. Dependence of the flowability of granulated lactose on the ratio of the initial fractions of lactose in comparison with lactose 80 mesh

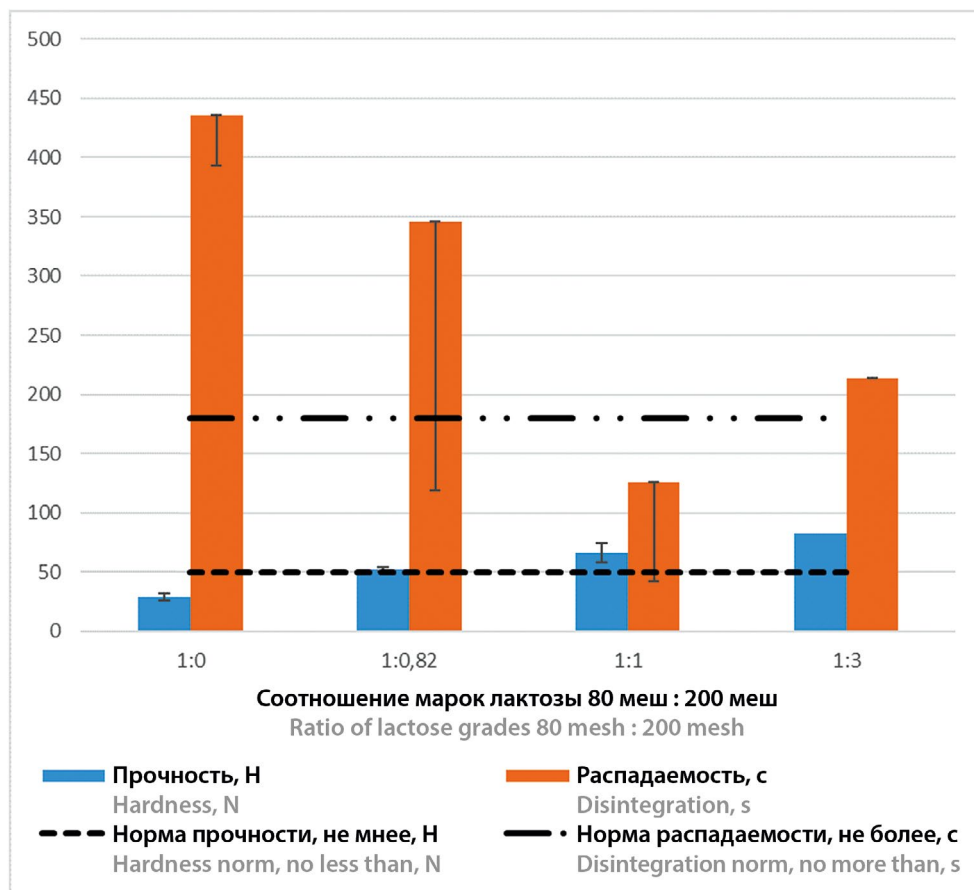


Рисунок 3. Прочность и распадаемость модельных таблеток, полученных из гранулированной лактозы в сравнении с лактозой 80 меш

Figure 3. Hardness and disintegration of model tablets prepared from granulated lactose in comparison with lactose 80 mesh

Основное влияние на качество гранулята в данном процессе оказывает общая влажность процесса, так как формирование связей между частицами происходит за счет частичного растворения лактозы и повторной кристаллизации. На общую влажность процесса оказывают влияние многие параметры, прямое влияние оказывает количество распыляемой жидкости и скорость распыления. Изменение количества распыляемой жидкости при единой скорости распыления 50 г/мин не показало значимого изменения сыпучести гранулята, результаты представлены в таблице 1.

Таким образом, скорость распыления была выбрана как параметр, который может оказать наибольшее влияние на свойства гранулята. Максимальная скорость распыления, которой удалось добиться, составила 60 г/мин. При дальнейшем увеличении скорости распыления уже на первых минутах начинали образовываться крупные агломераты вокруг распыляющих форсунок. Полученные результаты прямого измерения сыпучести и косвенного показателя сыпучести – индекса Карра – приведены на рисунках 4 и 5 соответственно.

Таблица 1. Результаты испытаний гранулированной лактозы, полученной при использовании различных количеств гранулирующего раствора, по показателю «сыпучесть»

Table 1. Flowability results for granulated lactose, produced using various amounts of granulating solution

| Соотношение марок лактозы 80 меш : 200 меш (Ratio of lactose grades 80 mesh : 200 mesh) | Количество гранулирующего раствора лактозы 30 %, г (Amount of granulating solution of lactose 30 %, g) | Сыпучесть гранулята, с/100 г (Granulate flowability, s/100 g) |
|---|--|---|
| 1:1 | 600 | 25,5 |
| | 870 | 22,8 |
| | 1200 | 22,7 |
| 1:3 | 1800 | 23,2 |
| | 800 | 19,2 |
| | 1600 | 20,3 |
| | 1800 | 20,6 |

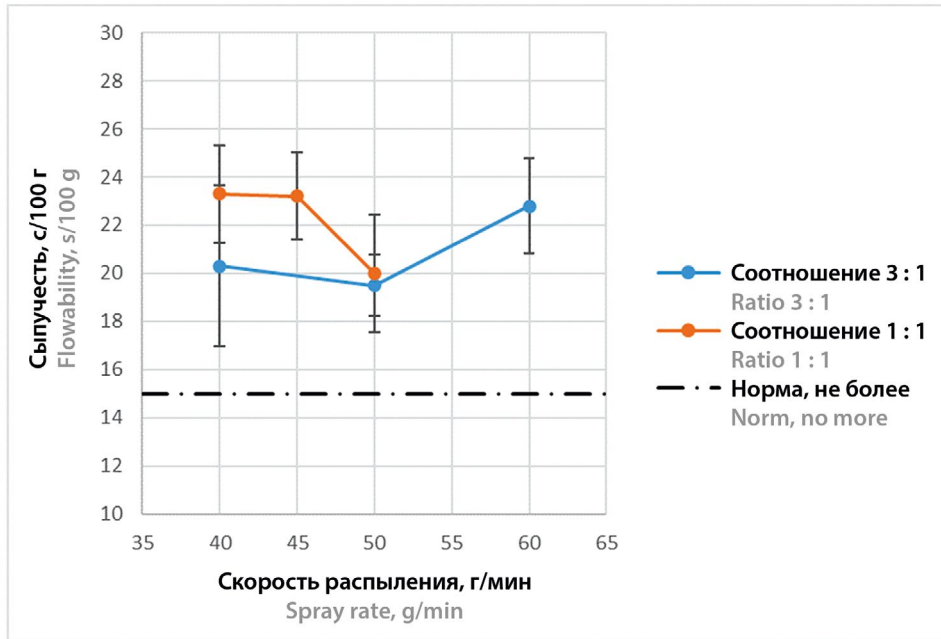


Рисунок 4. Зависимость сыпучести гранулята от скорости распыления гранулирующего раствора
Figure 4. Dependence of granulate flowability on granulating solution spray rate

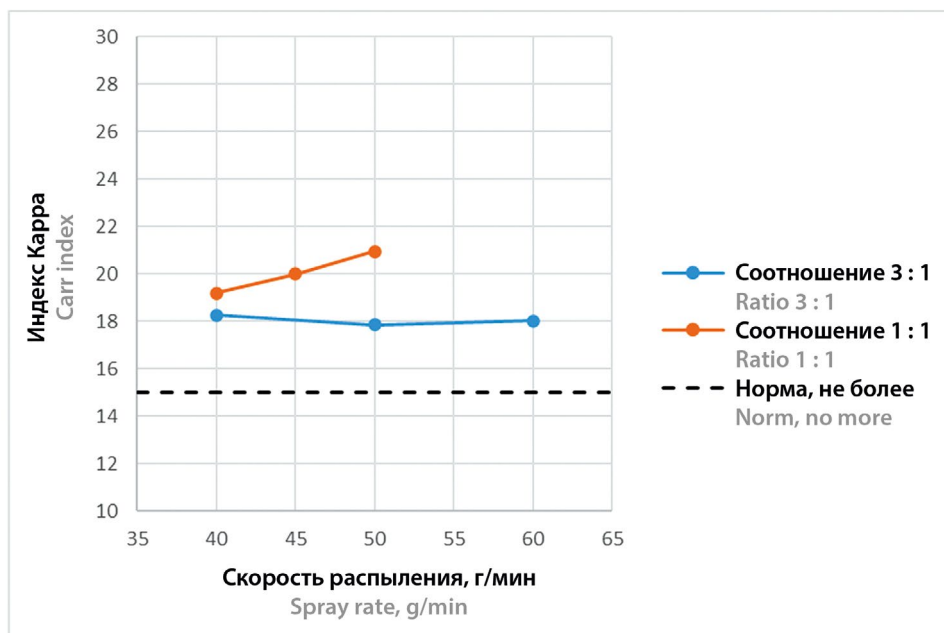


Рисунок 5. Зависимость индекса Карра от скорости распыления гранулирующего раствора
Figure 5. Dependence of the Carr's index on the granulating solution spray rate

По полученным результатам сделан вывод о том, что изменение параметров грануляции не позволяет добиться существенного улучшения сыпучести гранулята. Данный результат может быть обоснован тем, что процесс грануляции в псевдооживленном слое требует достаточно сильного связывания ча-

стиц между собой, которое может противостоять разрушающим силам потока воздуха. В случае классической грануляции гранулирующий раствор связующего вещества обладает липкостью, способной скрепить частицы между собой, а в процессе высыхания связующее вещество образует прочные твердофазные

мостики между частицами [12]. При распылении раствора лактозы в качестве связующего раствора происходит смачивание сухой лактозы, а также переход растворенной лактозы в твердое состояние в процессе сушки. За счет этого перешедшая из раствора лактоза может сформировать твердофазные мостики для формирования гранул. Однако, судя по полученным результатам, для эффективного процесса грануляции требуется значительно более высокая степень увлажнения порошка, чем может обеспечить установка псевдооживленного слоя. В связи с этим было решено изменить подход к получению гранулята. Вместо улучшения сыпучести смеси с хорошей прессуемостью была предпринята попытка улучшить прессуемость хорошо сыпучей крупной лактозы за счет модификации поверхности частиц.

Аморфная лактоза представляет собой смесь двух стереических изомеров лактозы – α - и β -формы – в соотношении, близком к 1:1 [7]. Такая форма лактозы обладает пластической деформацией за счет своей аморфности и может повысить прессуемость исходного α -моногидрата лактозы, если с ее помощью модифицировать поверхность частиц лактозы 80 меш.

Были произведены 3 серии гранулята при различных параметрах процесса распыления раствора лактозы. Значения параметров приведены в таблице 2, результаты испытаний модельных таблеток представлены на рисунках 6 и 7.

Измерение распадаемости прекращали при превышении времени более 15 мин (900 с). Как видно из графиков выше, каждая серия лактозы с модифицированной поверхностью позволяет получить таблетки с более высокой прочностью, чем исходная лактоза 80 меш. Однако распадаемость этих таблеток значительно замедлилась и превышает принятую нор-

му 3 мин и фармакопейную норму 15 мин. Оба этих наблюдения можно объяснить склонностью аморфной лактозы к пластической деформации. С одной стороны, она позволяет повысить прочность таблетки, с другой – за счет подобной деформации уменьшается пористость таблетки, так как пластичная аморфная лактоза под воздействием давления заполняет пустоты вокруг себя и препятствует проникновению воды внутрь таблетки. Таким образом, данный подход может повысить прессуемость лактозы моногидрата, но не является приемлемым из-за негативного влияния на распадаемость таблеток.

Таблица 2. Параметры процесса распыления раствора лактозы при модификации поверхности лактозы 80 меш

Table 2. Process parameters for surface modification of lactose 80 mesh

| Серия Batch | Скорость распыления раствора лактозы, г/мин Spray rate of lactose solution, g/min | Температура продукта, °С Product temperature, °C | Давление распыления, бар Spray pressure, bar | Загрузка, г Loading, g | Объем раствора, г Volume of solution, g |
|----------------|--|---|---|---------------------------|--|
| 208z.44 | 25–28 | 37,5–38,5 | 1,0 | 4000 | 2700 |
| 208z.46 | 15 | 31,0–31,5 | 1,0 | 4000 | 2700 |
| 208z.47 | 50 | 37,5–38,5 | 1,5 | 1600 | 2700 |

Следующим подходом стала грануляция с высоким усилием сдвига. Так как условия процесса в данном случае позволяют получить достаточно плотные и прочные гранулы, использовали только мелкую лактозу 200 меш. Процесс грануляции проводили

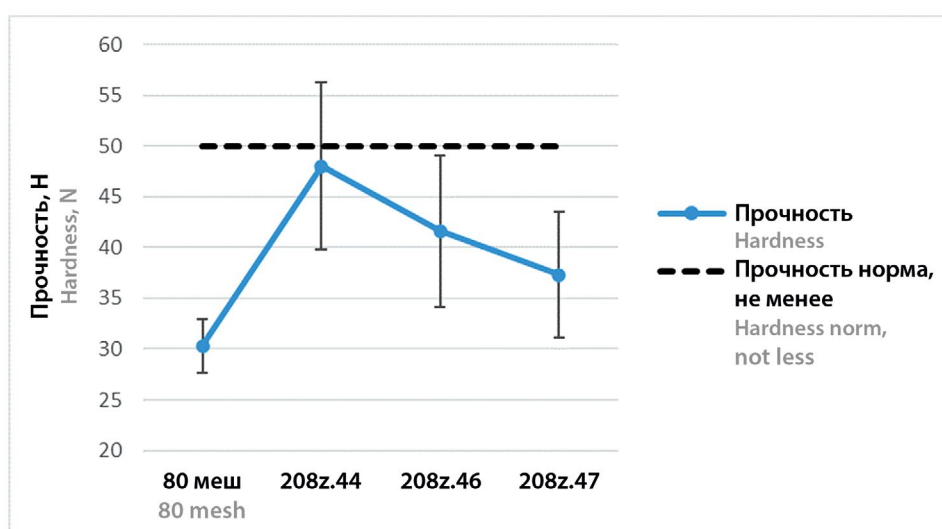


Рисунок 6. Результаты испытания прочности модельных таблеток, полученных из лактозы 80 меш с модифицированной поверхностью

Figure 6. Results of testing the hardness of model tablets obtained from lactose 80 mesh with a modified surface

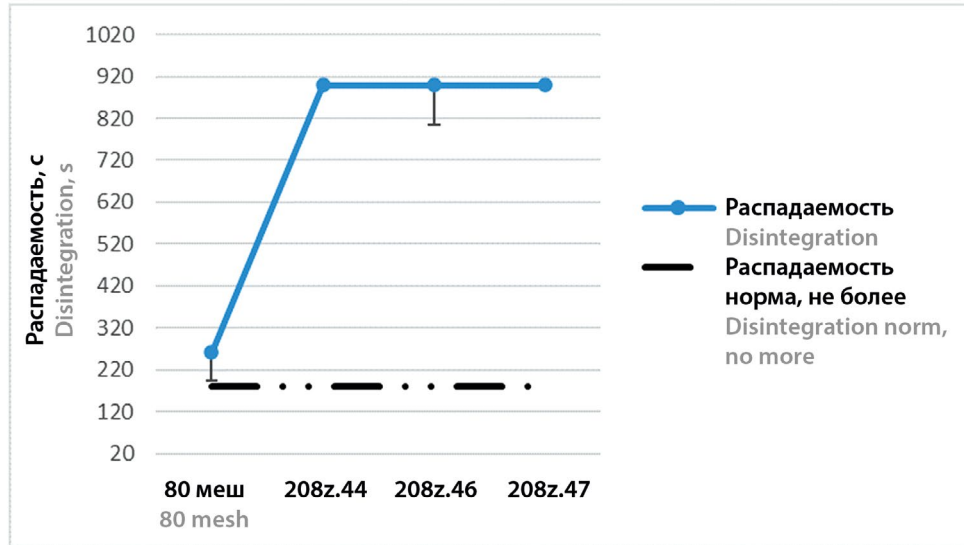


Рисунок 7. Результаты испытания распадаемости модельных таблеток, полученных из лактозы 80 меш с модифицированной поверхностью

Figure 7. Disintegration test results for model tablets obtained from lactose 80 mesh with a modified surface

при следующих параметрах: количество сухой лактозы – 1500 г, скорость импеллера – 75 об/мин, количество увлажнителя (воды очищенной) – 250 г, время добавления увлажнителя – 1 мин, скорость чоппера – 1000 об/мин, время грануляции – 3 мин. Так как грануляция с высоким усилием сдвига позволяет вести процесс при достаточно высоком содержании влаги в смеси, для формирования гранул достаточно использовать воду в качестве увлажнителя. Полученный влажный гранулят калибровали

вручную через сито 2 мм, далее сушили в установке псевдоожиженного слоя до потери в массе при высушивании 0,30 % при температуре входящего воздуха 30 °С и расходе входящего воздуха 150–200 м³/ч. Влажность выбрали исходя из следующего наблюдения: при хранении гранулята с влажностью от 0,50 % и выше образуются крупные комки гранулята. После сушки калибровали вручную через сито 500 мкм. Изучили сыпучесть полученного сухого гранулята, результаты представлены на рисунках 8 и 9.

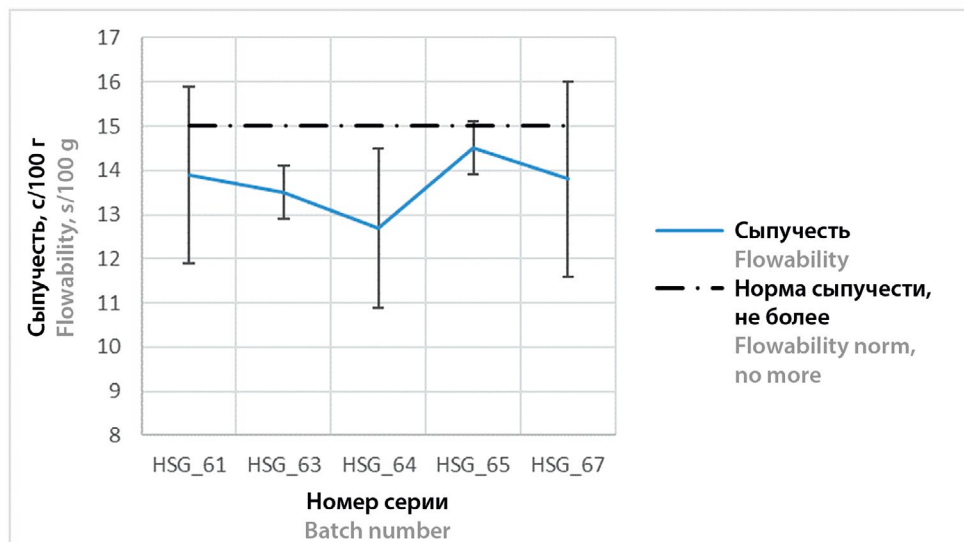


Рисунок 8. Сыпучесть 5 серий гранулятов, полученных грануляцией с высоким усилием сдвига при одинаковых параметрах процесса грануляции лактозы 200 меш

Figure 8. Flowability of 5 batches of granulates produced by high shear granulation of lactose 200 mesh using identical granulation process parameters

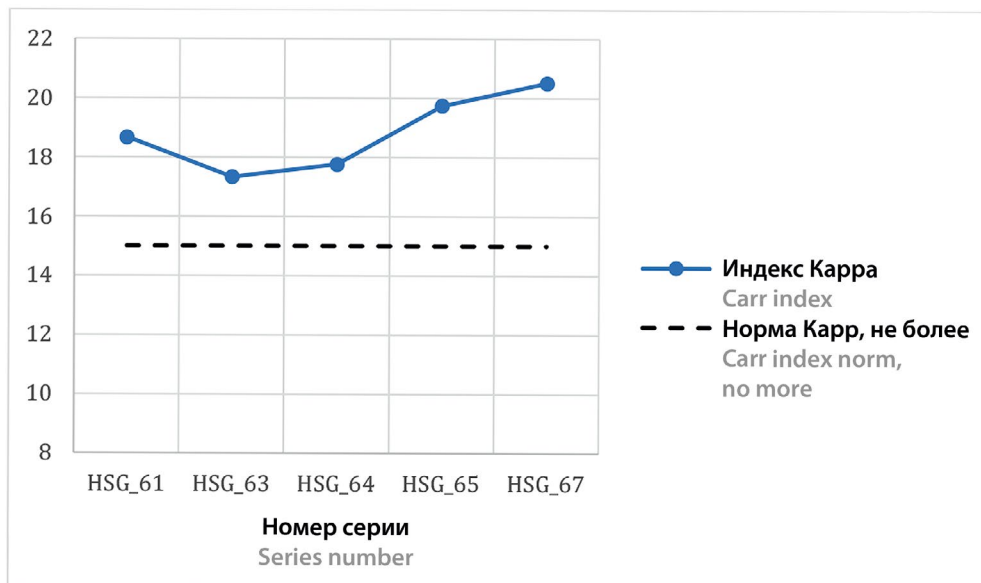


Рисунок 9. Индекс Карра 5 серий гранулятов, полученных грануляцией с высоким усилием сдвига при одинаковых параметрах процесса грануляции лактозы 200 меш

Figure 9. Carr's index of 5 batches of granulates produced by high shear granulation of lactose 200 mesh using identical granulation process parameters

Все произведенные образцы соответствовали критерию приемлемости для сыпучести. При этом индекс Карра превышал установленный критерий приемлемости. Так как это косвенный показатель сыпучести, он однозначно не говорит о непригодности полученного гранулята для использования в процессах прямого прессования. Однако его завышенное значение является индикатором склонности порошка к слеживаемости и сегрегации, а также к

образованию «арок» при высыпании из выходного отверстия бина. О возможной проблеме «арок» также говорит достаточно высокое значение стандартного отклонения результатов сыпучести. Одной из причин перечисленных выше характеристик гранулята может быть ухудшение его свойств из-за сухой калибровки: она приводит к образованию мелкой негранулированной пыли и частиц неправильной – менее сферической – формы. Подбор параметров

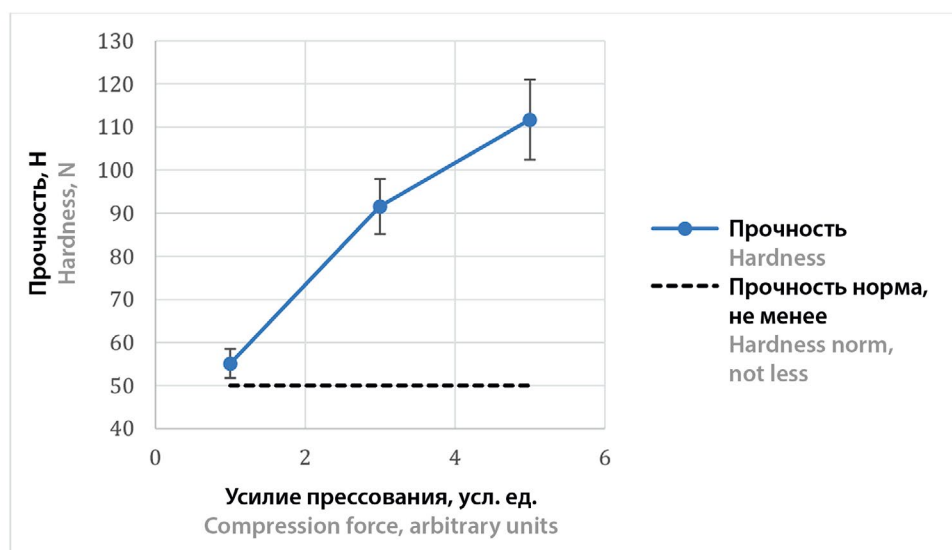


Рисунок 10. График зависимости прочности модельных таблеток от усилия прессования

Figure 10. Graph of dependence of hardness of model tablets on compression force

процесса грануляции для минимизации необходимости сухой калибровки может быть решением этой проблемы, однако окончательные выводы требуют дальнейшего исследования.

Далее из этого гранулята произвели модельные таблетки и изучили их прочность и распадаемость при разных значениях усилия прессования. Результаты представлены на рисунках 10–12.

Как видно из приведенных данных, удалось получить таблетки, которые удовлетворяют критериям приемлемости прочности и распадаемости одновременно. Наблюдается прямая зависимость обоих параметров от усилия прессования. Все полученные значения прочности значительно превышают критерий приемлемости.

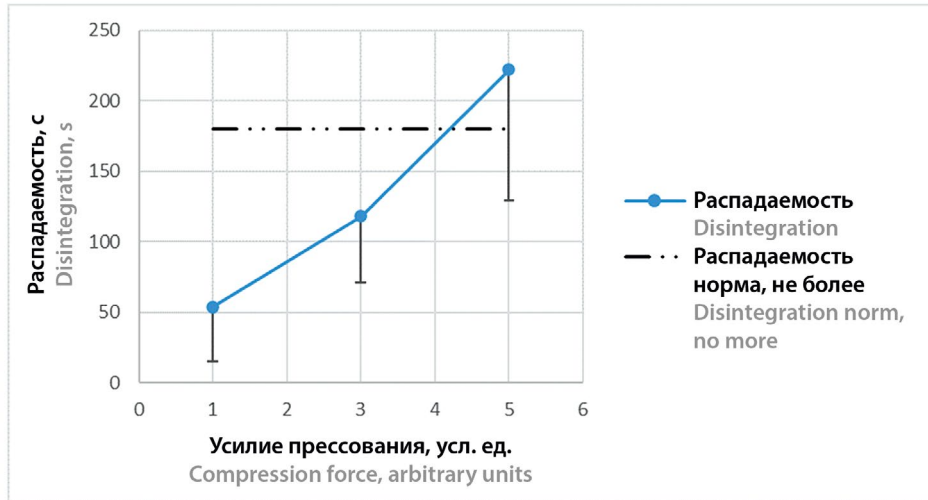


Рисунок 11. График зависимости распадаемости модельных таблеток от усилия прессования

Figure 11. Graph of dependence of disintegration of model tablets on compression force

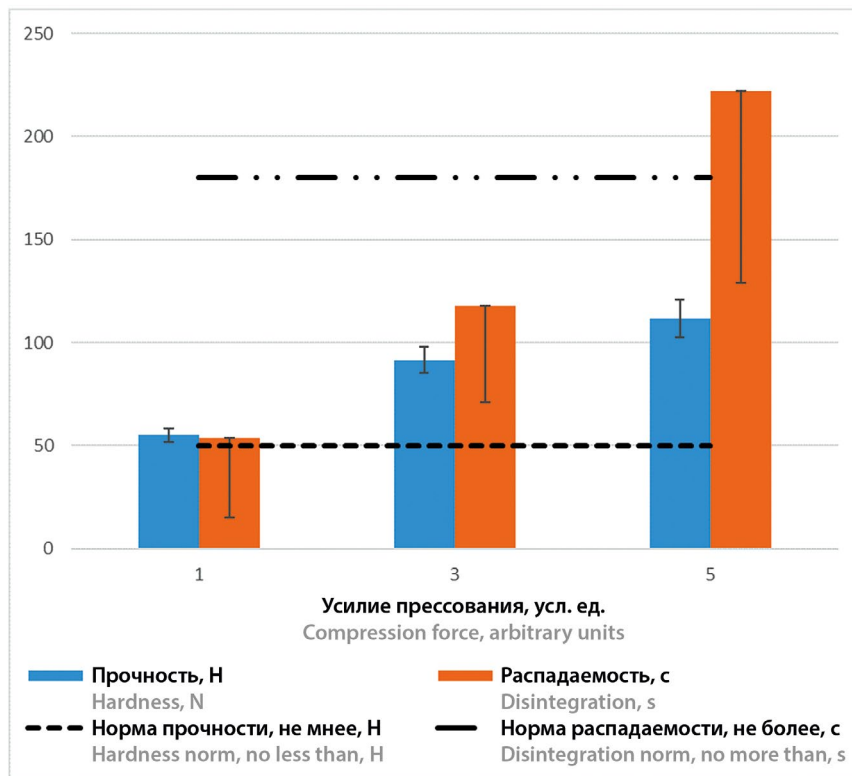


Рисунок 12. Диаграмма зависимости прочности и распадаемости модельных таблеток от усилия прессования

Figure 12. Diagram of the dependence of hardness and disintegration of model tablets on compression force

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках проведенного исследования были изучены три подхода для улучшения фармацевтико-технологических характеристик лактозы моногидрата: грануляция в псевдооживленном слое, модификация поверхности частиц в псевдооживленном слое, грануляция с высоким усилием сдвига. Последний подход позволил получить гранулят с сыпучестью менее 15 с/100 г, из которого были произведены таблетки с прочностью более 50 Н и распадаемостью менее 3 мин. Таким образом, грануляция с высоким усилием сдвига является перспективным методом производства гранулированной лактозы для прямого прессования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lin Z., Cabello B., Kossor C., Davé R. Facilitating direct compaction tableting of fine cohesive APIs using dry coated fine excipients: Effect of the excipient size and amount of coated silica. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;660:124359. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.124359.
2. Amornrojvaravut C., Peerapattana J. Application of co-precipitated glutinous rice starch as a multifunctional excipient in direct compression tablets. *Heliyon*. 2023;9(9):e19904. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e19904.
3. Kudo Y., Yasuda M., Matsusaka S. Effect of particle size distribution on flowability of granulated lactose. *Advanced Powder Technology*. 2020;31(1):121–127. DOI: 10.1016/j.apt.2019.10.004.
4. De Backere C., De Beer T., Vervaet C., Vanhoorne V. Effect of binder type and lubrication method on the binder efficacy for direct compression. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;607:120968. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120968.
5. Kim S. S., Seetahal A., Kossor C., Davé R. N. On predicting the performance of different silicas on key property enhancements of fine APIs, blends, and tablets. *Powder Technology*. 2024;432:119104. DOI: 10.1016/j.powtec.2023.119104.
6. Shi C., Zhao H., Fang Y., Shen L., Zhao L. Lactose in tablets: Functionality, critical material attributes, applications, modifications and co-processed excipients. *Drug Discovery Today*. 2023;28(9):103696. DOI: 10.1016/j.drudis.2023.103696.
7. Wijayasinghe R., Bogahawaththa D., Chandrapala J., Vasiljevic T. Crystallization behavior and crystal properties of lactose as affected by lactic, citric, or phosphoric acid. *Journal of Dairy Science*. 2020;103(12):11050–11061. DOI: 10.3168/jds.2020-18375.
8. Janssen P. H. M., Berardi A., Kok J. H., Thornton A. W., Dickhoff B. H. J. The impact of lactose type on disintegration: An integral study on porosity and polymorphism. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022;180:251–259. DOI: 10.1016/j.ejpb.2022.10.012.
9. Chendo C., Pinto J. F., Paisana M. C. Comprehensive powder flow characterization with reduced testing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;642:123107. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123107.
10. Kumar Vadaga A., Gudla S. S., Kumar Nareboina G. S., Gubala H., Golla B. Comprehensive review on modern techniques of granulation in pharmaceutical solid dosage forms. *Intelligent Pharmacy*. 2024;2(5):609–629. DOI: 10.1016/j.ipha.2024.05.006.
11. Takano K., Nishii K., Mukoyama A., Iwadate Yu., Kamiya H., Horio M. Binderless granulation of pharmaceutical lactose powders. *Powder Technology*. 2002;122(2–3):212–221. DOI: 10.1016/S0032-5910(01)00418-1.
12. Nascimento R. F., Ferreira Ávila M., Pereira Taranto O., Kurozawa L. E. Agglomeration in fluidized bed: Bibliometric analysis, a review, and future perspectives. *Powder Technology*. 2022;406:117597. DOI: 10.1016/j.powtec.2022.117597.



ВИЛАР



ПГФА

4–6 июня 2025 года

г. Москва

СПХФУ
с 1919 года на службе
науке и здоровью нации



Санкт-Петербургский
государственный химико-
фармацевтический университет

Международный научный Симпозиум «От растения до лекарственного препарата»



Дополнительную информацию
можно найти на сайте конференции
<https://vilarnii.ru/conference/>

e-mail: conference@vilarnii.ru
Телефон: +7 (916) 318 72 10



УДК 615.1

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1787>

Хитозан как основа стимулочувствительных систем: систематический обзор (обзор)

В. С. Пыжов, В. С. Ганыкин, Д. М. Власова, Я. Д. Петухова, А. И. Ходенюк, Е. О. Бахрушина ✉

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ **Контактное лицо:** Бахрушина Елена Олеговна. **E-mail:** bachrauschenh@mail.ru

ORCID: В. С. Пыжов – <https://orcid.org/0000-0003-2174-7157>;
В. С. Ганыкин – <https://orcid.org/0009-0007-1012-548X>;
Д. М. Власова – <https://orcid.org/0000-0002-9637-0502>;
Я. Д. Петухова – <https://orcid.org/0009-0005-8051-1090>;
А. И. Ходенюк – <https://orcid.org/0000-0001-8326-3292>;
Е. О. Бахрушина – <https://orcid.org/0000-0001-8695-0346>.

Статья поступила: 25.03.2024

Статья принята в печать: 21.03.2025

Статья опубликована: 21.03.2025

Резюме

Введение. Актуальным направлением современной разработки лекарственных средств является создание стимулочувствительных систем, способных к фазовому переходу «раствор – гель» в организме человека под воздействием различных физиологических факторов (ионный состав среды, температура, pH и др.). Одним из наиболее перспективных стимулочувствительных природных полимеров считается деацетилированное производное основного структурного компонента панцирей ракообразных, хитина, – хитозан. Этот полимер обладает доказанной высокой совместимостью с тканями животных, биоразлагаемостью и собственным антимикробным действием, что позволяет неограниченно его использовать в фармацевтических композициях. Также важно отметить высокую распространенность хитозана в природе, что делает его легкодоступным сырьем для создания новых лекарственных форм и, в частности, для импортозамещения зарубежных полимеров в отечественной фармацевтической технологии.

Текст. Целью представленного обзора стала систематизация информации и исследований касательно хитозана, его производства, физических и химических свойств и факторов, от которых последние зависят, и, самое важное, фармацевтических композиций на основе изучаемого полимера и его модификаций и стимулов, за счет которых происходит фазовый переход в системах доставки, включающих этот деацетилированный природный полисахарид. Хитозан – аминополисахарид, состоящий из β -(1 → 4)-связанных остатков D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина, известен в фармацевтической промышленности с середины XX века. За годы исследований были доказаны его биосовместимость, мукоадгезивность и гелеобразующие способности в водных растворах при pH в диапазоне до 6–7. В наиболее исследованные композиции на основе хитозана включались различные низкомолекулярные вспомогательные компоненты для достижения *in situ* перехода его водных растворов в физиологических условиях, однако многие сшивающие компоненты либо приводили к формированию стационарных гидрогелей, либо обладали токсичностью. Одним из самых перспективных и исследованных сочетаний на сегодняшний день представляется комбинация хитозана с бета-глицерофосфатом. Другой интересной стратегией придания хитозану стимулочувствительных свойств является модификация свободных аминогрупп цепи полимера с помощью других высокомолекулярных соединений путем их сшивания через иминные или амидные связи (как, например, в метоксиполиэтиленгликоль-хитозане), которые способны гидролизироваться в среде организма. Таким образом можно повышать растворимость хитозана и достигать pH- и/или термочувствительности у изучаемых полимеров.

Заключение. В ходе написания обзора были освещены наиболее важные аспекты производства и модификации хитозана, а также продемонстрированы способы придания хитозану pH- или термочувствительных свойств посредством различных стратегий и показаны их преимущества и недостатки. Важно отметить, что не было найдено работ, которые доказывали бы наличие стимулочувствительных свойств у индивидуальных растворов хитозана.

Ключевые слова: *in situ* гелеобразование, стимулочувствительные полимеры, хитозан, pH-чувствительность, термочувствительность, бета-глицерофосфат, mPEG-хитозан

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

Вклад авторов. Е. О. Бахрушина – руководство и разработка концепта работы, рецензирование, редактирование текста. В. С. Пыжов – написание, редактирование и перевод текста статьи, разработка концепта и оформление графического

© Пыжов В. С., Ганыкин В. С., Власова Д. М., Петухова Я. Д., Ходенюк А. И., Бахрушина Е. О., 2025

© Pyzhov V. S., Ganykin V. S., Vlasova D. M., Petukhova Ya. D., Khodenok A. I., Bakhrushina E. O., 2025

материала. А. И. Ходенюк – написание текста статьи, визуализация графического материала. В. С. Ганыкин, Д. М. Власова, Я. Д. Петухова – поиск и обработка литературных данных, написание текста статьи.

Для цитирования: Пыжов В. С., Ганыкин В. С., Власова Д. М., Петухова Я. Д., Ходенюк А. И., Бахрушина Е. О. Хитозан как основа стимулочувствительных систем: систематический обзор. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):88–105. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1787>

Chitosan as a basis of stimuli-sensitive systems: a systematic review (review)

Victor S. Pyzhov, Valeriy S. Ganykin, Darya M. Vlasova, Yaroslava D. Petukhova,
Angelina I. Khodenok, Elena O. Bakhrushina✉

I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Elena O. Bakhrushina. **E-mail:** bachrauschenh@mail.ru

ORCID: Victor S. Pyzhov – <https://orcid.org/0000-0003-2174-7157>;
Valeriy S. Ganykin – <https://orcid.org/0009-0007-1012-548X>;
Darya M. Vlasova – <https://orcid.org/0000-0002-9637-0502>;
Yaroslava D. Petukhova – <https://orcid.org/0009-0005-8051-1090>;
Angelina I. Khodenok – <https://orcid.org/0000-0001-8326-3292>;
Elena O. Bakhrushina – <https://orcid.org/0000-0001-8695-0346>.

Received: 25.03.2024

Accepted: 21.03.2025

Published: 21.03.2025

Abstract

Introduction. The actual trend of modern drug development is the creation of stimuli-sensitive systems capable of solution-gel phase transition in the human body under the influence of various physiological factors (ionic composition of the medium, temperature, pH, etc.). One of the most promising stimuli-responsive natural polymers is a deacetylated derivative of the main structural component of crustacean shells, chitin – chitosan. This polymer has proven high compatibility with animal tissues, biodegradability and its own antimicrobial action, which allows its non-limited use in pharmaceutical compositions. It is also worth noting the high prevalence of chitosan in nature, which makes it an easily obtainable raw material for the creation of new dosage forms and, in particular, for import substitution of foreign polymers in Russian pharmaceutical technology.

Text. The aim of the survey presented here is to systematise information and studies on chitosan, its production, physical and chemical properties and factors on which the above depend, and, most importantly, pharmaceutical compositions based on the studied polymer and its modifications and stimuli, due to which the phase transition occurs in delivery systems involving this deacetylated natural polysaccharide. Chitosan, an amino polysaccharide composed of β -(1 \rightarrow 4)-linked D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine residues, has been known in the pharmaceutical industry since the middle of the XX century. Over the years of research, its biocompatibility, mucoadhesiveness and gel-forming abilities in aqueous solutions at pH in the range up to 6–7 have been proven. The most investigated chitosan-based compositions included various low molecular weight auxiliary components to achieve *in situ* transition of its aqueous solutions under physiological conditions, but many crosslinking components resulted either in the formation of stationary hydrogels or possessed toxic properties. One of the most promising and investigated combinations to the present day appears to be the combination of chitosan with beta-glycerophosphate.

Another interesting strategy for providing chitosan with stimulus-sensitive properties is to modify the free amino groups of the polymer chain with other high molecular weight compounds by crosslinking them through imine or amide bonds (as in methoxypolyethylene glycol-chitosan, for example), which are able to hydrolyse in the body's environment. In such way, it is possible to increase the solubility of chitosan and to achieve pH- and/or thermosensitivity in the polymers studied.

Conclusion. In the write-up of this review, the most important aspects of chitosan production and modification have been highlighted, and ways to impart pH- or thermosensitive properties to chitosan through different strategies have been demonstrated and their advantages and disadvantages have been shown. Significantly, no work was found to prove the presence of stimulus-sensitive properties in individual chitosan solutions.

Keywords: *in situ* gelation, stimulus sensitive polymers, chitosan, pH-sensitivity, thermosensitivity, beta-glycerophosphate, mPEG-chitosan

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 O. Bakhrushina – guidance and development of the paper concept, reviewing, editing of the text. Victor S. Pyzhov – writing, editing and translation of the text, development of the concept and design of graphic material. Angelina I. Khodenok – writing of the text, visualisation of graphic material. Valeriy S. Ganykin, Darya M. Vlasova, Yaroslava D. Petukhova – search and processing of literature data, writing the text of the review.

For citation: Pyzhov V. S., Ganykin V. S., Vlasova D. M., Petukhova Ya. D., Khodenok A. I., Bakhrushina E. O. Chitosan as a basis of stimulus-sensitive systems: a systematic review. *Drug development & registration*. 2025;14(2):88–105. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1787>

ВВЕДЕНИЕ

Согласно последним исследованиям в области фармацевтической разработки все более актуальным становится включение в состав лекарственных форм природных полимеров. Одним из них является хитозан – деацетилированное производное хитина, являющееся вторым по распространенности природным полимером после целлюлозы [1, 2]. К уникальным свойствам хитозана, делающим его привлекательным для дальнейших разработок, стоит отнести отсутствие токсичности, биоразлагаемость, мукоадгезивность, антимикробное действие и др. [3–5].

Многие исследователи отмечают большой потенциал применения так называемых смарт-полимеров, осуществляющих изменение физико-химических свойств под действием различных факторов [4–6].

В зависимости от воздействующего на полимер стимула выделяют три основные категории: термочувствительные, pH-зависимые и ион-регулируемые [6]. Среди систем, образующихся *in situ* (на месте применения), pH- и термочувствительные гидрогели более привлекательны из-за отсутствия каких-либо токсичных сшивающих агентов или внешних факторов, таких как УФ-излучение или возможное неблагоприятное воздействие на окружающие клетки [7].

Присутствие в элементарном звене хитозана – поли[β -(1 → 4)-2-амино-2 дезокси-D-глюкана] – аминогрупп и гидроксигрупп определяет перспективность создания на его основе pH- и термочувствительных гидрогелей, биосовместимых с тканями живого организма. Гидрогели на основе хитозана могли бы широко применяться в качестве мембран, ионообменных композиций, сорбентов для аналитических и препаративных целей, имплантируемых в организм протезов, ранозаживляющих покрытий и т. д. [8–14].

Целью данной работы была систематизация имеющейся информации о хитозане: структуре, получении и физико-химических свойствах, а также освещение проблемы использования хитозана и его производных в pH-чувствительных и термочувствительных *in situ* системах на основе анализа современных разработок.

Хитозан

Получение хитозана

Хитозан представляет собой природный полисахарид с прямой цепью (1 → 4)-связанной 2-амино-2-дезокси-D-глюкопиранозы с некоторыми остаточными звеньями D-глюкозамина [5]. Он сочетает широкий спектр физико-химических и биологических свойств, благодаря чему интерес к нему с каждым годом только возрастает. По данным аналитической компании Grand View Research [2017], области применения этого полисахарида постоянно расширяются и уже сейчас он широко используется на мировом рынке в различных отраслях промышленности – пи-

щевой, косметической, сельском и водном хозяйстве, медицине и др. [15].

Основным источником получения хитозана является более распространенный и возобновляемый хитин – структурообразующий биополимер панциря ракообразных, наружного скелета насекомых и клеточной стенки грибов [16].

От способа получения хитозана будут зависеть его конечные свойства. В целом способы получения хитозана можно разделить на две группы: химические и биологические [17].

К группе химических методов получения хитозана относится распространенная реакция деацетилирования, в ходе которой ацетамидная группа хитина, расположенная у второго углеродного атома, превращается в первичную аминогруппу, а хитин – в хитозан. Как правило, данную реакцию проводят в жестких условиях при добавлении концентрированных гидроксидов натрия и калия (40–60 %) при температуре около 100 °С. Продолжительность реакции деацетилирования может достигать 6 ч, при этом получают хитозан с высокой степенью деацетилирования (88–98 %).

К примеру, С. Yong и др. описывают получение хитозана из личинок *Zophobas morio* с использованием 1,0 М раствора хлористоводородной кислоты при 35 °С в течение 30 мин на этапе деминерализации и различных концентраций гидроксида натрия (0,5 М, 1,0 М и 2,0 М) на этапе депротенизации при 80 °С в течение 20 ч. Экстрагированный хитин деацетилировали 50%-м раствором гидроксида натрия на водяной бане при температуре 90 °С в течение 30 ч [18].

Показано, что реакция деацетилирования сопровождается не только отщеплением ацетильных групп, но и одновременным разрывом гликозидных связей полимера. Это приводит к изменению таких физико-химических свойств хитозана, как молекулярная масса, надмолекулярная структура, степень кристалличности, характеристическая вязкость и т. д. [15].

По этой причине во Всероссийском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) разработали «холодный» способ получения хитозана из различного хитинсодержащего сырья. Предложенный способ позволил снизить степень деструкции хитозана, увеличить молекулярную массу и, как следствие, вязкость получаемых композиций. При этом степень деацетилирования была снижена до 75 %. Необходимо отметить, что деацетилирование согласно описываемому способу проводилось в течение 20–25 суток, что создает трудности в трансфере и масштабировании разработанной технологии получения.

Известны работы по модификации методики «холодного» деацетилирования, разработанной во ВНИРО. В работе Е. Ежовой и др. описывался двух-

этапный способ деацетилирования хитина. Первоначально хитин обрабатывали 40%-м раствором гидроксида натрия при 50–60 °С в течение 2–3 ч, после чего его промывали дистиллированной водой. Авторам метода удалось сократить время реакции до 15 суток и получить хитозан с высокой степенью деацетилирования (~80 %) [15].

Стоит отметить, что для получения хитозана используется и другое сырье. Так, М. Тели и др. проводили экстракцию хитозана из панцирей, полученных в ходе переработки креветок. Порошок панцирей креветок замачивали в 1,0 М растворе гидроксида натрия в течение 24 ч, промывали и сушили. Затем порошок деминерализовывали 1,0 М раствором хлористоводородной кислоты, депротеинизировали 1,0 М раствором щелочи и обесцвечивали с помощью перманганата калия и щавелевой кислоты. Полученный хитин затем повторно деацетилировали 50%-м раствором гидроксида для получения более высокой степени деацетилирования хитозана [19].

Химические методы имеют свои особенности: изменение физико-химических свойств хитина и снижение молекулярной массы и степени ацетилирования хитозана; экологическое воздействие на сточные воды, содержащие некоторые реагенты; увеличение стоимости процессов очистки полимера [20]. Как упоминалось ранее, характеристики экстрагируемого хитозана различаются в зависимости от метода экстракции и источника, из которого выделен хитин. Обычно химические методы предполагают использование сильных кислот и оснований при высокой температуре. В этих процессах экстракции использование высокой температуры имеет тенденцию увеличивать степень деацетилирования, а затем и растворимость, но происходит термическая дегградация хитозана, и молекулярные цепи быстро разрушаются, тем самым уменьшая молекулярную массу [21].

К группе биологических методов относятся ферментативный и ферментационный способы получения.

При ферментативном деацетилировании различные хитиндеацетилазы (ЕС 3.5.1.41 – chitin deacetylase) катализируют гидролиз N-ацетамидных связей в хитине с образованием хитозана [20]. Несмотря на более мягкие параметры реакции, ферментативные методы имеют существенные ограничения по сравнению с химическими методами. Самым большим из них является стоимость получения, особенно для промышленного производства. Это связано с тем, что используемые ферменты значительно дороже, чем реагенты, используемые в химических методах. При этом ферментативные методы менее эффективны, чем химические, из-за неспособности устранить конечные остаточные 10 % белков оболочек при депротеинизации, а степень деацетилирования при ферментативном методе еще ниже [17].

В большинстве публикаций, использующих биологические методы получения хитозана, вместо ферментативных способов используются методы ферментации [22, 23], среди которых методы молочно-кислой ферментации и методы немолочнокислой ферментации, выделяемые в зависимости от того, секретируют ли используемые в исследованиях микробные штаммы молочную кислоту или другие органические кислоты для реакции деминерализации. В существующих исследованиях преимущественно используются методы молочнокислой ферментации, когда побочные продукты обработки панцирей омаров использовались в качестве источников хитозана. Однако процессы ферментации обычно занимают от семи дней, при этом выделение побочных продуктов лактата кальция (образующихся в результате молочнокислого брожения) от хитозанового продукта считается сложной задачей [24, 25].

Физико-химические свойства хитозана

Как было сказано ранее, хитозан обладает широким спектром свойств, которые делают его перспективным объектом для использования в различных областях. Большой потенциал применения полимера обусловлен возможностью получения различных производных полисахарида за счет реакционноспособных функциональных групп [первичная аминогруппа, расположенная у второго углеродного атома (C2), а также две гидроксильные группы, одна из которых (у C3) – вторичная, а вторая (у C6) – первичная] [15, 26]. Физико-химические свойства хитозана будут напрямую зависеть от способа получения, степени деацетилирования, величины молекулярной массы, а также качества хитина, из которого его получают (рисунок 1) [15].

Одна из главных целей исследователей – получить хитозан с предельно высокой степенью деацетилирования и высокой, не изменяющейся в процессе получения молекулярной массой [27].

Степень деацетилирования – важный параметр хитозана. В проведенных ранее исследованиях показано, что хитозан с более высокой степенью деацетилирования демонстрирует более сильные биологические эффекты, а также повышенную растворимость в воде [20]. Это объясняется тем, что более высокая степень деацетилирования указывает на более высокую концентрацию аминогрупп в молекуле, а протонирование функциональной группы —NH₂ имеет жизненно важное значение для проявления биологических эффектов хитозана и его растворимости в воде [28]. Одновременно несколькими авторами отмечается, что большинство коммерчески доступных видов хитозана имеют значение степени деацетилирования от 70 до 90 % [29–31]. В работах отмечена и корреляция между молекулярной массой хитозана и его растворимостью в воде: чем меньше молекулярная масса, тем более высокую растворимость будет иметь биополимер [20]. Хито-

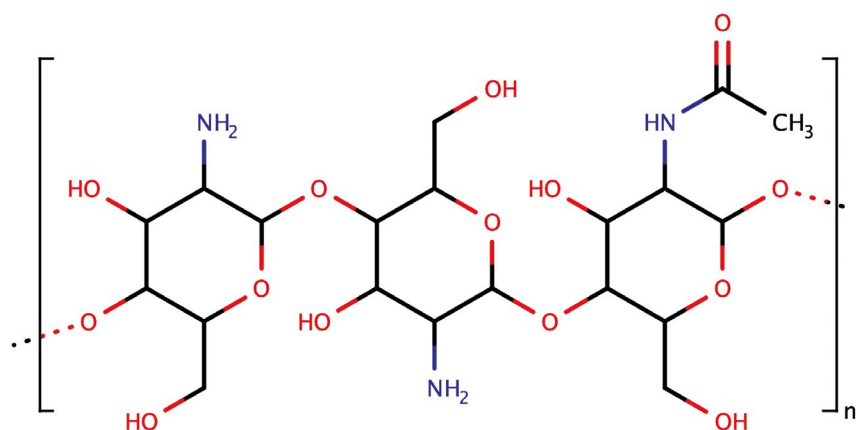


Рисунок 1. Структурная формула хитозана

Figure 1. Structural formula of chitosan

зан с молекулярной массой менее 30 кДа растворим в воде в форме свободного амина без необходимости подкисления [32, 33]. Однако следует отметить, что даже в диапазоне менее 30 кДа хитозан с молекулярной массой более 22 кДа демонстрирует лишь ограниченную растворимость, тогда как хитозан с молекулярной массой менее 9 кДа демонстрирует значительно лучшую растворимость в воде [34]. Когда молекулярная масса хитозана превышает 30 кДа, для растворения хитозана в воде фактически необходимо протонирование аминогруппы кислотой [17].

Обычно с повышением температуры вязкость раствора полимера снижается. Однако изменение pH раствора полимера может дать разные результаты в зависимости от типа используемых кислот. В случае уксусной кислоты вязкость хитозана имеет тенденцию увеличиваться с уменьшением pH, тогда как вязкость при добавлении более сильной HCl уменьшается.

Кингле-Штерцер и др. изучали длину персистентности молекул хитозана в разбавленном растворе. Они указали, что характеристическая вязкость хитозана зависит от степени ионизации, а также от ионной силы. Увеличение ионизации хитозана или ионной силы приведет к снижению характеристической вязкости раствора полимера [35]. На основании своих исследований авторы предположили, что хитозан в разбавленном растворе ведет себя как непроницаемая червеобразная молекула, а его молекулярная конфигурация определяется электростатическими взаимодействиями между полиионными противоионами [36].

Хитозан практически нерастворим при физиологических значениях pH, однако в разбавленных кислых растворах при pH раствора менее 6 первичные аминогруппы хитозана переходят в протонированную форму, в результате чего образуется растворимый в воде поликатион. Поликатионная природа хи-

тозана также обуславливает его взаимодействие с отрицательно заряженными клеточными мембранами микроорганизмов и объясняет его антимикробные эффекты и мукоадгезивные свойства [4, 37]. Уксусная и муравьиная кислоты являются двумя наиболее широко используемыми кислотами для растворения хитозана. Некоторые разбавленные неорганические кислоты (например, азотную, соляную, хлорную, фосфорную) также можно использовать для приготовления раствора хитозана, но только после длительного перемешивания и нагревания. Однако иногда после растворения полимера в растворе азотной кислоты образуется белый гелеобразный осадок. Помимо кислот, хорошими растворителями хитозана являются также такие смеси, как диметилформид с тетраоксидом азота в соотношении 3:1 [37].

Наконец, хитозан является хорошим коагулянтом и флокулянтом благодаря высокой плотности аминогрупп, которые могут взаимодействовать с отрицательно заряженными веществами, такими как белки, твердые вещества, красители и полимеры. Однако хитозан ведет себя совершенно иначе по отношению к ионам переходных металлов. Азот в аминогруппе молекулы хитозана выступает донором электронов и, предположительно, ответственен за селективное хелатирование с ионами металлов. Комплексообразование азота хитозана с ионами металлов было подтверждено Цезосом и Огавой. Была выдвинута гипотеза о том, что ион металла (т. е. ион меди) может координироваться с четырьмя аминогруппами в остатке димерного D-глюкозамина цепи хитозана [37, 38]. Считалось, что свободная аминогруппа хитозана гораздо более эффективно связывает ионы металлов, чем ацетильные группы хитина [38]. Это позволяет предположить, что более высокое содержание свободных аминогрупп в хитозане должно приводить к более высокой скорости адсорбции ионов металлов. Однако Курита и др. указали, что адсорбцион-

ная способность хитозана зависит от многих других факторов, таких как кристалличность, деацетилирование и сродство к воде. В своих исследованиях они обнаружили, что наибольшую адсорбционную способность проявляют образцы с 55%-м деацетилированием, приготовленные методом гомогенного гидролиза [39].

Таким образом, аминогруппы превращают хитозан в катионный полиэлектролит ($pK_a \approx 6.5$), один из немногих, который встречается в природе и обладает особыми свойствами: он растворим в водных кислых средах при $pH < 6,5$ и при растворении обладает высоким положительным зарядом за счет наличия большого количества $—NH_3^+$ -групп; хитозан адсорбируется на отрицательно заряженных поверхностях, агрегирует с полианионными соединениями и хелатами, ионами тяжелых металлов. Стоит отметить, что растворимость в кислых растворах и агрегация с полианионами придает хитозану гелеобразующие свойства [40].

Актуальной задачей на сегодняшний день является изыскание способа получения хитозана, растворимого при нейтральных значениях pH и обладающего при этом более высокой биологической активностью по сравнению с высокомолекулярным хитозаном. Основным препятствием для широкого использования хитозана является его низкая растворимость в воде, неустойчивость в кислых растворах и низкая механическая прочность и плохая пластичность при его использовании в виде пленок [41]. Снижение молекулярной массы полимера путем его деполимеризации – один из подходов к повышению его растворимости. В данном направлении проведено много исследований, где деполимеризация исходного хитозана проводилась с помощью химических реагентов или ферментов [15, 42]. Одним из самых эффективных методов улучшения физико-химических свойств хитозана считается получение его сополимеров.

Применение хитозана в *in situ* системах

pH-чувствительные in situ системы на основе хитозана

В молекулярной цепи хитозана присутствует большое количество гидроксильных и аминогрупп, что делает его чувствительным к pH и перспективным для включения в стимулочувствительные *in situ* системы.

Как было сказано ранее, хитозан плохо растворим при физиологических значениях pH среды. Плохая растворимость обуславливается его структурой и высокой кристалличностью межмолекулярных и внутримолекулярных водородных связей [43].

Хитозан может превращаться в гель за счет физических, химических или координационных связей. Гелеобразование происходит в результате электростатических и гидрофобных взаимодействий, а также

благодаря водородным связям. Этот полимер способен образовывать гель самостоятельно, без добавок [44]. Кислые растворы хитозана при воздействии щелочной среды обуславливают снижение плотности полимера и появление гелей за счет гидрофобных взаимодействий и водородных связей [45]. pH -зависимое поведение хитозана также можно объяснить, как говорилось ранее, наличием первичных аминогрупп, образующих катионную гидрогелевую сетку в воде. Набухание происходит при кислом pH ($pH < pK_a$), а сжатие – при основном pH ($pH > pK_a$) [46]. Из-за своей катионной природы хитозан демонстрирует золь-гель переход при $pH 6,5$ [45].

Для создания pH -чувствительного гидрогеля на основе хитозана необходимо учитывать его способность к набуханию при различных pH . Набухание чувствительных к pH гидрогелей контролируется по изменению электростатического заряда ионизированных боковых участков полимеров, что приводит к электростатическому отталкиванию. Чувствительные к pH гидрогели, имеющие анионные боковые группы, например карбоксильные и сульфатированные группы, называются анионными гидрогелями, тогда как гидрогели, в которых участвуют катионные боковые группы (например, амины), называются катионными гидрогелями. Анионные гидрогели (такие как карбоксиметилхитозан) набухают при повышении pH выше pK_a , что возможно для доставки лекарств при высоком pH (например, pH кишечника составляет 7,4). С другой стороны, катионные гидрогели (такие как хитозан) набухают при низком pH под действием pK_b после возникновения ионизации и полезны для доставки лекарств при кислом pH , например в желудок (рисунки 2–5) [47, 48].

Так, например, в исследовании С. Аффеса показано, что все пленки на основе хитозана набухали сильнее в кислой среде ($pH 1,2$), чем в фосфатном буфере ($pH 7,4$). Данный механизм, по-видимому, связан с превращением функциональной аминогруппы в кислой среде в аммониевую путем протонирования, вызывая электростатическое отталкивание между положительно заряженными группами – NH_3^+ . Такое отталкивание приводит к уменьшению плотности сшивки в кислом растворе и тем самым увеличивает набухание пленок. В то же время низкий уровень степени набухания при нейтральном pH ($pH 7,4$) можно объяснить увеличением плотности сшивки в пленках в результате депротонирования хитозана и его деполимеризованных производных в таких условиях pH [49].

Как правило, для создания pH -чувствительных систем природный полимер хитозан модифицируют различными способами. Обильные амино- и гидроксильные группы в основной цепи хитозана дают полимеру большие возможности для модификации с помощью определенных функциональных групп, что приводит к образованию различных производных хитозана с улучшенными свойствами [50].

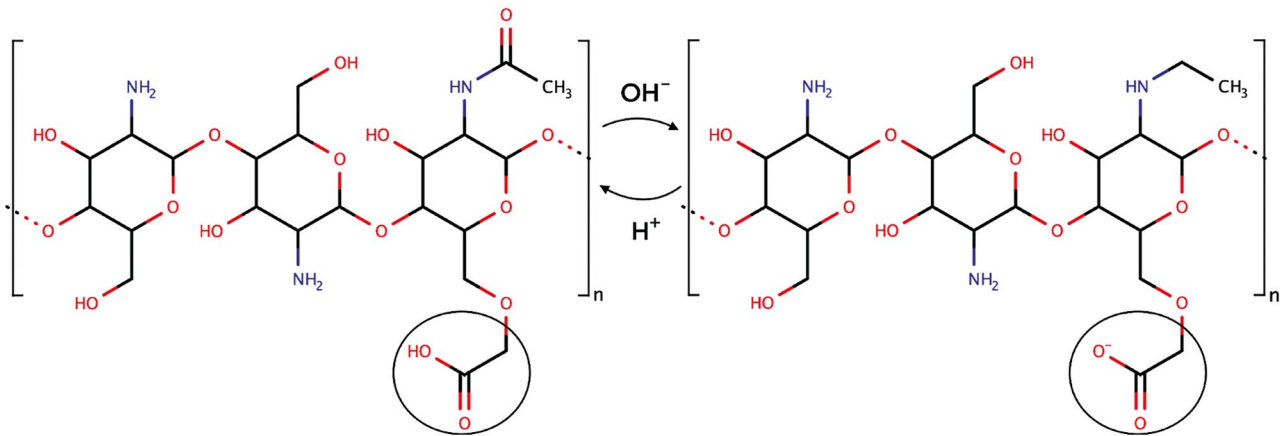


Рисунок 2. Влияние pH на анионный гидрогель на примере карбоксиметилхитозана

Figure 2. Effect of pH on anionic hydrogel using carboxymethyl chitosan as an example

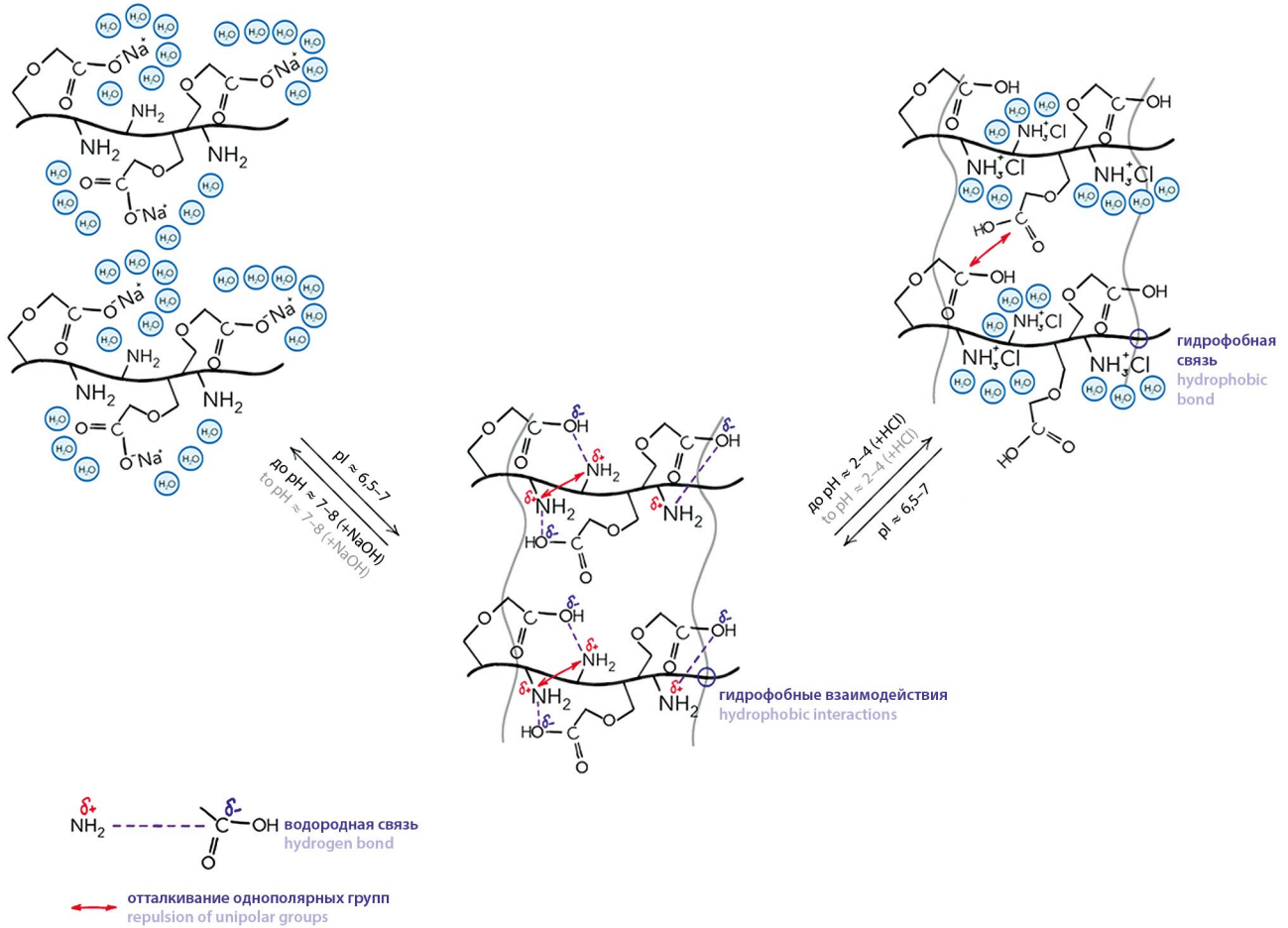


Рисунок 3. Механизм набухания анионного гидрогеля на примере карбоксиметилхитозана

Figure 3. Swelling mechanism of anionic hydrogel on the example of carboxymethyl chitosan

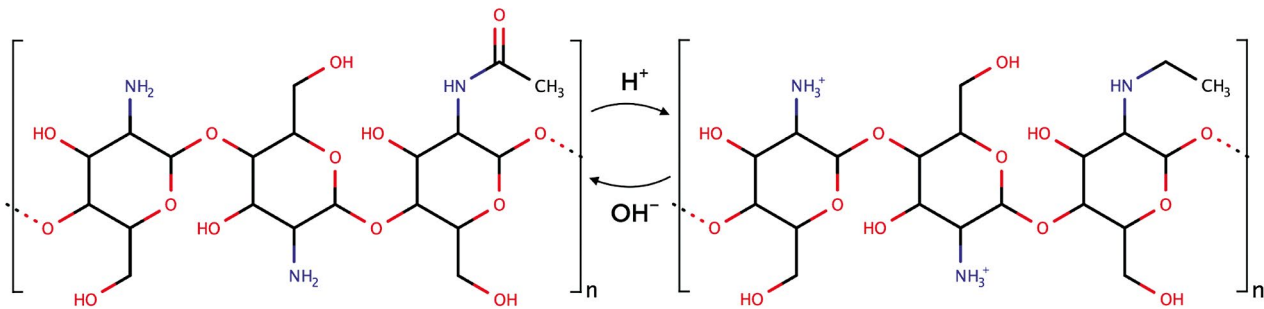


Рисунок 4. Влияние pH на катионный гидрогель на примере хитозана

Figure 4. Effect of pH on cationic hydrogel using chitosan as an example

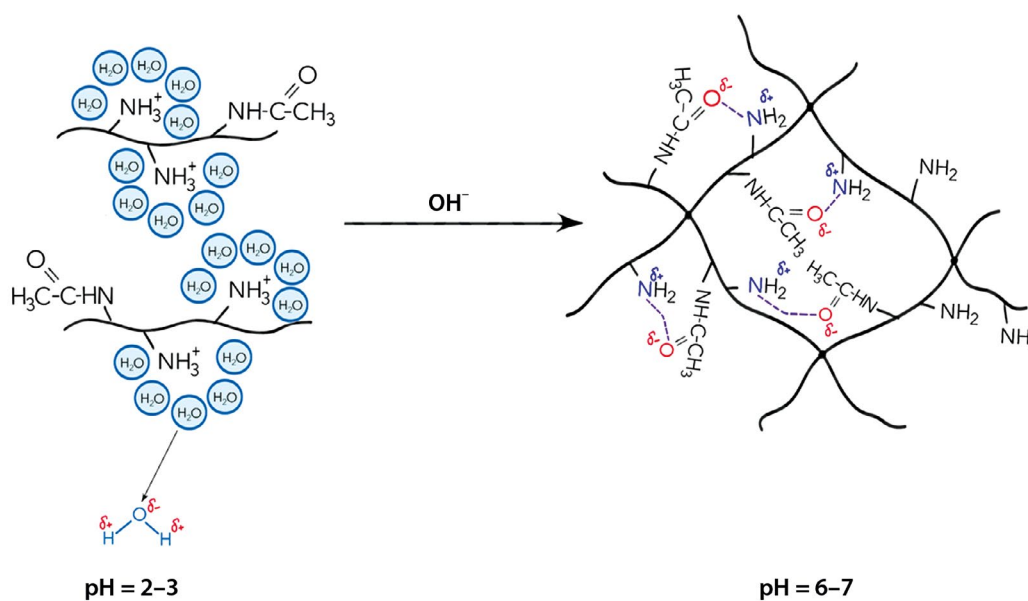


Рисунок 5. Механизм набухания катионного гидрогеля на примере хитозана

Figure 5. Mechanism of swelling of cationic hydrogel on the example of chitosan

Модифицированные производные хитозана

Многие исследователи предлагали улучшить физико-химические свойства природного хитозана и его способность к гелеобразованию путем создания производных хитозана.

Так, Цзянь Вэй и др. смогли получить водорастворимое фосфорилированное производное (степень замещения фосфорной кислотой составила 18,4%) хитозана в качестве потенциально нового иммунного адъюванта для вакцины. Авторы исследования отметили, что полимер хорошо растворяется в воде при $\text{pH} < 7,0$, но начинает образовывать гель при $\text{pH} > 7,0$. Таким образом, был сделан вывод, что нейтральные водные растворы данного полимера образуют гелевую сетку после инъекции *in vivo*. Кроме того, авторы измерили эффективность загрузки антигенного белка овальбумина и его кумулятивное высвобождение *in vitro* из гидрогеля [51].

В следующей работе К. Цао с коллегами попытались модифицировать хитозан путем присоединения метокси-поли(этиленгликоля) (mPEG) к хитозану посредством образования амидных связей, в результате чего получили mPEG-g-хитозан. Это позволило придать гидрофильные свойства полученному полимеру [52]. Данная система обладала сразу несколькими свойствами: термочувствительностью, pH-чувствительностью и чувствительностью к концентрации солей. Переход «золь – гель» гидрогеля с $\text{pH} 8,5$ произошел при $35\text{ }^\circ\text{C}$, и соответствующий модуль упругости был в 80 раз выше, чем у гидрогеля с $\text{pH} 2,5$, что позволяет предположить, что гидрогель с $\text{pH} 8,5$ более прочный и с ним легче обращаться по сравнению с его аналогом после гелеобразования. Авторы отмечают, что при $\text{pH} 4,0$ 1,5%-й раствор mPEG-g-хитозана существует в виде прозрачного золя. При повышении pH до 7,5 и 8,5 раствор пре-

терпелвал золь-гель переход и превращался в стационарный нетекучий гель. Считается, что присутствие ионных компонентов в хитозане придает гидрогелям чувствительность к рН [53].

Протонирование или депротонирование аминогрупп хитозана протекает в сочетании с изменениями рН выше или ниже значения рКа хитозана (6,5) [54, 55]. При рН ниже значения рКа аминогруппы хитозана протонировались и, вероятно, избыточно сольватировались водой, предотвращая тем самым упаковку mPEG-g-хитозановых цепей и последующее гелеобразование. При рН выше значения рКа амины хитозана депротонировались и не ионизировались, что стимулировало дегидратацию хитозана и приводило к образованию гидрофобной сетки и в итоге к образованию гелевой фазы [52].

Соли хитозана являются перспективным сырьем для получения рН-зависимых *in situ* систем, в первую очередь из-за простоты их синтеза. Так, в исследовании была разработана рН-зависимая система для доставки ванкомицина гидрохлорида [56]. Соли хитозана с янтарной, адипиновой и субериновой кислотой получали распылительной сушкой и покрывали стеариновой кислотой. В работе отмечено выраженное набухание при увеличении основности (рН 7,6). Кроме того, показано влияние покрытия оболочкой на высвобождение ванкомицина. Так, наблюдалась корреляция между доступностью ванкомицина и способностью солей хитозана набухать. В частности, высвобождение лекарственного средства из непокрытых микрочастиц при различных значениях рН составляло: рН 2,0 > рН 7,6 > рН 5,5. Профили высвобождения ванкомицина из микрочастиц, покрытых оболочкой, показали, что присутствие стеариновой кислоты значительно снижало доступность препарата с течением времени по сравнению с системами без покрытия при рН 2,0. Однако при рН 7,6 наличие покрытия не ограничивало высвобождение лекарственного средства из-за физико-химических свойств стеариновой кислоты, характеризующихся повышенной растворимостью при щелочном рН по сравнению с кислотным рН.

Одним из направлений исследования производных хитозана является получение оснований Шиффа. В работе было разработано два гидрогеля с различной плотностью сшивания благодаря химическим связям Шиффа [57]. Эти иминные связи чувствительны к рН и гидролизуются быстрее при более низком рН. Используя преимущество низкого рН вагинального канала, эти гидрогели были разработаны для использования в качестве пленок для интравагинальной доставки терапевтических средств. Матрицы были загружены обычным лекарством от рака шейки матки, гидрохлоридом доксорубина и негормональным контрацептивом, дигидратом глюконата железа (II). Результаты исследований разложения и набухания показали, что эти гидрогели являются рН-чувствительными системами, которые могут быстрее разлагаться в средах с низким значением рН (4,5).

В исследовании С. Омиди и др. был разработан и синтезирован новый хитозановый гидрогель путем сшивания графена, хитозана и целлюлозных нановискерос с помощью синтетического диальдегида [58]. В качестве действующих веществ были использованы доксорубин и куркумин. Гидрогель имел гибкую структуру и реагировал на изменение рН. Поскольку полученный в данном исследовании гидрогель демонстрировал устойчивость при физиологических значениях среды, были проведены тесты *in vitro* и *in vivo*. В обоих случаях тесты проводили в среде фосфатного буфера при значениях рН 7,4 и 5,4. Для испытания гелеобразования *in vitro* продукты, полученные в результате реакций, смешивали и встряхивали в течение 20 с, затем смесь быстро набирали в шприц и вводили в фосфатный буфер с заданным значением рН. На основе полученных данных было отмечено, что наилучшее высвобождение действующего вещества наблюдается при значении рН 5,4.

Помимо исследований матриц, нагруженных противоопухолевыми препаратами, основания Шиффа на основе хитозана могут использоваться для доставки адипогенного фактора – инсулина. В исследовании матрица была получена по реакции между сукцинатом хитозана и альдегидом гиалуроновой кислоты [59]. Также в состав композита были введены дополнительно ферменты, усиливающие разложение матрицы и высвобождение инсулина. Кинетику набухания определяли при рН = 7,4, было выявлено, что наличие глюкозы усиливает процесс набухания. Таким образом, был получен гидрогель, обладающий свойством биодеградации и рН-зависимыми свойствами, которые проявлялись в высвобождении инсулина.

Таким образом, можно сделать следующий вывод о применении рН-чувствительных *in situ* систем на основе хитозана. Системы на основе хитозана как индивидуального компонента практически не применяются ввиду низкой растворимости данного соединения при нейтральных и щелочных значениях рН, из-за чего чаще всего используются либо модифицированные формы хитозана, либо его комбинации с иными, рН-чувствительными полимерами или дополнительными вспомогательными веществами (например, бета-глицерофосфат), которые улучшают растворимость хитозана в воде и стабилизируют рН растворов на его основе. Также важно отметить, что при использовании хитозана как индивидуальной матрицы для создания *in situ* системы доставки необходимо добавление кислот (например, молочная кислота, соляная кислота) для повышения растворимости за счет протонирования аминогрупп этого полимера, а для получения истинного раствора хитозана требуется низкая концентрация полимера (0,5–1 %) и создание довольно низкого значения рН (от 2 до 3). Во многих исследованиях, посвященных *in situ* системам на основе хитозана, где описывается золь-гель переход растворов хитозана при

повышении pH, изначальный раствор полимера часто сам по себе является гидрогелем, чья вязкость повышается под влиянием исследуемого фактора, поэтому нельзя точно утверждать наличие обратимого перехода системы из раствора в гель.

Важно отметить, что pH-чувствительные системы на основе хитозана в перспективе способны улучшить комплаентность пациентов и повысить терапевтический эффект фармацевтической композиции за счет антибактериальной и ранозаживляющей активности самого полимера. Однако несмотря на наличие имеющихся сведений о способности данных систем обеспечивать контролируемое и пролонгированное высвобождение действующего вещества, о влиянии pH, о гелеобразующей способности и вязкости полученных гидрогелей, стоит отметить, что до сих пор для многих производных хитозана нет достоверной информации о фазовом переходе. Широкое распространение pH-чувствительных систем осложняется еще и тем, что не всегда удается получить состав, способный образовывать устойчивый и стабильный гель при физиологическом уровне pH.

Чтобы повысить интерес к таким системам, необходимо проведение большего числа исследований, доказывающих возможность стабильного фазового перехода «золь – гель». Также важным является более глубокое изучение вопроса применения pH-зависимых систем на основе хитозана *in vivo*. К сожалению, данных о токсикологических исследованиях на сегодняшний день не опубликовано.

Хитозан в комбинации с другими стимулочувствительными гелеобразователями

Многие работы иллюстрируют способность хитозана к гелеобразованию. Однако, учитывая все вышеперечисленные проблемы и недостатки хитозана как индивидуального компонента подобных систем, для создания устойчивой и стабильной *in situ* системы некоторые авторы применяют в комбинации с хитозаном другой чувствительный к стимулам гелеобразователь.

С. Гупта и др. для разработки *in situ* pH-чувствительной системы доставки тимолола малеата предложили использовать хитозан вместе с карбополом. Так, было предложено два состава (с содержанием хитозана 0,5 % мас./об. и карбопола 0,3 % или 0,4 % мас./об.), которые при pH слезной жидкости (примерно 6,98–7,43) способны к гелеобразованию. Помимо этого, отмечается потенциал данной системы доставки в разработке системы с пролонгированным высвобождением. Примечательно, что состав с 0,4 % мас./об. карбополом и 0,5 % мас./об. хитозаном продемонстрировал увеличение биодоступности в 2,481 раза по сравнению с глазными каплями Глюкомол®. Исследуемые составы показали отличную переносимость. После введения в глаз кролика два раза в день в течение 7 дней не было отмечено ни-

каких повреждений или аномальных клинических признаков повреждения роговицы, радужной оболочки и конъюнктивы [60].

В следующей работе этого коллектива авторов также описывается разработка системы доставки малеата тимолола, но уже на основе комбинации хитозана и полоксамера 407 (Pluronic F-127) [61]. Как отмечают авторы исследования, данная система обладала мультисенситивностью (реагировала на несколько стимулов). Результаты исследований ясно показывают, что состав превращается в гель при повышении pH, что приводит к увеличению вязкости. Было установлено, что раствор при комнатной температуре и pH 6,0–6,2 быстро переходит в гелевую фазу при достижении pH слезной жидкости (pH 7,4) и физиологической температуре (37 °C). Отмечается, что в искусственной слезной жидкости (pH 7,4) препарат демонстрирует профиль замедленного высвобождения. Исследования транскорнеальной проницаемости препарата *in vitro* показали высокое проникновение вещества через роговицу козы – (63,41 ± 2,6) %, что можно объяснить хорошо известным свойством хитозана усиливать трансмукозное действие.

Таким образом, можно констатировать, что различные комбинации хитозана с иными стимулочувствительными полимерами способны к фазовому переходу в надлежащих условиях. Приведенные выше исследования подтверждают это. Однако, по нашему мнению, в данных системах большой вклад в способность к гелеобразованию вносит не хитозан, а другие гелеобразователи. Самыми распространенными и изученными из них являются карбопол, полоксамер 407, альгинаты и др.

Термочувствительные *in situ* системы на основе хитозана

Термочувствительные *in situ* системы представляют большой интерес в системах терапевтической доставки. Их потенциальное применение в тканевой инженерии в качестве инъекционных депо-систем особенно отмечается экспертами [12]. Механизм термочувствительного золь-гель перехода рассматриваемых полимерных систем доставки ЛС основывается на нескольких основных стадиях.

1. Набухание полимера в водной среде (гидратация гидрофобных и гидрофильных групп высокомолекулярного соединения с образованием водородных связей) и его дальнейшее растворение.
2. При повышении температуры гидрофобные звенья дегидратируются и проявляют склонность к межмолекулярному гидрофобному взаимодействию и агрегации за счет разрыва водородных связей с водой. Данный процесс можно рассматривать как мицеллообразование.
3. Образовавшиеся мицеллы при достижении раствором критической температуры гелеобразования связываются в структуры различных гео-

метрических форм и в итоге формируют сетку геля за счет взаимодействия между гидрофильными элементами короны мицелл (за счет водородных связей и ван-дер-ваальсова взаимодействия) [62].

Во многих исследованиях как один из перспективных полимеров в данной категории рассматривался хитозан. Несмотря на его гипотетический потенциал, не имеется исследований, подтверждающих наличие у индивидуальных растворов хитозана термочувствительных свойств при физиологической температуре. Одной из причин является его низкая растворимость в воде при нейтральном значении pH за счет низкого значения гидрофильно-липофильного баланса хитозана. Поэтому для растворения хитозана требуется добавление кислот. Однако при снижении pH получаемых растворов возрастает электростатическое отталкивание между заряженными аминогруппами хитозана, что препятствует агрегации мицелл в единую сетку геля при повышении температуры раствора. При дальнейшем повышении pH водных индивидуальных растворов хитозана и деионизации аминогрупп полимера молекулы хитозана образуют мицеллы, однако их гидрофильная часть недостаточно разветвлена для межмицеллярного взаимодействия и образования геля при повышении температуры [62, 63].

Таким образом, водные растворы хитозана не способны к температурочувствительному переходу без добавления в композицию сшивающих агентов или без модификации молекул рассматриваемого полимера. Наличие большого количества аминогрупп и гидроксильных групп позволяет улучшить физико-химические свойства хитозана. В настоящее время проводится множество исследований термочувствительных *in situ* систем на основе производных хитозана. Ниже будут рассмотрены некоторые из них.

Большой интерес у исследователей вызывает разработка термочувствительной *in situ* системы на основе хитозана и β -глицерофосфата (β ГФ) в качестве сшивающего агента.

В исследовании изучались термочувствительные системы хитозана совместно с альгинатными микросферами для инъекционной доставки диклофенака. В данные системы также включали β -глицерофосфат (β ГФ) и поллоксамер 407 (Pluronic F-127) в различных концентрациях [64].

Отмечается, что раствор хитозана и/или β ГФ представлял собой гомогенную и прозрачную жидкость при комнатной температуре, тогда как раствор хитозана, нагруженный альгинатными микросферами, был непрозрачным. Оба этих раствора быстро превратились в нетекучий гель при температуре, близкой к температуре тела. Влияние содержания альгинатных микросфер на термочувствительность хитозановых гидрогелей оценивали путем добавления различного количества микросфер в хитозановые гидрогели. Установлено, что гидрогели хитозана в сочетании с

альгинатными микросферами или без них представляют собой нейтральные растворы при комнатной температуре и способны быстро превращаться в гель в течение 5 мин при 37 °С. Более того, с увеличением содержания альгинатных микросфер в составе время гелеобразования гидрогелей хитозана и/или β ГФ соответственно уменьшалось. В ходе реологических исследований было показано, что вязкость гидрогелей хитозана и/или β ГФ при 20 °С была меньше, чем при 35 °С, что свидетельствует о том, что гидрогели хитозана и/или β ГФ находились в зольном состоянии при комнатной температуре и переходили в состояние геля при 35 °С. Температура золь-гель перехода гидрогелей плацебо хитозана и/или β ГФ, гидрогелей хитозана с диклофенаком и гидрогелей хитозана с диклофенаком, загруженным в альгинатные микросферы, была ниже 37 °С, что обеспечивало золь-гель-переход *in vivo*.

В исследовании [65] изучалась интраназальная термочувствительная система доставки транексамовой кислоты с применением хитозана и β ГФ. Оптимальный состав комплекса с быстрым термозависимым гелеобразованием состоял из раствора хитозана (2 % мас./об.) и раствора β ГФ (49 % мас./об.) в соотношении 4:2,5 [66]. В сравнении с модельной системой без действующего вещества гелеобразование 1%-го раствора комплекса, включающего транексамовую кислоту, протекало в 1,24 раза быстрее и составило приблизительно 5 мин, что также выше скорости мукоцилиарного клиренса и быстрее, чем в случае с другими термочувствительными назальными аналогами на основе хитозана [67]. Такое наблюдение можно объяснить тем, что механизм термочувствительного гелеобразования системы возникает в результате гидрофобных взаимодействий между полимерными цепями хитозана, когда гидратный слой, окружающий его цепи, разрушается при высоких температурах [68, 69]. Разработанный состав комплекса с транексамовой кислотой продемонстрировал еще и обратимое гелеобразование при воздействии термических циклов нагревания и охлаждения. В дальнейшем была установлена точная температура гелеобразования, которая составила около 32 °С, что находится в пределах физиологической температуры полости носа человека (32–35 °С) [70–72].

В схожей работе авторы утверждают, что увеличение температуры не влияет на значение pH хитозана/глицерофосфатной системы [63]. Авторы сделали вывод о том, что температуры гелеобразования гидрогелей хитозан- β ГФ изменяются в диапазоне 32–37 °С путем изменения молекулярной массы и степени деацетилирования хитозана и концентраций глицерофосфата. Структура гидрогеля со степенью деацетилирования хитозана 88 % более пористая, однородная и связанная, чем у гидрогеля со степенью деацетилирования хитозана 80 %.

Стоит отметить, что β ГФ используется для нейтрализации слишком высокого значения pH фазового перехода. Так, термочувствительные инъекционные

гидрогели на основе хитозана, включающие нейтрализацию pH с использованием динатрия β ГФ, имеют температуру гелеобразования около 37 °С. Это объясняется образованием водородных связей между цепями хитозана за счет уменьшения сил отталкивания (в связи с основностью соли) и дальнейших гидрофобных взаимодействий во время повышения температуры [85]. Хотя применение нейтрализованных бета-глицерофосфатом гидрогелей полезно, сообщается о том, что для достижения физиологического уровня pH требуются высокие концентрации β ГФ, что снижает цитосовместимость композиции [73].

Еще один пример композиции хитозана с бета-глицерофосфатом приведен в исследовании, в котором изучали фазовый переход гидрогеля на основе лактата хитозана и β ГФ. Температура золь-гель-перехода была определена на основе колебательных тестов при постоянном значении деформации (угловая частота $\omega = 5 \text{ с}^{-1}$ и амплитуда деформации $\gamma = 1 \%$). Процессы гелеобразования проводились в неизотермических условиях при постоянной скорости нагрева $1 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{мин}^{-1}$. Растворы тестировались при температуре от 4 °С (температура хранения образцов) до 60 °С. Авторам удалось установить, что 2,5%-й раствор лактата хитозана и β ГФ переходит в состояние геля при температуре, близкой к физиологической температуре тела – 36,0 °С [74].

Ранее была рассмотрена pH-чувствительная система на основе **mPEG-g-хитозана**. Продемонстрировано, что, помимо pH-чувствительности, данный состав имеет также свойства термочувствительности. Так, авторы отмечают легкую текучесть раствора при температуре 4 °С. Однако замечено, что при 37 °С 1,5%-й раствор mPEG-g-хитозана в состоянии геля трудно набрать шприцем, и при инъекции происходит значительное образование пузырьков воздуха [52].

В механизме гелеобразования данной системы важно отметить, что цепи mPEG-g-хитозана распределены случайным образом при более низких температурах (4 °С) и в них преобладают гидрофильные взаимодействия, в то время как при повышении температуры (37 °С) добавленная тепловая энергия способствует перестройке полимерной цепи, что приводит к золь-гель переходу за счет дегидратации неполярных звеньев полимера и увеличения гидрофобных взаимодействий. При этом цепи mPEG-g-хитозана образуют агрегаты, приводящие к образованию гелевой сетки. Однако повышение концентрации mPEG-g-хитозана в растворе нарушает формирование гелевой сетки. Высокие концентрации хитозана и mPEG нарушают оптимальную упаковку полимера, тем самым предотвращая образование геля. Аминогруппы на mPEG-g-хитозане становятся протонированными, когда pH системы падает ниже pK_a хитозана. Таким образом, гидрофобные взаимодействия между полимерными цепями, необходимые для упаковки и образования гелевой сетки, уменьшаются из-за электроста-

тических сил отталкивания между протонированными аминогруппами хитозана. Образование геля затруднено из-за уменьшения взаимодействия полимерных цепей [75].

Термочувствительные системы на основе производных хитозана обладают хорошими перспективами для использования их в дальнейшей клинической практике. В отличие от pH-чувствительных *in situ* систем имеется гораздо большее количество информации о них и проведенных с ними испытаний. Помимо этого, широкому распространению систем на основе хитозана способствует доказанная повышенная биодоступность препаратов и их способность к модифицированному высвобождению, что повышает комплаентность пациентов. Особо стоит подчеркнуть способность некоторых систем к обратимому гелеобразованию без снижения стабильности, что выгодно как для процесса производства, так и обращения с ними. Сразу в нескольких работах имеются сведения об удовлетворительных показателях вязкости полученных составов, а что еще важнее – о температуре фазового перехода в пределах физиологических значений, что, конечно, ускорит последующие исследования термочувствительных систем на основе хитозана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе систематизирована имеющаяся информация о хитозане: структуре, получении и физико-химических свойствах. Также освещена проблема использования хитозана и его производных в pH-чувствительных и термочувствительных *in situ* системах и приведены примеры разработок. На основе приведенных данных можно констатировать, что хитозан является перспективным биополимером с широким спектром свойств. Особо стоит отметить, что чистый хитозан без модификаций и дополнительных сшивающих агентов не способен к стимулочувствительному переходу, однако является эффективным гелеобразователем в диапазоне pH 5–6, и его композиции обладают высокой мукоадгезией. В связи с этим на сегодняшний день существуют некоторые ограничения использования природного хитозана как индивидуального эксципиента. Поэтому применение хитозана совместно с другими полимерами в *in situ* системах остается актуальной проблемой. Для ее решения необходимы дальнейшие исследования комбинаций полимеров с хитозаном и условий, ведущих к обратимому стимулочувствительному переходу, для данных систем доставки лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Панов Д. А. Влияние хитозана на физико-химические свойства альгината натрия. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия*. 2018;4(70):311–319.

2. Порфирьева Н. Н., Семина И. И., Мустафин Р. И., Хуторянский В. В. Интраназальное введение как способ доставки лекарств в головной мозг (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):117–127. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
3. Бахрушина Е. О., Демина Н. Б., Шумкова М. М., Родюк П. С., Шуликина Д. С., Краснюк И. И. Интраназальные системы доставки *in situ*: перспективы применения и основные фармацевтические аспекты разработки (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):54–63. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63.
4. Егоров А. Р., Хрусталева В. Н., Хубиев О. М., Белый А. Э., Голубев Р. А., Есакова В. Е. Новые функционализированные производные хитозана для пролонгированного высвобождения ципрофлоксацина. *Информация и образовательные границы коммуникаций*. 2023;15(23):258–261.
5. Abourehab M. A. S., Pramanik S., Abdelgawad M. A., Abualsoud B. M., Kadi A., Ansari M. J., Deepak A. Recent Advances of Chitosan Formulations in Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18):10975. DOI: 10.3390/ijms231810975.
6. James H. P., John R., Alex A., Anoop K. R. Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2014;4(2):120–127. DOI: 10.1016/j.apsb.2014.02.005.
7. Wells C. M., Harris M., Choi L., Murali V. P., Delbuque Guerra F., Jennings J. A. Stimuli-Responsive Drug Release from Smart Polymers. *Journal of Functional Biomaterials*. 2019;10(3):34. DOI: 10.3390/jfb10030034.
8. Демина Н. Б., Бахрушина Е. О., Бардаков А. И., Краснюк И. И. Биофармацевтические аспекты дизайна интраназальных лекарственных форм. *Фармация*. 2019;68(3):12–17. DOI: 10.29296/25419218-2019-03-02.
9. Lu B., Xiong S.-B., Yang H., Yin X.-D., Zhao R.-B. Mitochondria-loaded BSA nanospheres and chitosan nanospheres for local injection against breast cancer and its lymph node metastases. II: Tissue distribution and pharmacodynamics. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;307(2):175–181. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.09.038.
10. Budiarto I. J., Rini N. D. W., Tsalsabila A., Birowosuto M. D., Wibowo A. Chitosan-Based Smart Biomaterials for Biomedical Applications: Progress and Perspectives. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2023;9(6):3084–3115. DOI: 10.1021/acsbomaterials.3c00216.
11. Luckanagul J. A., Pitakchatwong C., Ratnatilaka Na Bhuket P., Muangnoi C., Rojsitthisak P., Chirachanchai S., Wang Q., Rojsitthisak P. Chitosan-based polymer hybrids for thermo-responsive nanogel delivery of curcumin. *Carbohydrate Polymers*. 2018;181:1119–1127. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.027.
12. Prabakaran M., Mano J. F. Stimuli-responsive hydrogels based on polysaccharides incorporated with thermo-responsive polymers as novel biomaterials. *Macromolecular Bioscience*. 2006;6(12):991–1008. DOI: 10.1002/mabi.200600164.
13. Xing L., Fan Y.-T., Shen L.-J., Yang C.-X., Liu X.-Y., Ma Y.-N., Qi L.-Y., Cho K.-H., Cho C.-S., Jiang H.-L. pH-sensitive and specific ligand-conjugated chitosan nanogels for efficient drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;141:85–97. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.237.
14. Мочалова А. Е., Будруев А. В., Олейник А. В., Смирнова Л. А. Термо- и pH-чувствительные гидрогели на основе хитозана, полученные с использованием диазида терефталевой кислоты. *Перспективные материалы*. 2014;5:61–65.
15. Строкова Н. Г., Подкорытова А. В. Современные способы переработки хитинсодержащего сырья. *Труды ВНИРО*. 2018;170:124–52.
16. Прокопчук Н. Р., Шашок Ж. С., Вишневецкий К. В., Прищепенко Д. В., Шкодиц В. Ф. Получение нановолокон из биополимера хитозана. *Вестник технологического университета*. 2015;18(7):115–118.
17. Kou S. G., Peters L. M., Mucalo M. R. Chitosan: A review of sources and preparation methods. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;169:85–94. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.005.
18. Soon C. Y., Tee Y. B., Tan C. H., Rosnita A. T., Khalina A. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;108:135–42. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138.
19. Teli M. D., Sheikh J. Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2012;50(5):1195–1200. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.04.003.
20. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 2015;13(3):1133–1174. DOI: 10.3390/md13031133.
21. El Knidri H., Belaabed R., Addaou A., Laajeb A., Lahsini A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;120(Part A):1181–1189. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139.
22. Jo G.-H., Park R.-D., Jung W.-J., Enzymatic production chitin from crustacean shell waste. In: Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC Press; 2010. P. 37–45. DOI: 10.1201/EBK1439816035-c4.
23. Doan C. T., Tran T. N., Nguyen V. B., Vo T. P. K., Nguyen A. D., Wang S.-L. Chitin extraction from shrimp waste by liquid fermentation using an alkaline protease-producing strain, *Brevibacillus parabrevis*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;131:706–715. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.117.
24. Arbia W., Arbia L., Adour L., Amrane A. Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods – A Review. *Chitin Recovery Using Biological Methods, Food Technol. Biotechnol.* 2013;51(1):12–25.
25. Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC press; 2010. 666 p. DOI: 10.1201/EBK1439816035.
26. Свирищевская Е. В., Зубарева А. А., Бойко А. А., Шустова О. А., Гречихина М. В., Шагдарова Б. Ц., Варламов В. П. Анализ токсичности и биосовместимости производных хитозана с различными физико-химическими свойствами. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2016;52(5):467–475. DOI: 10.7868/S0555109916050159.
27. Новиков В. Ю., Деркач С. Р., Коновалова И. Н., Кучина Ю. А., Долгопятова Н. В. Хитозан из панцирей ракообразных северных морей: Получение и физико-хи-

- мические свойства. В сб.: Сборник материалов IV Всероссийской конференции. 23–28 сентября 2018 г. Киров; 2018. С. 136–137.
28. Nilsen-Nygaard J., Strand S. P., Vårum K. M., Draget K. I., Nordgård C. T. Chitosan: Gels and interfacial properties. *Polymers*. 2015;7(3):552–579. DOI: 10.3390/polym7030552.
 29. Kean T., Thanou M. Chitin and Chitosan: Sources, Production and Medical Applications. In: Williams P., editor. *Renewable Resources for Functional Polymers and Biomaterials*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2011. P. 292–318. DOI: 10.1039/9781849733519-00292.
 30. Khan T. A., Peh K. K., Ch'ng H. S. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2002;5(3):205–212.
 31. Hussain R., Iman M., Maji T. K. Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan-gelatin complex microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Application*. 2013;2(4):4–12.
 32. Gerasimenko D. V., Avdienko I. D., Bannikova G. E., Zueva O. Yu., Varlamov V. P. Antibacterial Effects of Water-Soluble Low-Molecular-Weight Chitosans on Different Microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2004;40(3):253–257. DOI: 10.1023/B:ABIM.0000025947.84650.b4.
 33. Qin C., Du Y., Xiao L., Li Z., Gao X. Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2002;31(1–3):111–117. DOI: 10.1016/S0141-8130(02)00064-8.
 34. Ilyina A. V., Tikhonov V. E., Albulov A. I., Varlamov V. P. Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry*. 2000;35(6):563–568. DOI: 10.1016/S0032-9592(99)00104-1.
 35. Allan C. R., Hadwiger L. A. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology*. 1979;3(3):285–287. DOI: 10.1016/S0147-5975(79)80054-7.
 36. Li Q., Dunn E. T., Grandmaison E. W., Goosen M. F. A. Applications and Properties of Chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 1992;7(4):370–397. DOI: 10.1177/088391159200700406.
 37. Casey L. S., Wilson L. D. Investigation of Chitosan-PVA Composite Films and Their Adsorption Properties. *Journal of Geoscience and Environment Protection*. 2015;03(02):78–84. DOI: 10.4236/gep.2015.32013.
 38. Mitani T., Moriyama A., Ishii H. Heavy Metal Uptake by Swollen Chitosan Beads. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1992;56(6):985. DOI: 10.1271/bbb.56.985.
 39. Kurita K., Sannan T., Iwakura Y. Studies on chitin. VI. Binding of metal cations. *Journal of Applied Polymer Science*. 1979;23(2):511–515. DOI: 10.1002/app.1979.070230221.
 40. Холявка М. Г., Олшанникова С. С., Артюхов В. Г. Способ получения препарата папаина в геле на основе пищевого хитозана и сукцината хитозана. Патент РФ на изобретение № 2712690 С1. 07.03.2019.
 41. Михайленко М. А., Шахтшнейдер Т. П., Антонов И. М., Кузнецова С. А., Брызгин А. А. Способ получения сополимеров хитозана с акриламидом как pH-чувствительного средства доставки биологически активных веществ. Патент РФ на изобретение № 2786240 С1. 21.12.2021.
 42. Шагдарова Б. Ц., Лопатин С. А., Коновалова М. В., Ильина А. В., Албулов А. И., Варламов В. П. Способ получения низкомолекулярного хитозана и олигомеров хитозана. Патент РФ на изобретение № 2627870 С1. 12.08.2016.
 43. Wang W., Meng Q., Li Q., Liu J., Zhou M., Jin Z., Zhao K. Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(2):487. DOI: 10.3390/ijms21020487.
 44. Croisier F., Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*. 2013;49(4):780–792. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009.
 45. Irimia T., Dinu-Pirvu C.-E., Ghica M. V., Lupuleasa D., Muntean D.-L., Udeanu D. I., Popa L. Chitosan-Based In Situ Gels for Ocular Delivery of Therapeutics: A State-of-the-Art Review. *Marine Drugs*. 2018;16(10):373. DOI: 10.3390/md16100373.
 46. Chatterjee S., Chi-Leung Hui P. Review of Stimuli-Responsive Polymers in Drug Delivery and Textile Application. *Molecules*. 2019;24(14):2547. DOI: 10.3390/molecules24142547.
 47. Ullah F., Othman M. B. H., Javed F., Ahmad Z., Akil H. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*. 2015;57:414–433. DOI: 10.1016/j.msec.2015.07.053.
 48. Rizwan M., Yahya R., Hassan A., Yar M., Azzahari A., Selvanathan V., Sonsudin F., Abouloula C. pH Sensitive Hydrogels in Drug Delivery: Brief History, Properties, Swelling, and Release Mechanism, Material Selection and Applications. *Polymers*. 2017;9(4):137. DOI: 10.3390/polym9040137.
 49. Affes S., Aranaz I., Acosta N., Heras Á., Nasri M., Maalej H. Chitosan derivatives-based films as pH-sensitive drug delivery systems with enhanced antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;182:730–742. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.014.
 50. Du H., Liu M., Yang X., Zhai G. The design of pH-sensitive chitosan-based formulations for gastrointestinal delivery. *Drug Discovery Today*. 2015;20(8):1004–1011. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.03.002.
 51. Wei J., Xue W., Yu X., Qiu X., Liu Z. pH Sensitive phosphorylated chitosan hydrogel as vaccine delivery system for intramuscular immunization. *Journal of Biomaterials Applications*. 2017;31(10):1358–1369. DOI: 10.1177/0885328217704139.
 52. Tsao C. T., Hsiao M. H., Zhang M. Y., Levengood S. L., Zhang M. Chitosan-PEG hydrogel with sol-gel transition triggerable by multiple external stimuli. *Macromolecular Rapid Communications*. 2015;36(3):332–338. DOI: 10.1002/marc.201400586.
 53. Fu C., Wang S., Feng L., Liu X., Ji Y., Tao L., Li S., Wei Y. Hierarchically porous chitosan-PEG-silica biohybrid: synthesis and rapid cell adsorption. *Advanced Healthcare Materials*. 2013;2(2):302–305. DOI: 10.1002/adhm.201200166.
 54. Hsu L.-W., Lee P.-L., Chen C.-T., Mi F.-L., Juang J.-H., Hwang S.-M., Ho Y.-C., Sung H.-W. Elucidating the signaling mechanism of an epithelial tight-junction opening induced by chitosan. *Biomaterials*. 2012;33(26):6254–6263. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.013.
 55. Lee S. Y., Lee Y., Kim J. E., Park T. G., Ahn C.-H. A novel pH-sensitive PEG-PPG-PEG copolymer displaying a closed-loop sol-gel-sol transition. *Journal of Materials Chemistry*. 2009;19(43):8198–8201. DOI: 10.1039/b912540j.
 56. Bigucci F., Luppi B., Musenga A., Zecchi V., Cerchiara T. Chitosan Salts Coated with Stearic Acid as Colon-Specific Delivery Systems for Vancomycin. *Drug Delivery*. 2008;15(5):289–293. DOI: 10.1080/10717540802006468.

57. Jalalvandi E., Shavandi A. In situ-forming and pH-responsive hydrogel based on chitosan for vaginal delivery of therapeutic agents. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2018;29(10):158. DOI: 10.1007/s10856-018-6166-x.
58. Omidi S., Pirhayati M., Kakanejadifard A. Co-delivery of doxorubicin and curcumin by a pH-sensitive, injectable, and in situ hydrogel composed of chitosan, graphene, and cellulose nanowhisker. *Carbohydrate Polymers*. 2020;231:115745. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115745.
59. Tan H., Rubin J.P., Marra K.G. Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for adipose tissue regeneration. *Organogenesis*. 2010;6(3):173–180. DOI: 10.4161/org.6.3.12037.
60. Gupta S., Vyas S.P. Carbopol/chitosan based pH triggered in situ gelling system for ocular delivery of timolol maleate. *Scientia Pharmaceutica*. 2010;78(4):959–976. DOI: 10.3797/scipharm.1001-06.
61. Gupta H., Jain S., Mathur R., Mishra P., Mishra A. K., Velpandian T. Sustained ocular drug delivery from a temperature and pH triggered novel in situ gel system. *Drug Delivery*. 2007;14(8):507–515. DOI: 10.1080/10717540701606426.
62. Zarrintaj P., Jouyandeh M., Ganjali M. R., Hadavand B. S., Mozafari M., Sheiko S. S., Vatankhah-Varnoosfaderani M., Gutiérrez T. J., Saeb M. R. Thermo-sensitive polymers in medicine: A review. *European Polymer Journal*. 2019;117:402–423. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.05.024.
63. Zhou H. Y., Jiang L. J., Cao P. P., Li J. B., Chen X. G. Glycerophosphate-based chitosan thermosensitive hydrogels and their biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*. 2015;117:524–536. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.09.094.
64. Qi X., Qin X., Yang R., Qin J., Li W., Luan K., Wu Z., Song L. Intra-articular Administration of Chitosan Thermosensitive In Situ Hydrogels Combined With Diclofenac Sodium-Loaded Alginate Microspheres. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;105(1):122–130. DOI: 10.1016/j.xphs.2015.11.019.
65. Gholizadeh H., Messerotti E., Pozzoli M., Cheng S., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Caramella C., Ong H. X. Application of a Thermosensitive In Situ Gel of Chitosan-Based Nasal Spray Loaded with Tranexamic Acid for Localised Treatment of Nasal Wounds. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(7):299. DOI: 10.1208/s12249-019-1517-6.
66. Gholizadeh H., Cheng S., Pozzoli M., Messerotti E., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Ong H. X. Smart thermosensitive chitosan hydrogel for nasal delivery of ibuprofen to treat neurological disorders. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(4):453–466. DOI: 10.1080/17425247.2019.1597051.
67. Naik A., Nair H. Formulation and evaluation of thermo-sensitive biogels for nose to brain delivery of doxepin. *BioMed Research International*. 2014;2014:847547. DOI: 10.1155/2014/847547.
68. Liu L., Gao Q., Lu X., Zhou H. In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;11(6):673–683. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.07.001.
69. Navard P. The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE). *Carbohydrate Polymers*. 2013;93(1):2. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.12.021.
70. Sarkar D., Martinez J. Use of Atomized Intranasal Tranexamic Acid as an Adjunctive Therapy in Difficult-to-Treat Epistaxis. *Journal of Special Operations Medicine*. 2019;19(2):23–28. DOI: 10.55460/CV5L-GVGA.
71. Chenite A. Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. *Carbohydrate Polymers*. 2001;46(1):39–47. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00281-2.
72. Foxman E. F., Storer J. A., Fitzgerald M. E., Wasik B. R., Hou L., Zhao H., Turner P. E., Pyle A. M., Iwasaki A. Temperature-dependent innate defense against the common cold virus limits viral replication at warm temperature in mouse airway cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(3):827–832. DOI: 10.1073/pnas.1411030112.
73. Kim S., Nishimoto S. K., Bumgardner J. D., Haggard W. O., Gaber M. W., Yang Y. A chitosan/ β -glycerophosphate thermo-sensitive gel for the delivery of ellagic acid for the treatment of brain cancer. *Biomaterials*. 2010;31(14):4157–4166. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.139.
74. Pieklarz K., Jencyk J., Modrzejewska Z., Owczarz P., Jurga S. An Investigation of the Sol-Gel Transition of Chitosan Lactate and Chitosan Chloride Solutions via Rheological and NMR Studies. *Gels*. 2022;8(10):670. DOI: 10.3390/gels8100670.
75. Jiang G., Sun J., Ding F. PEG-g-chitosan thermosensitive hydrogel for implant drug delivery: Cytotoxicity, in vivo degradation and drug release. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2014;25(3):241–256. DOI: 10.1080/09205063.2013.851542.

REFERENCES

1. Panov D. A. Effect of chitosan on the physicochemical properties of sodium alginate. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo Biologiya. Khimiya*. 2018;4(70):311–319. (In Russ.)
2. Porfir'yeva N. N., Semina I. I., Moustafine R. I., Khutoryanskiy V. V. Intranasal Administration as a Route to Deliver Drugs to the Brain (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(4):117–127. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
3. Bakhrushina E. O., Demina N. B., Shumkova M. M., Rodyuk P. S., Shulikina D. S., Krasnyuk I. I. In situ Intranasal Delivery Systems: Application Prospects and Main Pharmaceutical Aspects of Development (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(4):54–63. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63.
4. Egorov A. R., Khrustalev V. N., Khubiev O. M., Belyy A. E., Golubev R. A., Esakova V. E. New functionalized chitosan derivatives for prolonged release of ciprofloxacin. *Information and education boundaries of communication*. 2023;15(23):258–261. (In Russ.)
5. Abourehab M. A. S., Pramanik S., Abdelgawad M. A., Abualsoud B. M., Kadi A., Ansari M. J., Deepak A. Recent Advances of Chitosan Formulations in Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18):10975. DOI: 10.3390/ijms231810975.
6. James H. P., John R., Alex A., Anoop K. R. Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2014;4(2):120–127. DOI: 10.1016/j.apsb.2014.02.005.
7. Wells C. M., Harris M., Choi L., Murali V. P., Delbuque Guerra F., Jennings J. A. Stimuli-Responsive Drug Release from Smart Polymers. *Journal of Functional Biomaterials*. 2019;10(3):34. DOI: 10.3390/jfb10030034.

8. Demina N. B., Bakhrushina E. O., Bardakov A. I., Krasnyuk I. I. Design of intranasal dosage forms: biopharmaceutical aspects. *Pharmacy*. 2019;68(3):12–17. (In Russ.) DOI: 10.29296/25419218-2019-03-02.
9. Lu B., Xiong S.-B., Yang H., Yin X.-D., Zhao R.-B. Mitoxant-rone-loaded BSA nanospheres and chitosan nanospheres for local injection against breast cancer and its lymph node metastases. II: Tissue distribution and pharmacodynamics. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;307(2):175–181. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.09.038.
10. Budiarto I. J., Rini N. D. W., Tsalsabila A., Birowosuto M. D., Wibowo A. Chitosan-Based Smart Biomaterials for Biomedical Applications: Progress and Perspectives. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2023;9(6):3084–3115. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.3c00216.
11. Luckanagul J.A., Pitakchatwong C., Ratnatilaka Na Bhuket P., Muangnoi C., Rojsitthisak P., Chirachanchai S., Wang Q., Rojsitthisak P. Chitosan-based polymer hybrids for thermo-responsive nanogel delivery of curcumin. *Carbohydrate Polymers*. 2018;181:1119–1127. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.027.
12. Prabakaran M., Mano J. F. Stimuli-responsive hydrogels based on polysaccharides incorporated with thermo-responsive polymers as novel biomaterials. *Macromolecular Bioscience*. 2006;6(12):991–1008. DOI: 10.1002/mabi.200600164.
13. Xing L., Fan Y.-T., Shen L.-J., Yang C.-X., Liu X.-Y., Ma Y.-N., Qi L.-Y., Cho K.-H., Cho C.-S., Jiang H.-L. pH-sensitive and specific ligand-conjugated chitosan nanogels for efficient drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;141:85–97. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.237.
14. Mochalova A. E., Budruev A. V., Oleynik A. V., Smirnova L. A. Thermo- and pH-sensitive chitosan-based hydrogels prepared using terephthalic acid diazide. *Perspektivnye materialy*. 2014;5:61–65. (In Russ.)
15. Strokova N. G., Podkorytova A. V. Modern ways for processing of chitin-containing raw materials. *Trudy VNIRO*. 2018;170:124–152. (In Russ.)
16. Prokopchuk N. R., Shashok Zh. S., Vishnevskiy K. V., Prishchenko D. V., Shkodich V. F. Preparation of nanofibres from chitosan biopolymer. *Herald of technological university*. 2015;18(7):115–118. (In Russ.)
17. Kou S. G., Peters L. M., Mucalo M. R. Chitosan: A review of sources and preparation methods. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;169:85–94. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.005.
18. Soon C. Y., Tee Y. B., Tan C. H., Rosnita A. T., Khalina A. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;108:135–42. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138.
19. Teli M. D., Sheikh J. Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2012;50(5):1195–1200. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.04.003.
20. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 2015;13(3):1133–1174. DOI: 10.3390/md13031133.
21. El Knidri H., Belaabed R., Addaou A., Laajeb A., Lahsini A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;120(Part A):1181–1189. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139.
22. Jo G.-H., Park R.-D., Jung W.-J., Enzymatic production chitin from crustacean shell waste. In: Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC Press; 2010. P. 37–45. DOI: 10.1201/EBK1439816035-c4.
23. Doan C. T., Tran T. N., Nguyen V. B., Vo T. P. K., Nguyen A. D., Wang S.-L. Chitin extraction from shrimp waste by liquid fermentation using an alkaline protease-producing strain, *Brevibacillus parabrevis*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;131:706–715. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.117.
24. Arbia W., Arbia L., Adour L., Amrane A. Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods – A Review. *Chitin Recovery Using Biological Methods, Food Technol. Biotechnol.* 2013;51(1):12–25.
25. Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC press; 2010. 666 p. DOI: 10.1201/EBK1439816035.
26. Svirshchevskaya E. V., Zubareva A. A., Boyko A. A., Shustova O. A., Grechikhina M. V., Shagdarova B. Ts., Varlamov V. P. Toxicity and biocompatibility analysis of chitosan derivatives with different physicochemical properties. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2016;52(5):467–475. (In Russ.) DOI: 10.7868/S0555109916050159.
27. Novikov V. Yu., Derkach S. R., Konovalova I. N., Kuchina Yu. A., Dolgopyatova N. V. Chitosan from crustacean shells of northern seas: Preparation and physicochemical properties. In: *Proceedings of the IV All-Russian Conference*. September 23–28, 2018. Kirov; 2018. P. 136–137. (In Russ.)
28. Nilsen-Nygaard J., Strand S. P., Vårum K. M., Draget K. I., Nordgård C. T. Chitosan: Gels and interfacial properties. *Polymers*. 2015;7(3):552–579. DOI: 10.3390/polym7030552.
29. Kean T., Thanou M. Chitin and Chitosan: Sources, Production and Medical Applications. In: Williams P., editor. *Renewable Resources for Functional Polymers and Biomaterials*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2011. P. 292–318. DOI: 10.1039/9781849733519-00292.
30. Khan T. A., Peh K. K., Ch'ng H. S. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2002;5(3):205–212.
31. Hussain R., Iman M., Maji T. K. Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan-gelatin complex microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Application*. 2013;2(4):4–12.
32. Gerasimenko D. V., Avdienko I. D., Bannikova G. E., Zueva O. Yu., Varlamov V. P. Antibacterial Effects of Water-Soluble Low-Molecular-Weight Chitosans on Different Microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2004;40(3):253–257. DOI: 10.1023/B:ABIM.0000025947.84650.b4.
33. Qin C., Du Y., Xiao L., Li Z., Gao X. Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2002;31(1–3):111–117. DOI: 10.1016/S0141-8130(02)00064-8.

34. Ilyina A. V., Tikhonov V. E., Albulov A. I., Varlamov V. P. Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry*. 2000;35(6):563–568. DOI: 10.1016/S0032-9592(99)00104-1.
35. Allan C. R., Hadwiger L. A. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology*. 1979;3(3):285–287. DOI: 10.1016/S0147-5975(79)80054-7.
36. Li Q., Dunn E. T., Grandmaison E. W., Goosen M. F. A. Applications and Properties of Chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 1992;7(4):370–397. DOI: 10.1177/088391159200700406.
37. Casey L. S., Wilson L. D. Investigation of Chitosan-PVA Composite Films and Their Adsorption Properties. *Journal of Geoscience and Environment Protection*. 2015;03(02):78–84. DOI: 10.4236/gep.2015.32013.
38. Mitani T., Moriyama A., Ishii H. Heavy Metal Uptake by Swollen Chitosan Beads. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1992;56(6):985. DOI: 10.1271/bbb.56.985.
39. Kurita K., Sannan T., Iwakura Y. Studies on chitin. VI. Binding of metal cations. *Journal of Applied Polymer Science*. 1979;23(2):511–515. DOI: 10.1002/app.1979.070230221.
40. Kholyavka M. G., Olshannikova S. S., Artyukhov V. G. Method for the preparation of papain in a gel based on dietary chitosan and chitosan succinate. Patent RUS № 2712690 C1. 07.03.2019. (In Russ.)
41. Mikhaylenko M. A., Shakhtshneyder T. P., Antonov I. M., Kuznetsova S. A., Bryazgin A. A. Method for preparation of chitosan-acrylamide copolymers as a pH-sensitive delivery vehicle for biologically active substances. Patent RUS № 2786240 C1. 21.12.2021. (In Russ.)
42. Shagdarova B. Ts., Lopatin S. A., Konovalova M. V., Ilina A. V., Albulov A. I., Varlamov V. P. Method for producing low molecular weight chitosan and chitosan oligomers. Patent RUS № 2627870 C1. 12.08.2016. (In Russ.)
43. Wang W., Meng Q., Li Q., Liu J., Zhou M., Jin Z., Zhao K. Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(2):487. DOI: 10.3390/ijms21020487.
44. Croisier F., Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*. 2013;49(4):780–792. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009.
45. Irimia T., Dinu-Pirvu C.-E., Ghica M. V., Lupuleasa D., Muntean D.-L., Udeanu D. I., Popa L. Chitosan-Based In Situ Gels for Ocular Delivery of Therapeutics: A State-of-the-Art Review. *Marine Drugs*. 2018;16(10):373. DOI: 10.3390/md16100373.
46. Chatterjee S., Chi-Leung Hui P. Review of Stimuli-Responsive Polymers in Drug Delivery and Textile Application. *Molecules*. 2019;24(14):2547. DOI: 10.3390/molecules24142547.
47. Ullah F., Othman M. B. H., Javed F., Ahmad Z., Akil H. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*. 2015;57:414–433. DOI: 10.1016/j.msec.2015.07.053.
48. Rizwan M., Yahya R., Hassan A., Yar M., Azzahari A., Selvanathan V., Sonsudin F., Abouloula C. pH Sensitive Hydrogels in Drug Delivery: Brief History, Properties, Swelling, and Release Mechanism, Material Selection and Applications. *Polymers*. 2017;9(4):137. DOI: 10.3390/polym9040137.
49. Affes S., Aranaz I., Acosta N., Heras Á., Nasri M., Maalej H. Chitosan derivatives-based films as pH-sensitive drug delivery systems with enhanced antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;182:730–742. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.014.
50. Du H., Liu M., Yang X., Zhai G. The design of pH-sensitive chitosan-based formulations for gastrointestinal delivery. *Drug Discovery Today*. 2015;20(8):1004–1011. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.03.002.
51. Wei J., Xue W., Yu X., Qiu X., Liu Z. pH Sensitive phosphorylated chitosan hydrogel as vaccine delivery system for intramuscular immunization. *Journal of Biomaterials Applications*. 2017;31(10):1358–1369. DOI: 10.1177/0885328217704139.
52. Tsao C. T., Hsiao M. H., Zhang M. Y., Levengood S. L., Zhang M. Chitosan-PEG hydrogel with sol-gel transition triggerable by multiple external stimuli. *Macromolecular Rapid Communications*. 2015;36(3):332–338. DOI: 10.1002/marc.201400586.
53. Fu C., Wang S., Feng L., Liu X., Ji Y., Tao L., Li S., Wei Y. Hierarchically porous chitosan-PEG-silica biohybrid: synthesis and rapid cell adsorption. *Advanced Healthcare Materials*. 2013;2(2):302–305. DOI: 10.1002/adhm.201200166.
54. Hsu L.-W., Lee P.-L., Chen C.-T., Mi F.-L., Juang J.-H., Hwang S.-M., Ho Y.-C., Sung H.-W. Elucidating the signaling mechanism of an epithelial tight-junction opening induced by chitosan. *Biomaterials*. 2012;33(26):6254–6263. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.013.
55. Lee S. Y., Lee Y., Kim J. E., Park T. G., Ahn C.-H. A novel pH-sensitive PEG-PPG-PEG copolymer displaying a closed-loop sol-gel-sol transition. *Journal of Materials Chemistry*. 2009;19(43):8198–8201. DOI: 10.1039/b912540j.
56. Bigucci F., Luppi B., Musenga A., Zecchi V., Cerchiara T. Chitosan Salts Coated with Stearic Acid as Colon-Specific Delivery Systems for Vancomycin. *Drug Delivery*. 2008;15(5):289–293. DOI: 10.1080/10717540802006468.
57. Jalalvandi E., Shavandi A. In situ-forming and pH-responsive hydrogel based on chitosan for vaginal delivery of therapeutic agents. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2018;29(10):158. DOI: 10.1007/s10856-018-6166-x.
58. Omidi S., Pirhayati M., Kakanejadifard A. Co-delivery of doxorubicin and curcumin by a pH-sensitive, injectable, and in situ hydrogel composed of chitosan, graphene, and cellulose nanowhisker. *Carbohydrate Polymers*. 2020;231:115745. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115745.
59. Tan H., Rubin J. P., Marra K. G. Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for adipose tissue regeneration. *Organogenesis*. 2010;6(3):173–180. DOI: 10.4161/org.6.3.12037.
60. Gupta S., Vyas S. P. Carbopol/chitosan based pH triggered in situ gelling system for ocular delivery of timolol maleate. *Scientia Pharmaceutica*. 2010;78(4):959–976. DOI: 10.3797/scipharm.1001-06.
61. Gupta H., Jain S., Mathur R., Mishra P., Mishra A. K., Velpan-dian T. Sustained ocular drug delivery from a temperature and pH triggered novel in situ gel system. *Drug Delivery*. 2007;14(8):507–515. DOI: 10.1080/10717540701606426.
62. Zarrintaj P., Jouyandeh M., Ganjali M. R., Hadavand B. S., Mozafari M., Sheiko S. S., Vatankhah-Varnoosfaderani M., Gutiérrez T. J., Saeb M. R. Thermo-sensitive polymers in medicine: A review. *European Polymer Journal*. 2019;117:402–423. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.05.024.
63. Zhou H. Y., Jiang L. J., Cao P. P., Li J. B., Chen X. G. Glycerophosphate-based chitosan thermosensitive hydrogels and their biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*. 2015;117:524–536. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.09.094.

64. Qi X., Qin X., Yang R., Qin J., Li W., Luan K., Wu Z., Song L. Intra-articular Administration of Chitosan Thermosensitive In Situ Hydrogels Combined With Diclofenac Sodium-Loaded Alginate Microspheres. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;105(1):122–130. DOI: 10.1016/j.xphs.2015.11.019.
65. Gholizadeh H., Messerotti E., Pozzoli M., Cheng S., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Caramella C., Ong H.X. Application of a Thermosensitive In Situ Gel of Chitosan-Based Nasal Spray Loaded with Tranexamic Acid for Localised Treatment of Nasal Wounds. *AAPS Pharm-SciTech*. 2019;20(7):299. DOI: 10.1208/s12249-019-1517-6.
66. Gholizadeh H., Cheng S., Pozzoli M., Messerotti E., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Ong H.X. Smart thermosensitive chitosan hydrogel for nasal delivery of ibuprofen to treat neurological disorders. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(4):453–466. DOI: 10.1080/17425247.2019.1597051.
67. Naik A., Nair H. Formulation and evaluation of thermo-sensitive biogels for nose to brain delivery of doxepin. *BioMed Research International*. 2014;2014:847547. DOI: 10.1155/2014/847547.
68. Liu L., Gao Q., Lu X., Zhou H. In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;11(6):673–683. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.07.001.
69. Navard P. The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE). *Carbohydrate Polymers*. 2013;93(1):2. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.12.021.
70. Sarkar D., Martinez J. Use of Atomized Intranasal Tranexamic Acid as an Adjunctive Therapy in Difficult-to-Treat Epistaxis. *Journal of Special Operations Medicine*. 2019;19(2):23–28. DOI: 10.55460/CV5L-GVGA.
71. Chenite A. Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. *Carbohydrate Polymers*. 2001;46(1):39–47. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00281-2.
72. Foxman E.F., Storer J.A., Fitzgerald M.E., Wasik B.R., Hou L., Zhao H., Turner P.E., Pyle A.M., Iwasaki A. Temperature-dependent innate defense against the common cold virus limits viral replication at warm temperature in mouse airway cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(3):827–832. DOI: 10.1073/pnas.1411030112.
73. Kim S., Nishimoto S.K., Bumgardner J.D., Haggard W.O., Gaber M.W., Yang Y. A chitosan/ β -glycerophosphate thermo-sensitive gel for the delivery of ellagic acid for the treatment of brain cancer. *Biomaterials*. 2010;31(14):4157–4166. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.139.
74. Pieklarz K., Jencyk J., Modrzejewska Z., Owczar P., Jurga S. An Investigation of the Sol-Gel Transition of Chitosan Lactate and Chitosan Chloride Solutions via Rheological and NMR Studies. *Gels*. 2022;8(10):670. DOI: 10.3390/gels8100670.
75. Jiang G., Sun J., Ding F. PEG-g-chitosan thermosensitive hydrogel for implant drug delivery: Cytotoxicity, *in vivo* degradation and drug release. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2014;25(3):241–256. DOI: 10.1080/09205063.2013.851542.



Изучение технологических и физико-химических свойств доксепина гидрохлорида

Ю. М. Охотникова , Н. Л. Соловьева, Б. Б. Сысуев, И. И. Краснюк, Ж. М. Козлова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

 **Контактное лицо:** Охотникова Юлия Михайловна. **E-mail:** okhotnikova.j@mail.ru

ORCID: Ю. М. Охотникова – <https://orcid.org/0009-0001-3452-9522>;

Н. Л. Соловьева – <https://orcid.org/0000-0002-0781-7553>;

Б. Б. Сысуев – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>;

И. И. Краснюк – <https://orcid.org/0000-0002-7242-2988>;

Ж. М. Козлова – <https://orcid.org/0000-0003-1525-732X>.

Статья поступила: 22.07.2024

Статья принята в печать: 21.03.2025

Статья опубликована: 21.03.2025

Резюме

Введение. Профессиональный подход к разработке лекарственного препарата (ЛП), а в частности лекарственной формы (ЛФ), включает в себя комплексный анализ активной фармацевтической субстанции (АФС) и вспомогательных веществ (ВВ). Поэтому подробное изучение физико-химических и технологических свойств фармацевтической субстанции является основополагающим шагом при разработке ЛП, благодаря которому можно выбрать подходящую ЛФ и спрогнозировать технологический процесс исходя из характеристик лекарственного вещества.

Цель. Целью данной работы является изучение технологических и физико-химических характеристик доксепина гидрохлорида.

Материалы и методы. Исследуемая активная фармацевтическая субстанция – доксепина гидрохлорид ((E)-3-(дибензо[b,e]оксепин-11(6H)-илиден)-N,N-диметилпропан-1-амин гидрохлорид) (экспериментальный образец). При проведении экспериментов использовали: сканирующий электронный микроскоп JSM-6510LV (JEOL, Япония), вибросито CISA RP 200N (CISA Cedacera Industrial S.L., Испания), тестер насыпной плотности ERWEKA SVM 102 (ERWEKA GmbH, Германия), тестер сыпучести ERWEKA GTL (ERWEKA GmbH, Германия), сушильный шкаф BINDER FD 115 (BINDER GmbH, Германия).

Результаты и обсуждение. В ходе ряда экспериментов были получены данные о характере кристаллов, растворимости, фракционном составе, сыпучести и насыпной плотности исследуемого порошка. В результате изучения АФС было установлено, что субстанция имеет среднюю степень сжимаемости, не обладает свойством сыпучести из-за большой статичности, что характерно для подтвержденной формы кристаллов исследуемого вещества. Перечисленные выше технологические характеристики АФС следует учитывать при выборе оптимальной ЛФ.

Заключение. В результате проведенных в данной статье экспериментов было установлено, что АФС доксепина гидрохлорида представляет собой белый кристаллический несипучий порошок со средней насыпной плотностью и степенью прессуемости. Сильная статика образца доксепина объясняется формой его кристаллов в виде пластин с большой площадью соприкосновения между собой. Субстанция хорошо растворима в воде, спирте и растворе ПЭО-400:вода в соотношении 1:2. Описанные выше технологические свойства не позволяют произвести твердую лекарственную форму методом прямого прессования без использования вспомогательных веществ, улучшающих исходные технологические характеристики лекарственного вещества. Альтернативным способом технологии изготовления может быть использование грануляции либо же выбор иной ЛФ (например, жидкой лекарственной формы, ЖЛФ).

Ключевые слова: доксепина гидрохлорид, технологические свойства, растворимость, сыпучесть, насыпная плотность

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

Вклад авторов. Ю. М. Охотникова и Ж. М. Козлова спланировали и разработали ход эксперимента. Ю. М. Охотникова проводила экспериментальные работы и анализировала полученные данные. Ж. М. Козлова и Ю. М. Охотникова участвовали в написании текста статьи. И. И. Краснюк, Б. Б. Сысуюев и Н. Л. Соловьева принимали участие в рецензировании статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании статьи

Для цитирования: Охотникова Ю. М., Соловьева Н. Л., Сысуюев Б. Б., Краснюк И. И., Козлова Ж. М. Изучение технологических и физико-химических свойств доксепина гидрохлорида. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(2):106–111. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1880>

Research of technological and physico-chemical properties of doxepin hydrochloride

Yulia M. Okhotnikova✉, Natalia L. Solovyova, Boris B. Sysuev, Ivan I. Krasnyuk, Zhanna M. Kozlova

I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Yulia M. Okhotnikova. **E-mail:** okhotnikova.j@mail.ru

ORCID: Yulia M. Okhotnikova – <https://orcid.org/0009-0001-3452-9522>;

Natalia L. Solovyova – <https://orcid.org/0000-0002-0781-7553>;

Boris B. Sysuev – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>;

Ivan I. Krasnyuk – <https://orcid.org/0000-0002-7242-2988>;

Zhanna M. Kozlova – <https://orcid.org/0000-0003-1525-732X>.

Received: 22.07.2024

Accepted: 21.03.2025

Published: 21.03.2025

Abstract

Introduction. A professional approach to the development of a medicine and in particular the dosage form (DF) includes a comprehensive analysis of the active pharmaceutical ingredient (API) and excipients. Therefore, a detailed study of the technological and physico-chemical properties of a pharmaceutical substance is a fundamental step in the development of a drug, due to which it is possible to choose a suitable drug and predict the technological process based on the characteristics of the medicinal substance.

Aim. The aim of this work is to study the technological and physico-chemical characteristics of doxepin hydrochloride.

Materials and methods. Doxepin hydrochloride ((E)-3-(dibenzo[b,e]oxepin-11(6H)-ylidene)-N,N-dimethylpropan-1-amine hydrochloride) (experimental sample), scanning electron microscope JSM-6510LV (JEOL, Japan), vibrating sieve CISA RP 200N (CISA Cedacteria Industrial S.L., Spain), bulk density tester ERWEKA SVM 102 (ERWEKA GmbH, Germany), flowability tester ERWEKA GTL (ERWEKA GmbH, Germany), drying oven BINDER FD 115 (BINDER GmbH, Germany) were used as the material.

Results and discussion. In the course of a number of experiments, data were obtained on the nature of crystals, solubility, particle size distribution, flowability and bulk tapped density of the studied powder. As a result of the study of API, it was revealed that the substance has an average degree of compressibility, the powder does not have a flowability property due to high statics, which is typical for the confirmed crystal shape of the powder under study. The above technological characteristics of the API should be taken into account when choosing the optimal DF.

Conclusion. As a result of the experiments conducted in this article, it was found that API of doxepin hydrochloride is a white crystalline non-loose powder with an average bulk density and degree of compressibility. The strong static of the powder is explained by the shape of its crystals in the form of plates with a large area of contact with each other. The substance is freely soluble in water, alcohol and a solution of PEG-400:water (1:2). The technological properties described above will not allow the development of a solid dosage form by direct pressing without the use of excipients that improve the initial technological characteristics of the medicinal substance. An alternative method of manufacturing technology may be the use of granulation, or the choice of a different DF (for example, a liquid dosage form).

Keywords: doxepin hydrochloride, technological properties, solubility, flowability, bulk tapped density

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. Yulia M. Okhotnikova and Zhanna M. Kozlova planned the experiment. Yulia M. Okhotnikova carried out the experiments and analyzed the data. Zhanna M. Kozlova and Yulia M. Okhotnikova participated in writing the text of the article. Ivan I. Krasnyuk, Boris B. Sysuev and Natalia L. Solovieva participated in reviewing the article. All authors participated in discussing the results and writing the article.

For citation: Okhotnikova Yu. M., Solovyova N. L., Sysuev B. B., Krasnyuk I. I., Kozlova Zh. M. Research of technological and physico-chemical properties of doxepin hydrochloride. *Drug development & registration.* 2025;14(2):106–111. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1880>

ВВЕДЕНИЕ

Изучение технологических и физико-химических свойств активной фармацевтической субстанции (АФС) является одним из основополагающих этапов разработки лекарственного препарата¹, поскольку количество экспериментальных опытов и затраты на эти опыты напрямую зависят от наличия или отсутствия максимально подробной информации о действующем и вспомогательных веществах. Таким образом, при разработке лекарственной формы (ЛФ) сначала необходимо подробно изучить активное вещество, его фармакологические, физико-химические и технологические свойства. Комплексный подход при разработке лекарственного препарата, а именно всесторонний сбор информации (исследование на основе литературных данных фармакологических, физико-химических и технологических свойств действующего вещества) перед постановкой эксперимента, позволяет рационально, быстро и качественно решить поставленную задачу.

В качестве исследуемой субстанции был выбран порошок доксепина гидрохлорида. Лекарственные препараты, содержащие в качестве действующего вещества доксепин, были зарегистрированы еще в XX веке. Исследуемая АФС обладает комплексным механизмом действия, позволяющим безопасно и эффективно применять ЛП с доксепином при депрессивных и тревожных расстройствах и бессоннице, что подтверждено клиническими испытаниями [1]. Однако в клинической практике количество случаев применения доксепина уменьшается с каждым годом, к антидепрессанту незаслуженно теряется интерес врачей. В России впервые ЛП доксепина (Синекван®) был зарегистрирован в 1981 году, в данный момент препарат не находится в обращении на территории страны, что может быть связано с некомплаентной лекарственной формой в виде капсул, например, для пациентов с дисфагией. Согласно клиническим рекомендациям [2] капсулы доксепина принимают внутрь. Лечение проводят по схеме, назначенной лечащим врачом, начиная с 25–50 мг в день (стандартная дозировка – от 100 до 300 мг доксепина в день).

Доксепин – трициклический антидепрессант, механизм действия которого обуславливается ингибированием обратного захвата норадреналина и серотонина центральной нервной системы (ЦНС). Антигистаминное действие доксепина гидрохлорида заключается в подавлении гистаминовых рецепторов H₁ и H₂, поэтому доксепин применяется в дерматологии в качестве противозудного средства [3].

В Соединенных Штатах Америки доксепина гидрохлорид одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикамен-

тов в 1969 году и показан при депрессии, бессоннице, тревоге (ЛФ для приема внутрь) [4, 5], зуде (ЛФ для местного применения) [6].

Доксепин показан в качестве профилактического средства при мигренях [7, 8]. Известны случаи, когда трансдермальные ЛФ доксепина были задействованы как анальгезирующее средство [9–11], и случаи применения при нейропатических болях [12]. Так, например, в рандомизированном клиническом исследовании, опубликованном в 2019 году, доксепина гидрохлорид в виде полосканий использовали в качестве препарата, снимающего боль при мукозите, вызванном лучевой или химиотерапией [13].

Антидепрессивный, седативный, анксиолитический и спазмолитический фармакологические эффекты АФС обуславливают использование доксепина в качестве препарата первой помощи при неотложных состояниях. Способность АФС к быстрой абсорбции и прохождению через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) дает возможность разработать ЛФ с быстрым высвобождением действующего вещества (ДВ). К примеру, разработка ородиспергируемой ЛФ позволит ДВ сразу же поступать в системный кровоток, минуя первичное прохождение через печень, что невозможно при приеме капсул, в форме которых выпускается доксепин в настоящее время. Альтернативным вариантом доставки ДВ к ЦНС может выступить ЛФ в виде назального спрея, поскольку доксепин проходит через ГЭБ. На данный момент ЛП с быстрым высвобождением изучаемой АФС не зарегистрированы. Несмотря на то, что физико-химические показатели субстанции описаны в монографиях зарубежных фармакопей (Eur. Ph., USP), изучение технологических свойств доксепина гидрохлорида необходимо для выбора и создания оптимальной ЛФ с быстрым высвобождением исследуемой субстанции.

Цель. Целью данной работы является изучение технологических и физико-химических характеристик доксепина гидрохлорида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – субстанция доксепина гидрохлорида, представляющая собой мелкокристаллический порошок белого цвета.

Методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) была изучена структура кристаллов доксепина гидрохлорида. Исследована растворимость АФС в воде, спирте 96 %, ПЭО-400, а также в растворе ПЭО-400:вода в соотношении 1:1, 1:2. Субстанцию испытывали по показателям: потере в массе при высушивании, фракционному составу, насыпной плотности (до/после уплотнения), сыпучести [рассчитывали коэффициенты прессуемости (коэффициент Карра) и Хауснера] – в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи (ГФ) РФ XV изд.

¹ ICH Q8(R2). Pharmaceutical Development. Current Step 4 version. 2009. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/Q8_R2_Guideline.pdf. Accessed: 22.07.2024.

- Структуру устанавливали методом СЭМ в соответствии с ОФС.1.2.1.0001 «Сканирующая электронная микроскопия». Результаты представлены на рисунках 1–3. Для определения формы кристаллов использовали сканирующий электронный микроскоп JSM-6510LV.
- Определение растворимости АФС проводили в соответствии с ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость». Использовали пробирки с внутренним диаметром 14 мм, длиной 150 мм. Результаты представлены далее в статье.
- Определение фракционного состава проводили в соответствии с ОФС.1.4.2.0032 «Ситовой анализ» с помощью вибросита CISA RP 200N, повторяя эксперимент 5 раз.
- Определение насыпной плотности проводили в соответствии с ОФС.1.4.2.0024 «Насыпная плотность и плотность после уплотнения», метод 1, эксперимент повторяли 5 раз. Использовали оборудование ERWEKA SVM 102. Результаты представлены далее в статье.
- Определение сыпучести проводили в соответствии с ОФС.1.4.2.0016 «Сыпучесть порошков», применяя пять повторностей для каждого эксперимента. Использовали оборудование ERWEKA GTL. Результаты представлены далее в статье.
- Коэффициенты Карра и Хауснера рассчитывали по следующим формулам:
1. Коэффициент Карра:

$$(IC) = \frac{D_c - D_a}{D_c} \cdot 100. \quad (1)$$

2. Коэффициент Хауснера:

$$(IH) = \frac{D_c}{D_a}, \quad (2)$$

где D_a – насыпная плотность до уплотнения, г/мл; D_c – насыпная плотность после уплотнения, г/мл (для формул 1 и 2).

- Определение потери в массе при высушивании проводили в соответствии с ОФС.1.2.1.0010 «Потеря в массе при высушивании». Использовали оборудование Binder FD 115. Результаты представлены в таблице 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно Европейской фармакопее (Eur. Ph.) докsepина гидрохлорид представляет собой белый или почти белый кристаллический порошок. Методом СЭМ была изучена структура кристаллов докsepина гидрохлорида. На рисунках 1–3 представлены снимки субстанции при увеличении 1000, 5000 и 15 000 соответственно. Использование трех увеличений позволяет детально оценить форму и характер кристаллов образца АФС.

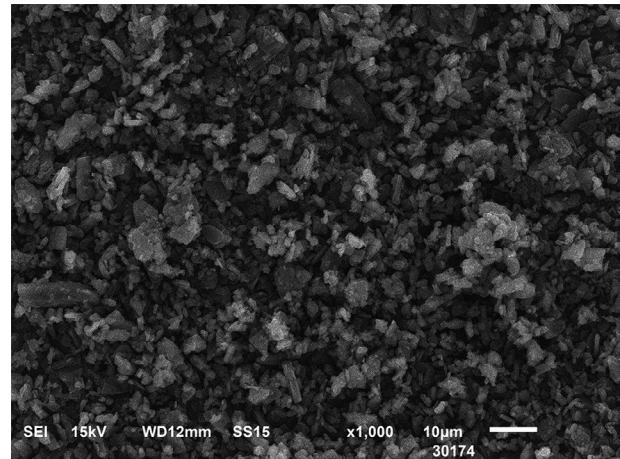


Рисунок 1. СЭМ-изображение образца АФС при увеличении $\times 1000$

Figure 1. SEM image of API sample at magnification $\times 1000$

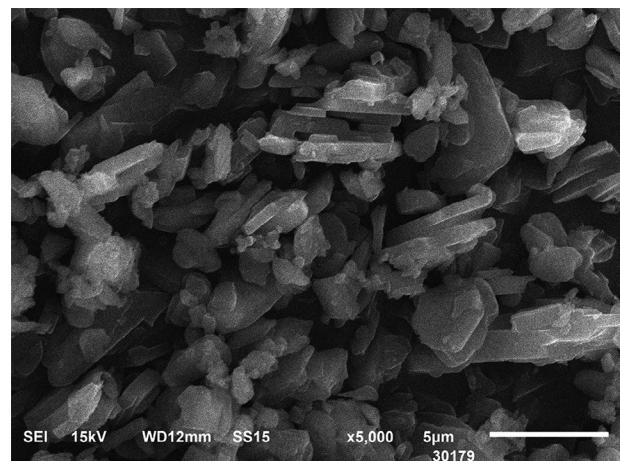


Рисунок 2. СЭМ-изображение образца АФС при увеличении $\times 5000$

Figure 2. SEM image of API sample at magnification $\times 5000$

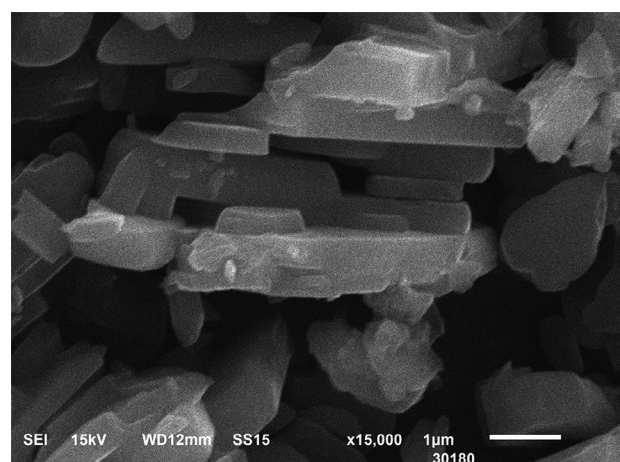


Рисунок 3. СЭМ-изображение образца АФС при увеличении $\times 15\ 000$

Figure 3. SEM image at of API sample magnification $\times 15\ 000$

Кристаллы доксепина гидрохлорида пластинчатой формы, преимущественно удлиненные в одном направлении. За счет формы пластины у кристаллов образуется существенная площадь поверхности соприкосновения между собой, поэтому, по-видимому, субстанция обладает большой статикой из-за электростатического притяжения пластин, что является причиной плохой сыпучести субстанции.

Выбор ЛФ, как правило, может быть ограничен свойствами АФС, поэтому нами была изучена растворимость доксепина в различных растворителях, чтобы на основе полученных результатов сделать вывод о возможности разработки современной жидкой ЛФ с улучшенными потребительскими свойствами, удобной пациенту. Доксепина гидрохлорид является солью, согласно Eur. Ph. легко растворимой в воде (ВО). Результаты определения растворимости (см. ниже) показали, что АФС также легко растворима в спирте 96 %, растворе ПЭО-400:ВО в соотношении 1:2, умеренно растворима в растворе ПЭО-400:ВО в соотношении 1:1, практически нерастворима в ПЭО-400. Выбор растворителей обусловлен функциональными значениями веществ, выступающих в роли вспомогательных при создании ЛП. Так, спирт, повышая проницаемость мембран, позволяет увеличить биодоступность ЛВ, а ПЭО выступает в роли загустителя и пластификатора в ЖЛФ. Хорошая растворимость субстанции в воде позволяет разработать жидкую ЛФ, а также применять растворители при выборе дальнейшей технологии изготовления ЛП.

Растворимость доксепина гидрохлорида (средний показатель $\pm SN$, $n = 5$):

| Растворитель | Количество растворителя, необходимое для растворения 1 г АФС, мл |
|-------------------|--|
| Вода очищенная | 1 |
| Спирт 96 % | 1 |
| ПЭО-400 | >10 000 |
| ПЭО-400:ВО* – 1:1 | 70 |
| ПЭО-400:ВО* – 1:2 | 1 |

* ВО – вода очищенная.

Полученные результаты испытания растворимости АФС позволяют сделать вывод о возможности изготовления жидкой ЛФ с использованием в качестве растворителя воды очищенной или спирта, а также их смеси или смеси воды очищенной с ПЭО.

Для разработки твердых ЛФ (ТЛФ) необходимо изучить технологические характеристики доксепина гидрохлорида. На выбор технологии изготовления ТЛФ влияют такие показатели, как фракционный состав, прессуемость, сжимаемость, текучесть, насыпная плотность и потеря в массе при высушивании порошка. Рассчитанные коэффициенты прессуемости также позволят оценить технологические характеристики субстанции.

Насыпная плотность и текучесть АФС (средний показатель $\pm SN$, $n = 5$):

| | АФС доксепина гидрохлорид |
|---|---|
| Насыпная плотность, г/мл (до уплотнения / после уплотнения) | 0,33 \pm 0,09 / 0,40 \pm 0,11 |
| Сыпучесть, г/с | \varnothing 25 – 0 |
| Коэффициент Карра | 17,50 \pm 0,81 |
| Коэффициент Хауснера | 1,21 \pm 0,05 |
| Фракционный состав | 0,5–1,0 мм – 0,56 % 0,2–0,5 мм – 19,63 % < 0,2 мм – 79,81 % |
| Потеря в массе при высушивании, % | 0,4 |

Согласно полученным экспериментальным данным, насыпная плотность и сжимаемость порошка оценивается как средняя. Рассчитанные значения коэффициентов Карра и Хауснера позволяют сделать вывод о средней сжимаемости и низкой когезии порошка. Но из-за сильной статики (обусловленной характером кристаллов доксепина) АФС не обладает сыпучестью. В образце доксепина преобладает фракция с размером частиц менее 0,2 мм. Данные технологические показатели могут негативно сказаться на однородности распределения АФС в твердой ЛФ. Использование вспомогательных веществ, например скользящих, или технологических приемов (гранулирование) при разработке и производстве ТЛФ позволит добиться стабильности ЛФ, что благоприятно отразится на показателях качества ЛП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из полученных данных, установлено, что АФС представляет собой белый мелкокристаллический несипучий порошок со средней насыпной плотностью. Согласно рассчитанным показателям коэффициентов Карра и Хауснера степень прессуемости (сжимаемости) порошка средняя. Отсутствие сыпучести по большей части связано с сильной статикой порошка. Пластинчатые кристаллы доксепина гидрохлорида собираются в «комки», налипая друг на друга за счет большой площади соприкосновения пластин. АФС легко растворима в ВО, спирте 96 % и растворе ПЭО-400:ВО в соотношении 1:2, умеренно растворима в ПЭО-400:ВО в соотношении 1:1, практически нерастворима в ПЭО-400.

Статика и отсутствие сыпучести АФС негативно будут сказываться на показателе однородности дозирования твердой ЛФ, поэтому альтернативным решением, помимо использования вспомогательных веществ, улучшающих технологические свойства субстанции, или технологических приемов, может быть разработка дозированной жидкой ЛФ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Yeung W.-F., Chung K.-F., Yung K.-P., Ng T.H.-Y. Doxepin for insomnia: a systematic review of randomized placebo-controlled trials. *Sleep Medicine Reviews*. 2015;19:75–83. DOI: 10.1016/j.smr.2014.06.001.
2. Bauer M., Pfennig A., Severus E., Weibrau P.S., Angst J., Muller H.-Yu. Clinical recommendations of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry on biological therapy of unipolar depressive disorders. Part 2: Acute and prolonged treatment of unipolar depressive disorders as of 2013. *Modern therapy of mental disorders*. 2016;(1):31–48.
3. Myers B., Reddy V., Chan S., Thibodeaux Q., Brownstone N., Koo J. Optimizing doxepin therapy in dermatology: introducing blood level monitoring and genotype testing. *Journal of Dermatological Treatment*. 2022;33(1):87–93. DOI: 10.1080/09546634.2020.1762841.
4. Wu J., Chang F., Zu H. Efficacy and safety evaluation of citalopram and doxepin on sleep quality in comorbid insomnia and anxiety disorders. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2015;10(4):1303–1308. DOI: 10.3892/etm.2015.2686.
5. Kouwenhoven T.A., van de Kerkhof P.C.M., Kamsteeg M. Use of oral antidepressants in patients with chronic pruritus: A systematic review. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2017;77(6):1068–1073.e7. DOI: 10.1016/j.jaad.2017.08.025.
6. Eschler D.C., Klein P.A. An evidence-based review of the efficacy of topical antihistamines in the relief of pruritus. *Journal of Drugs in Dermatology*. 2010;9(8):992–997.
7. Hershey L.A., Bednarczyk E.M. Treatment of headache in the elderly. *Current Treatment Options in Neurology*. 2013;15(1):56–62. DOI: 10.1007/s11940-012-0205-6.
8. Punay N.C., Couch J.R. Antidepressants in the treatment of migraine headache. *Current Pain and Headache Reports*. 2003;7(1):51–54. DOI: 10.1007/s11916-003-0010-8.
9. McCleane G. Topical application of the tricyclic antidepressant doxepin can reduce dysuria and frequency. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*. 2004;38(1):88–89. DOI: 10.1080/00365590310017299.
10. Leppert W., Malec-Milewska M., Zajackowska R., Wordliczek J. Transdermal and Topical Drug Administration in the Treatment of Pain. *Molecules*. 2018;23(3):681. DOI: 10.3390/molecules23030681.
11. Sandig A.G., Campmany A.C.C., Fernández Campos F., Villena M.J.M., Naveros B.C. Transdermal delivery of imipramine and doxepin from newly oil-in-water nanoemulsions for an analgesic and anti-allodynic activity: development, characterization and in vivo evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;103:558–565. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.061.
12. Casale R., Symeonidou Z., Bartolo M. Topical Treatments for Localized Neuropathic Pain. *Current Pain and Headache Reports*. 2017;21(3):15. DOI: 10.1007/s11916-017-0615-y.
13. Sio T.T., Le-Rademacher J.G., Leenstra J.L., Loprinzi C.L., Rine G., Curtis A., Singh A.K., Martenson Jr J.A., Novotny P.J., Tan A.D., Qin R., Ko S.J., Reiter P.L., Miller R.C. Effect of Doxepin Mouthwash or Diphenhydramine-Lidocaine-Antacid Mouthwash vs Placebo on Radiotherapy-Related Oral Mucositis Pain: The Alliance A221304 Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2019;321(15):1481–1490. DOI: 10.1001/jama.2019.3504.



Влияние ультразвука при экстракции *Fucus vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства

Е. Д. Облучинская, О. Н. Пожарицкая ✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Мурманский морской биологический институт Российской академии наук (ММБИ РАН). 183038, Россия, г. Мурманск, ул. Владимирская, д. 17

✉ Контактное лицо: Пожарицкая Ольга Николаевна. E-mail: olgapozhar@mail.ru

ORCID: Е. Д. Облучинская – <https://orcid.org/0000-0003-4456-656X>;

О. Н. Пожарицкая – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Статья поступила: 09.07.2024

Статья принята в печать: 24.03.2025

Статья опубликована: 28.03.2025

Резюме

Введение. Перспективным источником для выделения фукоидана является *Fucus vesiculosus* L. – широко распространенный вид бурых водорослей. В последние годы активно изучается возможность применения фукоидана в медицине и фармации. Метод извлечения полисахаридов существенно влияет на их характеристики и функции. Для повышения эффективности экстракции широко исследуется возможность использования ультразвука (УЗ).

Цель. Изучение влияния времени низкочастотной УЗ-экстракции бурых водорослей *F. vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства.

Материалы и методы. В качестве сырья использовали свежемороженые бурые водоросли *F. vesiculosus*. УЗ-экстракцию проводили с помощью ультразвуковой установки УЗТА-0,4/22-ОМ с частотой колебаний 22 кГц и при температуре 25 °С. Экстракт получали при температуре 60 °С методом динамической мацерации. Гомогенность и молекулярную массу фукоидана анализировали методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ). ИК-фурье-спектры фукоидана получали на спектрометре VERTEX 70. Количественное определение фукозы и сульфатов выполнено ВЭЖХ и спектрофотометрическим методом соответственно. Антиоксидантную активность (АОА) фукоидана оценивали с использованием теста железовосстанавливающей антиоксидантной способности (FRAP). Математическую и статистическую обработку результатов выполняли в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи (ГФ) РФ XV издания с помощью программного обеспечения MO Excel 2007.

Результаты и обсуждение. Рассчитанная скорость деградации фукоидана составила 19,5 %/ч. Константа скорости реакции и период полураспада, рассчитанные по модели второго порядка ($R^2 > 0,97$), составили $5,8 \cdot 10^{-6}$ моль/(г · мин) и 110 мин. УЗ-деградация фукоидана происходила преимущественно за счет случайного разрыва цепи ($R^2 > 0,98$). Методом ИК-фурье-спектрометрии установлено, что предварительные структуры фукоидана без УЗ-обработки и после экстракции с УЗ-обработкой не были изменены. Анализ антиоксидантной активности показал, что фукоидан после УЗ-экстракции, несмотря на снижение молекулярной массы, демонстрировал значительную антиоксидантную активность *in vitro*.

Заключение. Впервые показано изменение структурных и антиоксидантных свойств фукоидана, вызванное низкочастотной УЗ-обработкой при экстракции. УЗ-экстракция фукоидана приводит к снижению средней молекулярной массы и деградации фукоидана без значительного разрушения сульфатных групп. В целом это исследование показывает, что низкочастотная ультразвуковая экстракция, которая является мягким, экологичным методом, осуществляемым за короткий промежуток времени, может быть эффективно использована для экстракции фукоидана без критического изменения молекулярной массы и антиоксидантной активности.

Ключевые слова: фукоидан, ультразвук, активность, кинетика деградации, экстракция

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

Вклад авторов. Е. Д. Облучинская – дизайн исследования, выделение образца и его анализ, обработка данных. О. Н. Пожарицкая – дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, обзор публикаций. Оба автора участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания Мурманскому морскому биологическому институту РАН (№ гос. регистрации 124013000732-7).

Для цитирования: Облучинская Е. Д., Пожарицкая О. Н. Влияние ультразвука при экстракции *Fucus vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):112–121. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1869>

Influence of ultrasound extraction of *Fucus vesiculosus* on the kinetics of fucoidan degradation and its properties

Ekaterina D. Obluchinskaya, Olga N. Pozharitskaya ✉

Murmansk Marine Biological Institute of the Russian Academy of Sciences (MMBI RAS). 17, Vladimirskaya str., Murmansk, 183038, Russia

✉ **Corresponding author:** Olga N. Pozharitskaya. **E-mail:** olgapozhar@mail.ru

ORCID: Ekaterina D. Obluchinskaya – <https://orcid.org/0000-0003-4456-656X>;
Olga N. Pozharitskaya – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Received: 09.07.2024

Accepted: 24.03.2025

Published: 28.03.2025

Abstract

Introduction. A promising source for isolating fucoidan is *Fucus vesiculosus* L., a widespread species of brown algae. In recent years, the possibility of using fucoidan in medicine and pharmacy has been widely studied. The method of extracting polysaccharides significantly affects their characteristics and properties. To improve extraction efficiency, the possibility of using ultrasonic-assisted extraction (UAE) has recently been widely explored.

Aim. Study of the influence of the time of low-frequency UAE of brown algae *F. vesiculosus* on the kinetics of fucoidan degradation and its properties.

Materials and methods. Fresh frozen brown algae *F. vesiculosus* L. were used as raw material. UAE was carried out at an oscillation frequency of 22 kHz and a temperature of 25 °C. The extract was obtained at a temperature of 60 °C using the dynamic maceration method. The homogeneity and molecular weight of fucoidan were analyzed by high-performance size exclusion chromatography (HPSEC). FT-IR spectra of fucoidan were obtained on a VERTEX 70 spectrometer. Quantitative determination of fucose and sulfates was performed using a spectrophotometric method. The antioxidant activity (AOA) of fucoidan was assessed using FRAP test. Mathematical and statistical processing of the results was carried out in accordance with Russian Federation Pharmacopeia XV edition using MO Excel 2007 software.

Results and discussion. The calculated rate of fucoidan degradation was 19.5 %/h. The reaction rate constant and half-life calculated using the second-order model ($R^2 > 0.97$) were $5.8 \cdot 10^{-6}$ mol/(g · min) and 110 min. Ultrasonic degradation of fucoidan occurred predominantly due to random scission model ($R^2 > 0.98$). Using FTIR spectrometry, it was found that the preliminary structures of fucoidan without ultrasound and after ultrasound extraction were not changed. Analysis of antioxidant activity showed that fucoidan after ultrasonic extraction, despite a decrease in molecular weight, demonstrated significant antioxidant activity *in vitro*.

Conclusion. For the first time, a change in the conformational and antioxidant properties of fucoidan caused by low-frequency UAE was shown. UAE of fucoidan leads to a decrease in average molecular weight and degradation of fucoidan without significant destruction of sulfate groups. Overall, this study shows that the low frequency ultrasonic extraction, which is a gentle, environmentally friendly method that can be completed in a short period, can be effectively used to extract fucoidan without critically changing the molecular weight and antioxidant activity.

Keywords: fucoidan, ultrasound, activity, degradation kinetics, extraction

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. Ekaterina D. Obluchinskaya – study design, sample extraction and analysis, data processing. Olga N. Pozharitskaya – study design, analysis and interpretation of data, review of publications. Both authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

Funding. This study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the Government Assignment to the Murmansk Marine Biological Institute Russian Academy of Sciences (State Reg. No. 124013000732-7).

For citation: Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N. Influence of ultrasound extraction of *Fucus vesiculosus* on the kinetics of fucoidan degradation and its properties. *Drug development & registration*. 2025;14(2):112–121. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1869>

ВВЕДЕНИЕ

Фукус пузырчатый (*Fucus vesiculosus* L.), отличительной особенностью которого является высокое содержание фукоидана, в последние годы привлекает повышенное внимание. Фукоиданы – это сульфатированные полисахариды, обладающие противораковыми, антитромботическими, антикоагулянтными и противовирусными свойствами. Установлено, что фукоиданы защищают растения, произрастающие в литоральной зоне, от высыхания и обеспечивают стабильность клеточных стенок. Многочисленные исследования доказали способность фукоидана препятствовать окислительному стрессу. При наружном применении фукоидан ускоряет выработку кератиноцитов и укрепляет эпидермис, снижая негативное воздействие ультрафиолетового излучения, обладает выраженным противовоспалительным действием. При пероральном применении наблюдается увеличение выработки гемоксигеназы и супероксиддисмутазы, которые защищают внутриклеточное пространство от проникновения свободных радикалов, превращая их в обычные молекулы кислорода [1, 2]. В последние годы активно изучается возможность применения фукоидана в медицине и фармации [3, 4].

Метод экстракции имеет решающее значение, поскольку он определяет выход, чистоту и характеристику фукоидана, полученного из бурых водорослей [5, 6]. Ранее для экстракции фукоидана использовали методы, основанные на растворении полисахаридов клеточной стенки горячей водой, обработке кислотными/щелочными и органическими растворителями [5]. Однако эти технологии требуют много времени, неэкологичны, энергозатратны и могут изменить структуру фукоидана, что приведет к снижению его активности [7]. Несмотря на высокий выход, получаемый при использовании традиционных методов экстракции, это длительный процесс, а конечный продукт требует дополнительной очистки, что затрудняет его дальнейшее применение в медицине и фармации [8, 9]. Поэтому были разработаны экологически чистые методы экстракции фукоидана, включая ультразвуковую (УЗ) экстракцию, микроволновую экстракцию, экстракцию с использованием ферментов, экстракцию жидкостью под давлением и экстракцию импульсным электрическим полем [7, 10]. УЗ-экстракция – это быстрый и эффективный метод, в котором для интенсификации процесса используется ультразвук. Кавитационные пузырьки, вызванные УЗ, растут и схлопываются, что приводит к взрыву (также известному как макротурбулентность), впоследствии смягчают поверхность клеток морских бурых водорослей, тем самым улучшая контакт с растворителем [11]. Сообщалось, что под воздействием УЗ происходит деглимеризация макромолекул [5].

За последние несколько лет предложены технологии переработки разных видов растительного сырья с использованием УЗ. Как указывают авторы, использование УЗ при экстракции компонентов рас-

тительного сырья позволяет значительно интенсифицировать процесс и снизить затраты на его проведение [12–14]. Хотя предыдущие исследования с использованием УЗ показали высокую эффективность экстракции фукоидана из бурых водорослей, кинетические исследования, анализирующие механизмы деструкции и свойства целевой молекулы, все еще ограничены.

Цель исследования – оценить влияние УЗ-экстракции бурых водорослей *F. vesiculosus* на кинетику деградации фукоидана и его свойства.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительный материал. Бурые водоросли *F. vesiculosus* L., собранные осенью на литорали Баренцева моря (губа Зеленецкая, Россия) во время отлива, промытые и замороженные.

Методика экстракции фукоидана. УЗ-экстракцию проводили после обезжиривания сырья с использованием установки УЗТА-0,4/22-ОМ (ООО «Центр ультразвуковых технологий», Россия). Ультразвуковое воздействие на растительное сырье проводили с частотой 22 кГц, интенсивностью 50 Вт/см², в течение 20–80 мин. Термостатирование экстракционной среды при 25 ± 0,5 °С осуществляли в проточном термостате TW-2.02 (ELMI, Латвия). Время экстрагирования под воздействием УЗ изучали для подбора оптимальных значений и оценки возможной деградации фукоидана. Извлечение без УЗ-обработки получали при температуре 60 ± 2 °С методом динамической мацерации [8]. В обоих случаях в качестве экстрагента был использован 5%-й водный раствор этилового спирта (об./об.) при pH 4. Соотношение сырье:экстрагент составляло 1:30 (мас./об.). Мацерацию проводили при перемешивании на магнитной мешалке со скоростью вращения 180–200 об/мин и при температуре 60 ± 2 °С в течение 40 мин. После проведения экстракции отделяли супернатант центрифугированием (10 000 g в течение 15 мин, Hettich Universal 320 R, Германия). Альгинат удаляли осаждением 2%-м раствором NaHCO₃ и центрифугированием. Супернатант концентрировали с использованием кассет Vivasflow®200 MWCO 10 000 (Sartorius, Германия) при давлении 3 атм. После очистки раствор лиофилизировали в течение 24 ч на сублимационной сушилке «ИНЕЙ-4» (ИБП РАН, Россия) и анализировали полученный фукоидан.

Общие аналитические методы. Фукозу анализировали после гидролиза 2 М трифторуксусной кислотой при 121 °С в течение двух часов с последующим анализом методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием рефрактометрического детектора. Результаты выражали в г/100 г на абсолютно сухую массу (а.с.м.). Все измерения проводились в трехкратной повторности. Гомогенность и молекулярную массу (Mw) фукоидана анализировали методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ) с использованием

хроматографа LC-20 AT Prominence (Shimadzu Corporation, Япония), оснащенного двумя колонками TSKgel (Tosoh Bioscience GmbH, Германия) и предколонкой PWX. В качестве подвижной фазы использовали воду деионизированную со скоростью 0,4 мл/мин при 70 °С. Колонки калибровали с использованием стандартов Shodex P-82 Pullulan Standard Kit (Showa-Denko Co., Япония) и Blue Dextran 2000 (GE HealthCare, США). Количественное определение фукозы выполнено спектрофотометрическим методом; степень сульфатирования исследуемых образцов определяли турбидиметрическим методом с использованием спектрофотометра Jenway 6305 UV/Vis (Jenway Ltd., Великобритания). АОА фукоидана оценивали с использованием теста общей железовосстанавливающей антиоксидантной способности (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP) [15]. ИК-фурье-спектры фукоидана получали на спектрометре VERTEX 70 (Bruker, Германия), оснащенный приставкой с ослабленным полным отражением Пайка (призма из ZnSe). Программное обеспечение для спектроскопии Bruker OPUS использовали для сбора и анализа данных [16].

Скорость деградации рассчитывали в соответствии с [17]. Среднюю степень полимеризации (СП) рассчитывали в соответствии с [18], используя молекулярную массу мономерного звена фукоидана [19]. Кинетика деградации фукоидана под действием УЗ при экстракции была изучена в соответствии с моделью кинетики нулевого, первого и второго порядков [20]. Механизм разрушения полимерной цепи фукоидана под воздействием УЗ при экстракции оценивали по разрыву в средней точке и случайным образом [21]. Математическую и статистическую обработку результатов выполняли в соответствии с требованиями ГФ РФ 15 с помощью программного обеспечения MO Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кинетика деградации фукоидана под воздействием УЗ. Первоначально рассчитали скорость деградации фукоидана при низкочастотной УЗ экстракции (рисунок 1).

Скорость деградации фукоидана в течение первых 40 мин УЗ-экстракции практически не менялась, затем в последующие 20 мин достигла 18 %/ч и к окончанию процесса составила 19,5 %/ч. Средняя СП зависела от времени обработки УЗ. Например, величина СП снизилась за 60 мин от исходного значения, равного 666, до значения 543 и к концу процесса составила 489. Ранее было показано, что молекулярный вес макромолекул зависит от интенсивности УЗ, что позволяет стандартизировать данный процесс [18]. Определение средней степени полимеризации фукоидана позволяет достаточно точно охарактеризовать его деструкцию при различных химических, физических и биологических воздействиях. Для прогнозирования возможной деградации фукоидана при УЗ-экстракции *F. vesiculosus* были рассчитаны коэффициенты корреляции (R^2) уравнений нулевого (0,9538), первого (0,9645) и второго (0,9728) порядка в зависимости от времени экстракции. Кинетическая кривая второго порядка в зависимости от времени обработки представлена на рисунке 2, А. Константу скорости реакции (k) и периоды полураспада ($t_{1/2}$) рассчитывали по модели реакции второго порядка. Значение k было $5,8 \cdot 10^{-6}$ моль/(г·мин), а время $t_{1/2}$ составило 110 мин. Ранее было показано, что снижение температуры при УЗ-обработке при получении фукоидана трепанга приводит к уменьшению значения величины k и увеличению времени $t_{1/2}$ [11]. Данный эффект замедленной деполимеризации можно объяснить потерей энергии кавитации, поскольку энергия

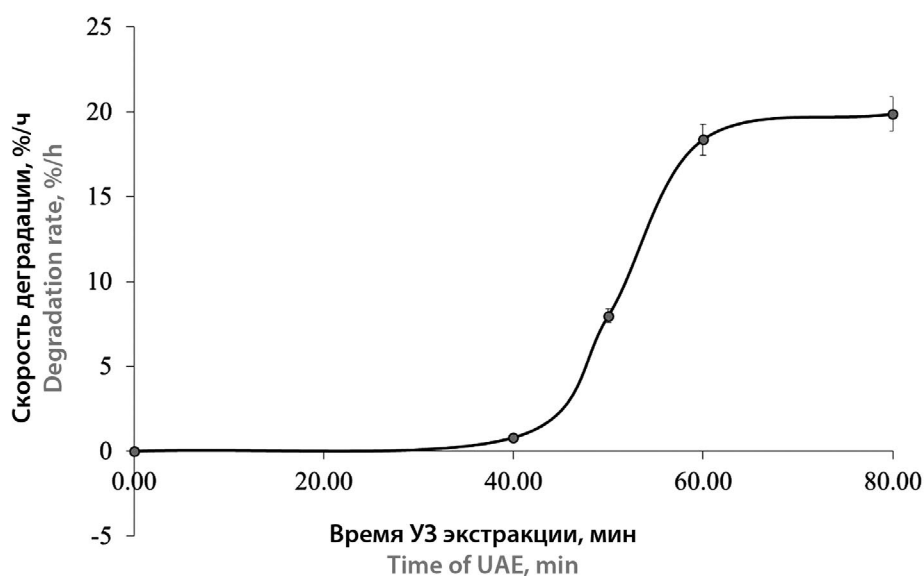


Рисунок 1. Скорость деградации фукоидана под действием ультразвука при экстракции

Figure 1. Changes of degradation rate of fucoidan with increasing ultrasonic time

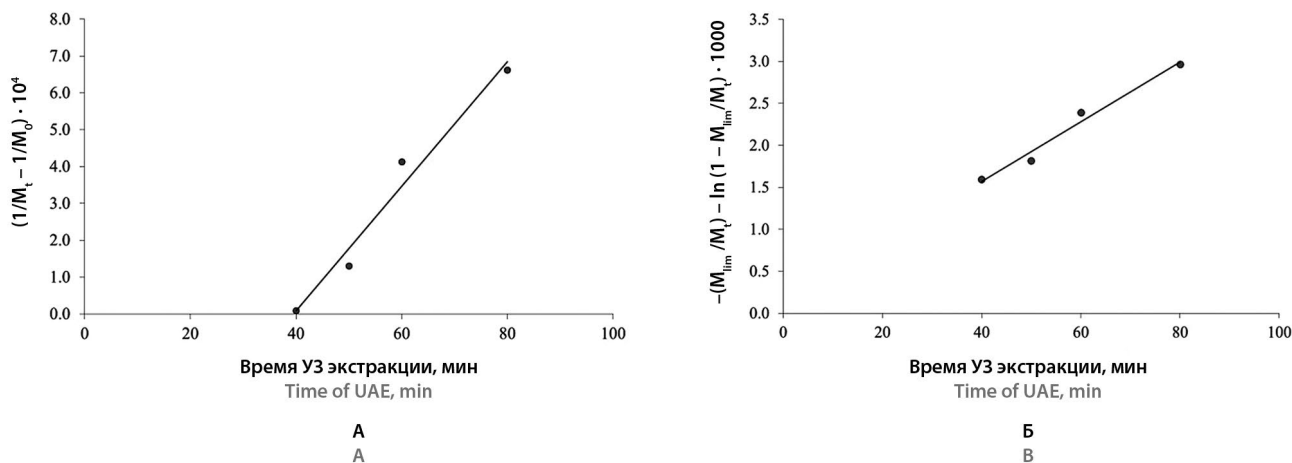


Рисунок 2. Модельные кривые деградации фукоидана при экстракции под действием УЗ.

А – Кинетическая модель деградации второго порядка; **Б** – Модель случайного разрыва цепи

Figure 2. Model curves of fucoidan degradation during UAE.

A – Second-order kinetic model of degradation; **B** – Random scission model

легче выходит из кавитационных пузырьков при более высокой температуре. Использование температуры 25 °С при УЗ-экстракции *F. vesiculosus* позволило снизить скорость разложения фукоидана в ходе экстракции.

Для описания механизма разрыва цепи полимеров были исследованы две модели: модель средней точки и модель случайного разрушения. Модель разрушения средней точки предполагает, что разрыв цепи происходит в центре основной цепи и, напротив, модель случайного разрушения предполагает, что разрушение полимера является случайным и любая цепная связь обладает одинаковой вероятностью разрушения [21, 22].

Было установлено, что модель случайного разрыва демонстрирует лучшую линейную зависимость, чем график модели разрыва в средней точке. Кроме того, значение R^2 модели случайного разрыва (>0,98) показало, что эта модель более приемлема для описания экспериментальных данных (рисунок 2, Б). Таким образом, УЗ-деградация фукоидана происходила преимущественно за счет случайного разрыва. Аналогично модель случайного разрыва полисахаридной цепи оказалась более подходящей для описания УЗ-деградации фукоидана трепанга [11], в то время как для полисахаридов другой структуры характерна деградация под действием УЗ в соответствии с моделью разрыва в средней точке, как, например, для хитозана [21], глюкоманнана [23] и пектина [24].

Зависимость средней молекулярной массы фукоидана и коэффициента полидисперсности от продолжительности воздействия УЗ при экстракции показана на рисунке 3.

Средневесовая молекулярная масса M_w в течение первых 40 мин экстракции с использованием УЗ практически не изменялась в выбранных условиях: модуль экстракции 1:30, температура 25 °С. Затем

наблюдали постепенное снижение M_w с 520 кДа до 360 кДа через 80 мин. Значения индекса полидисперсности, которые указывают на распределение M_w , быстро увеличивались с 1,45 до 2,28. Ранее сообщалось, что высокомолекулярные полимеры с длинными цепями преимущественно разрушаются под действием силы сдвига, возникающей в результате быстрого схлопывания кавитационных пузырьков [21, 25]. Увеличение значений индекса полидисперсности в первые 50 мин обусловлено присутствием в экстракционной среде как нативных, так и разрушенных остатков молекул фукоидана. После дальнейшей УЗ-обработки наблюдали смещение M_w в область с более низкой молекулярной массой, что привело к узкому молекулярно-массовому распределению.

Функциональные группы фукоидана *F. vesiculosus*, полученного динамической мацерацией, сравнивали со спектрами фукоидана, полученного УЗ-экстракцией при оптимальных параметрах процесса (время экстракции 40 мин), методом ИК-фурье-спектроскопии в диапазоне длин волн 3500–800 cm^{-1} (рисунок 4). Следует отметить широкую характеристическую полосу с максимумом при 3421 cm^{-1} , характеризующую группу О—Н. Полосы поглощения при 2924 и 2851 cm^{-1} показывают, что в образовании гидроксильных групп участвуют водородные связи макромолекулы. Наличие интенсивных сигналов при 1619 cm^{-1} свидетельствует о валентных колебаниях С=С, также их можно объяснить асимметричными валентными колебаниями С=О уроновых кислот. Полоса поглощения при 1426 cm^{-1} была отнесена к деформационным колебаниям С—ОН. Полосу при 1269 cm^{-1} можно объяснить асимметричным валентным колебанием S=O в сульфатных группах. Два пика при 1075–1036 cm^{-1} соответствуют валентным колебаниям полуацетата С—О и валентным колебаниям С—О и С—С пиранозных

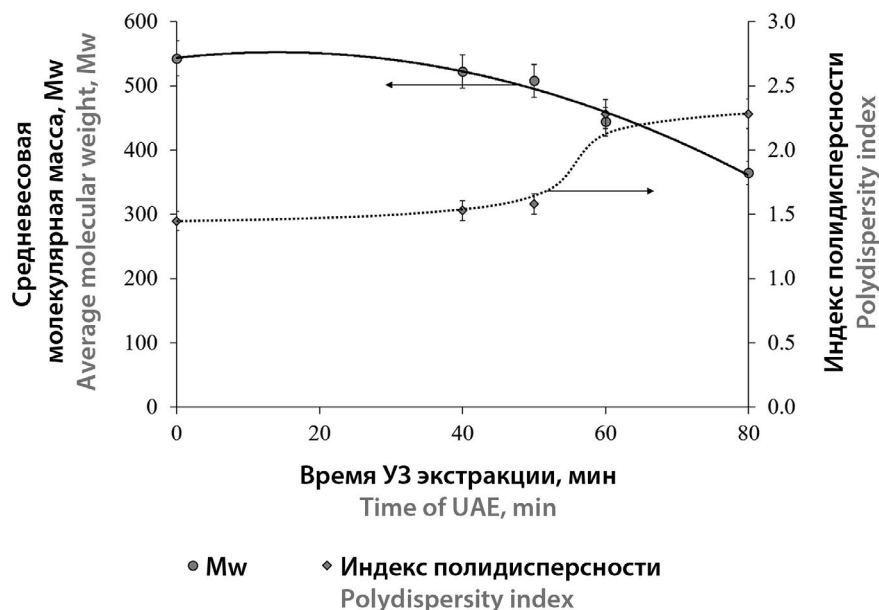


Рисунок 3. Влияние длительности УЗ на средние значения Mw и индекса полидисперсности фукоидана при экстракции *F. vesiculosus*

Figure 3. Effect of UAE time on the weight average molecular weight Mw and polydispersity index of fucoidan during *F. vesiculosus* extraction

колец. Плечо, наблюдаемое при 946 см^{-1} , может быть связано с валентным колебанием C—O уроновой кислоты. Характеристический пик при 818 см^{-1} показывает, что в образовании сульфатных групп C—O—S присутствует изгиб сульфата в экваториальном положении; сульфат, связанный в экваториальном положении C-2 и C-3 L-фукозы, и плечо при 840 см^{-1} было приписано сульфатным группам в аксиальном положении C-4 [26]. Для образца фукоидана, полученного УЗ-экстракцией, основные характеристические пики при $3421, 2924, 1269, 1075\text{--}1036$ и 891 см^{-1} были практически идентичны характеристическим пикам фукоидана, полученного мацерацией.

Сходство ИК-фурье-спектров фукоидана, полученного мацерацией и УЗ-экстракцией, указывает на то, что основные повторяющиеся звенья цепи фукоидана не разрушаются УЗ. Более того, не было явного изменения характеристических полос при 1269 и 818 см^{-1} , вызванных растяжением S=O и изгибной вибрацией C—O—S, что указывает на отсутствие значимого десульфатирования во время УЗ-обработки. Результаты подтвердили тот факт, что не произошло никаких существенных изменений в основных ИК-фурье-спектрах фукоидана после УЗ-экстракции.

Содержание сульфатов и фукозы как основной мономерной единицы фукоидана приведено на рисунке 5.

Анализ количественного содержания сульфатов и фукозы до и после УЗ-экстракции показал (рисунок 5), что в течение первых 40 мин экстракции содержание сульфатных групп и фукозы не изменя-

ется, а затем наблюдается снижение сульфатов с $24,7\text{ г}/100\text{ г а.с.м.}$ до $16,7\text{ г}/100\text{ г а.с.м.}$, при этом уровень фукозы остается практически неизменным. Эти результаты подтверждают тот факт, что деградация фукоидана происходила без каких-либо значительных побочных реакций и значительного восстановления сульфатных групп. Таким образом, можно сделать вывод, что вся повторяющаяся единица исходного фукоидана все еще существовала в полученном при УЗ-экстракции фукоидане.

В этом исследовании антиоксидантная активность *in vitro* фукоидана, полученного мацерацией и УЗ-экстракцией, была исследована методом FRAP, а данные представлены на рисунке 5. Важную роль в АОА полисахаридов играет их молекулярная масса, причем способность блокировать свободные радикалы возрастает с уменьшением молекулярной массы [11]. АОА образца фукоидана (рисунок 5) увеличивалась в течение начального периода обработки УЗ, а затем показала тенденцию к снижению по мере продолжения УЗ-обработки. Увеличение АОА на первом этапе может быть обусловлено несколькими причинами [11]: во-первых, молекулы полисахаридов с меньшей молекулярной массой и внутримолекулярными водородными связями имеют больше свободных гидроксильных и аминогрупп; во-вторых, полисахариды с более низкой молекулярной массой содержат больше редуцирующих сахаров (фукозы) при том же уровне массовой концентрации. Однако на втором этапе снижение Mw замедлялось (рисунок 3), при этом изменение состава полисахарида было более выраженным, что приводило к снижению АОА.

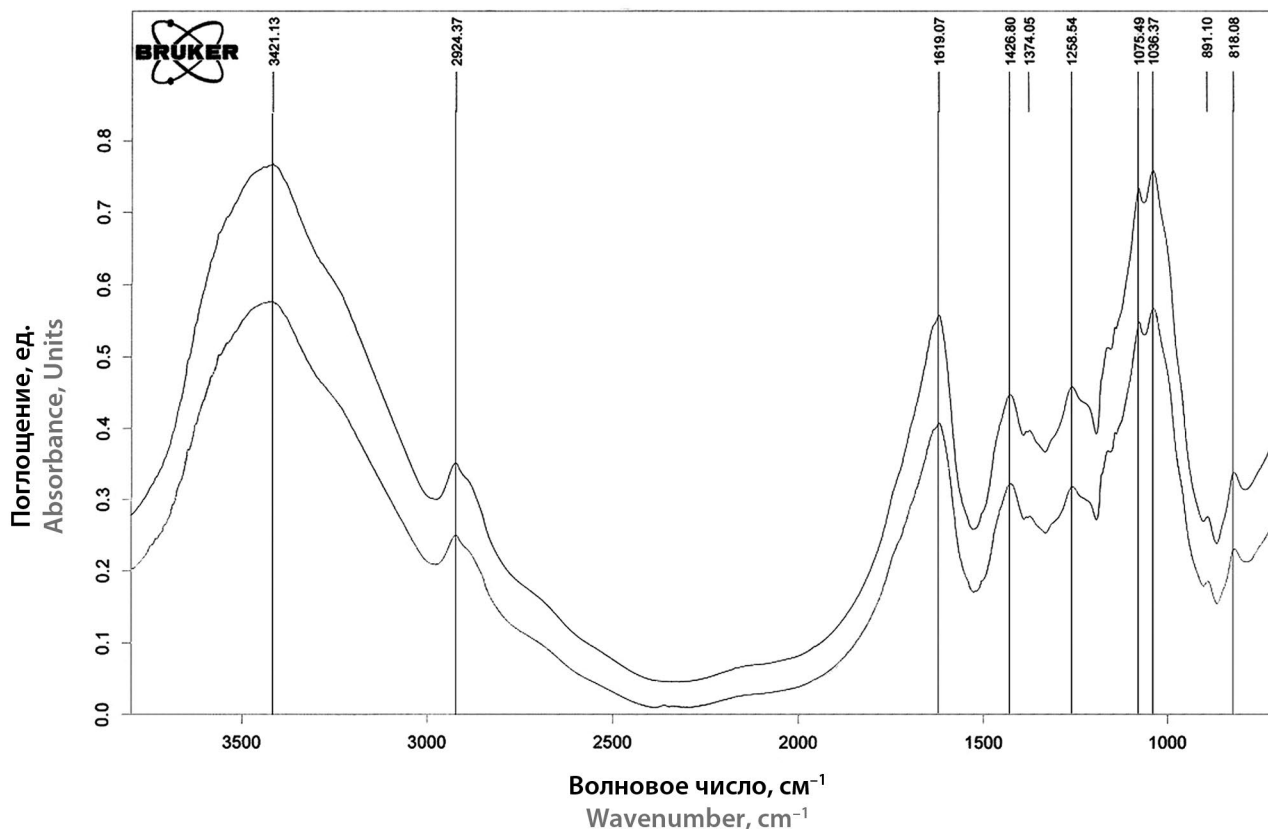


Рисунок 4. ИК-фурье-спектры фукоидана, выделенного методом динамической мацерации (верхняя линия), и фукоидана, полученного при низкочастотной УЗ-экстракции (нижняя линия) в течение 40 минут

Figure 4. FT-IR spectra of fucoidan after dynamic maceration (top line) and fucoidan after ultrasonic extraction (bottom line) for 40 minutes

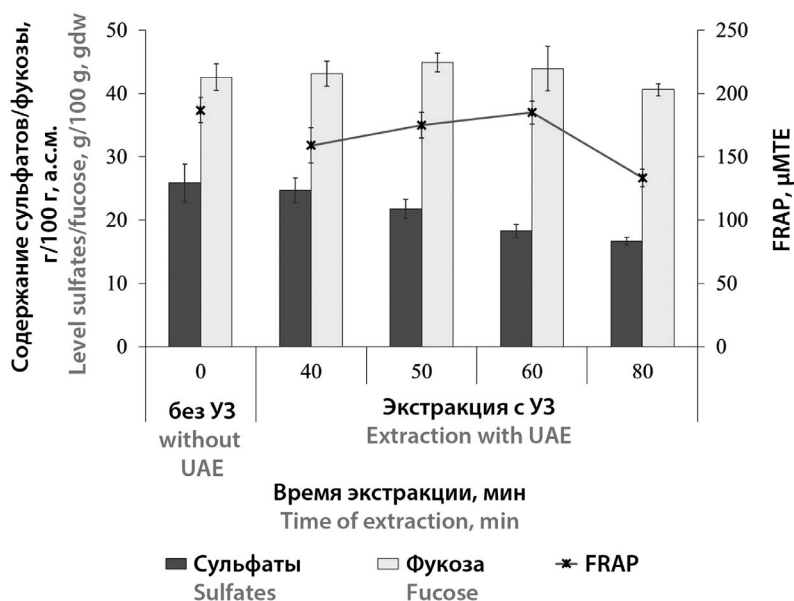


Рисунок 5. Влияние времени УЗ-экстракции *F. vesiculosus* на содержание сульфатов/фукозы и антиоксидантную активность фукоидана

Figure 5. Effect of ultrasonic extraction time of *F. vesiculosus* on sulfate/fucose content and antioxidant activity of fucoidan

УЗ-процесс – это мягкий, эффективный и экологически чистый метод экстракции. На начальном этапе экстракции (0–60 мин) Mw фукоидана снизилась, при этом АОА разложившихся фракций усилилась. Таким образом, мы предположили, что деградация происходит главным образом за счет механического воздействия, а не за счет изменения химического состава. Активные группы, отвечающие за АОА, не были повреждены. Следовательно, разрыв водородных связей между молекулами фукоидана является основной причиной снижения Mw на этой стадии. По мере продолжения УЗ-экстракции Mw снижалась в меньшей степени. В то же время снижение АОА может являться показателем разрушения некоторых других биологически активных веществ, соэкстрагируемых с фукоиданом, например полифенольных соединений [15]. Показано, что применение УЗ-экстракции более 40 мин приводит к снижению выхода фенольных кислот, флавоноидов, а также гидролизу флавоноидных гликозидов [27]. Известно, что УЗ-волна может вызвать сдвиговую силу и образовать радикалы Н• и НО•. На основании результатов химического анализа и определения АОА мы предположили, что возможный УЗ-механизм воздействия на фукоидан может представлять собой комбинацию механической и свободнорадикальной деградации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение следует отметить, что в настоящем исследовании были изучены предварительная характеристика, кинетика деградации и антиоксидантная активность *in vitro* фукоидана из *F. vesiculosus*, выделенного методом динамической мацерации и низкочастотной УЗ-экстракции. Результаты показали, что при УЗ-экстракции происходит снижение молекулярной массы фукоидана. Математическая модель кинетики второго порядка $1/M_t - 1/M_0 = k \cdot t$ оказалась работоспособной для контроля экстракции и деградации фукоидана во время УЗ-экстракции. Уменьшение молекулярной массы со временем при УЗ-экстракции фукоидана соответствовало кинетической модели случайного разрыва цепи. Предварительный анализ структуры фукоидана без УЗ и после экстракции ультразвуком показал, что они не были изменены. Изучение антиоксидантной активности показало, что фукоидан после УЗ-экстракции, несмотря на снижение молекулярной массы, демонстрировал значительную антиоксидантную активность *in vitro*. Таким образом, низкочастотная ультразвуковая экстракция как мягкий, экологически чистый метод, который может быть осуществлен за короткий промежуток времени, может эффективно улучшить антиоксидантную активность фукоидана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Усов А. И., Билан М. И. Фукоиданы – сульфатированные полисахариды бурых водорослей. *Успехи химии*. 2009;78(8): 846–862. DOI: 10.1070/RC2009v078n08ABEH004063.
2. Lomartire S., Gonçalves A. M. M. Algal phycocolloids: bioactivities and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*. 2023;21(7):384. DOI: 10.3390/md21070384.
3. George A., Shrivastav P. S. Fucooidan, a brown seaweed polysaccharide in nanodrug delivery. *Drug Delivery and Translational Research*. 2023;13:2427–2446. DOI: 10.1007/s13346-023-01329-4.
4. Супрунчук В. Е., Денисова Е. В. Фукоидан как компонент при разработке таргентных систем доставки лекарственных веществ. *Молекулярная медицина*. 2019;17(5):23–29. DOI 10.29296/24999490-2019-05-03.
5. Flórez-Fernández N., Balboa E. M., Domínguez H. Extraction and purification of fucooidan from marine sources. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*. 2020;2:1093–1125. DOI: 10.1002/9781119143802.ch44.
6. Zayed A., Ulber R. Fucooidans: Downstream processes and recent applications. *Marine Drugs*. 2020;18:170. DOI: 10.3390/md18030170.
7. Gomez L. P., Alvarez C., Zhao M., Tiwari U., Curtin J., Garcia-Vaquero M., Tiwari B. K. Innovative processing strategies and technologies to obtain hydrocolloids from macroalgae for food applications. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116784. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116784.
8. Облучинская Е. Д., Минина С. А. Совершенствование способа получения экстракта из шрота фукусовых водорослей. *Химико-Фармацевтический Журнал*. 2004;38(6):36–39. DOI: 10.30906/0023-1134-2004-38-6-36-39.
9. Hmelkov A. B., Zvyagintseva T. N., Shevchenko N. M., Rasin A. B., Ermakova S. P. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucooidan fractions. *Journal of Applied Phycology*. 2018;30:2039–2046. DOI: 10.1007/s10811-017-1342-9.
10. Jayawardena T. U., Nagahawatta D. P., Fernando I. P. S., Kim Y.-T., Kim J.-S., Kim W.-S., Lee J. S., Jeon Y.-J. A Review on fucooidan structure, extraction techniques, and its role as an immunomodulatory agent. *Marine Drugs*. 2022;20(12):755. DOI: 10.3390/md20120755.
11. Guo X., Ye X., Sun Y., Wu D., Wu N., Hu Y., Chen S. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucooidan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62(5):1088–1095. DOI: 10.1021/jf404717y.
12. Елапов А. А., Кузнецов Н. Н., Марахова А. И. Применение ультразвука в экстракции биологически активных соединений из растительного сырья, применяемого или перспективного для применения в медицине (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):96–116. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116.
13. Белокуров С. С., Флисюк Е. В., Смехова И. Е. Выбор метода экстрагирования для получения извлечений из семян пажитника сеного с высоким содержанием биологически активных веществ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(3):35–39. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-3-35-39.
14. Kaleta A., Frolova N., Orlova A., Soboleva A., Osmolovskaya N., Flisyuk E., Pozharitskaya O., Frolov A., Shikov A. The effects of selected extraction methods and natural deep eutectic solvents on the recovery of active principles from *Aralia elata* var. *mandshurica* (Rupr. & Maxim.) J. Wen: A non-targeted metabolomics approach. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):355. DOI: 10.3390/ph17030355.

- Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Shikov A. N. In Vitro anti-inflammatory activities of fucoidans from five species of brown seaweeds. *Marine Drugs*. 2022;20(10):606. DOI: 10.3390/md20100606.
- Ayrapetyan O. N., Obluchinskaya E. D., Zhurishkina E. V., Skorik Yu. A., Lebedev D. V., Kulminskaya A. A., Lapina I. M. Antibacterial properties of fucoidans from the brown algae *Fucus vesiculosus* L. of the Barents sea. *Biology*. 2021;10(1):67. DOI: 10.3390/biology10010067.
- Jo B. W., Choi S.-K. Degradation of fucoidans from *Sargassum fulvellum* and their biological activities. *Carbohydrate Polymers*. 2014;111:822–829. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.049.
- Гаврилова А. С., Манаенков О. В., Филатова А. Е. Исследование влияния ультразвукового воздействия на микрокристаллическую целлюлозу. *Вестник ТвГТУ*. 2015;27(1):60–66.
- Zayed A., El-Aasr M., Ibrahim A.-R. S., Ulber R. Fucoidan characterization: Determination of purity and physicochemical and chemical properties. *Marine Drugs*. 2020;18(11):571. DOI: 10.3390/md18110571.
- Yan J.-K., Wang Y.-Y., Ma H.-L., Wang Z.-B. Ultrasonic effects on the degradation kinetics, preliminary characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Phellinus linteus* mycelia. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2016;29:251–257. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2015.10.005.
- Wu T., Zivanovic S., Hayes D. G., Weiss J. Efficient reduction of chitosan molecular weight by high-intensity ultrasound: underlying mechanism and effect of process parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(13):5112–5119. DOI: 10.1021/jf073136q.
- Pu Y., Zou Q., Hou D., Zhang Y., Chen S. Molecular weight kinetics and chain scission models for dextran polymers during ultrasonic degradation. *Carbohydrate Polymers*. 2017;156:71–76. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.09.017.
- Yin J.-Y., Ma L.-Y., Siu K.-C., Wu J.-Y. Effects of ultrasonication on the conformational, microstructural, and antioxidant properties of konjac glucomannan. *Applied Sciences*. 2019;9(3):461. DOI: 10.3390/app9030461.
- Zhang L., Ye X., Ding T., Sun X., Xu Y., Liu D. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013;20(1):222–231. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.021.
- Czechowska-Biskup R., Rokita B., Lotfy S., Ulanski P., Rosiak J. M. Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. *Carbohydrate Polymers*. 2005;60(2):175–184. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.12.001.
- Flórez-Fernández N., López-García M., González-Muñoz M. J., López Vilariño J. M., Domínguez H. Ultrasound-assisted extraction of fucoidan from *Sargassum muticum*. *Journal of Applied Phycology*. 2017;29:1553–1561. DOI: 10.1007/s10811-016-1043-9.
- Wang P., Cheng C., Ma Y., Jia M. Degradation behavior of polyphenols in model aqueous extraction system based on mechanical and sonochemical effects induced by ultrasound. *Separation and Purification Technology*. 2020;247:116967. DOI: 10.1016/j.seppur.2020.116967.
- Lomartire S., Gonçalves A. M. M. Algal phycocolloids: bioactivities and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*. 2023;21(7):384. DOI: 10.3390/md21070384.
- George A., Shrivastav P. S. Fucoidan, a brown seaweed polysaccharide in nanodrug delivery. *Drug Delivery and Translational Research*. 2023;13:2427–2446. DOI: 10.1007/s13346-023-01329-4.
- Suprunchuk V. E., Denisova E. V. Fucoidan as a component in the development of target systems for the delivery of medicinal substances. *Molecular medicine*. 2019;17(5):23–29. (In Russ.) DOI 10.29296/24999490-2019-05-03.
- Flórez-Fernández N., Balboa E. M., Domínguez H. Extraction and purification of fucoidan from marine sources. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*. 2020;2:1093–1125. DOI: 10.1002/9781119143802.ch44.
- Zayed A., Ulber R. Fucoidans: Downstream processes and recent applications. *Marine Drugs*. 2020;18:170. DOI: 10.3390/md18030170.
- Gomez L. P., Alvarez C., Zhao M., Tiwari U., Curtin J., Garcia-Vaquero M., Tiwari B. K. Innovative processing strategies and technologies to obtain hydrocolloids from macroalgae for food applications. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116784. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116784.
- Obluchinskaya E. D., Minina S. A. Improvement of the method for obtaining extract from fucus algae meal. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2004;38(6):36–39. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2004-38-6-36-39.
- Hmelkov A. B., Zvyagintseva T. N., Shevchenko N. M., Rasin A. B., Ermakova S. P. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucoidan fractions. *Journal of Applied Phycology*. 2018;30:2039–2046. DOI: 10.1007/s10811-017-1342-9.
- Jayawardena T. U., Nagahawatta D. P., Fernando I. P. S., Kim Y.-T., Kim J.-S., Kim W.-S., Lee J. S., Jeon Y.-J. A Review on fucoidan structure, extraction techniques, and its role as an immunomodulatory agent. *Marine Drugs*. 2022;20(12):755. DOI: 10.3390/md20120755.
- Guo X., Ye X., Sun Y., Wu D., Wu N., Hu Y., Chen S. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucoidan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62(5):1088–1095. DOI: 10.1021/jf404717y.
- Elapov A. A., Kuznetsov N. N., Marakhova A. I. The Use of Ultrasound in the Extraction of Biologically Active Compounds from Plant Raw Materials, Used or promising for Use in Medicine (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(4):96–116. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116.
- Belokurov S. S., Flysyuk E. V., Smekhova I. E. Choice of Extraction Method for Receiving Extraction from Seeds of Payne Hay with the High Content of Biologically Active Substances. *Drug development & registration*. 2019;8(3):35–39. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-3-35-39.
- Kaleta A., Frolova N., Orlova A., Soboleva A., Osmolovskaya N., Flisyuk E., Pozharitskaya O., Frolov A., Shikov A. The effects of selected extraction methods and natural deep eutectic solvents on the recovery of active principles from *Aralia elata* var. *mandshurica* (Rupr. & Maxim.) J. Wen: A non-targeted metabolomics approach. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):355. DOI: 10.3390/ph17030355.

REFERENCES

- Usov A. I., Bilan M. I. Fucoidans – sulfated polysaccharides of brown algae. *Russian Chemical Reviews*. 2009;78(8):785–799. (In Russ.) DOI: 10.1070/RC2009v078n08ABEH004063.

15. Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Shikov A. N. In Vitro anti-inflammatory activities of fucoidans from five species of brown seaweeds. *Marine Drugs*. 2022;20(10):606. DOI: 10.3390/md20100606.
16. Ayrapetyan O. N., Obluchinskaya E. D., Zhurishkina E. V., Skorik Yu. A., Lebedev D. V., Kulminskaya A. A., Lapina I. M. Antibacterial properties of fucoidans from the brown algae *Fucus vesiculosus* L. of the Barents sea. *Biology*. 2021;10(1):67. DOI: 10.3390/biology10010067.
17. Jo B. W., Choi S.-K. Degradation of fucoidans from *Sargassum fulvellum* and their biological activities. *Carbohydrate Polymers*. 2014;111:822–829. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.049.
18. Gavrilova A. S., Manaenkov O. V., Filatova A. E. Research of microcrystalline cellulose ultrasonic treatment. *Vestnik of Tver State Technical University*. 2015;27(1):60–66. (In Russ.)
19. Zayed A., El-Aasr M., Ibrahim A.-R. S., Ulber R. Fucoidan characterization: Determination of purity and physicochemical and chemical properties. *Marine Drugs*. 2020;18(11):571. DOI: 10.3390/md18110571.
20. Yan J.-K., Wang Y.-Y., Ma H.-L., Wang Z.-B. Ultrasonic effects on the degradation kinetics, preliminary characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Phellinus linteus* mycelia. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2016;29:251–257. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2015.10.005.
21. Wu T., Zivanovic S., Hayes D. G., Weiss J. Efficient reduction of chitosan molecular weight by high-intensity ultrasound: underlying mechanism and effect of process parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56(13):5112–5119. DOI: 10.1021/jf073136q.
22. Pu Y., Zou Q., Hou D., Zhang Y., Chen S. Molecular weight kinetics and chain scission models for dextran polymers during ultrasonic degradation. *Carbohydrate Polymers*. 2017;156:71–76. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.09.017.
23. Yin J.-Y., Ma L.-Y., Siu K.-C., Wu J.-Y. Effects of ultrasonication on the conformational, microstructural, and antioxidant properties of konjac glucomannan. *Applied Sciences*. 2019;9(3):461. DOI: 10.3390/app9030461.
24. Zhang L., Ye X., Ding T., Sun X., Xu Y., Liu D. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013;20(1):222–231. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.021.
25. Czechowska-Biskup R., Rokita B., Lotfy S., Ulanski P., Rosiak J. M. Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. *Carbohydrate Polymers*. 2005;60(2):175–184. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.12.001.
26. Flórez-Fernández N., López-García M., González-Muñoz M. J., López Vilariño J. M., Domínguez H. Ultrasound-assisted extraction of fucoidan from *Sargassum muticum*. *Journal of Applied Phycology*. 2017;29:1553–1561. DOI: 10.1007/s10811-016-1043-9.
27. Wang P., Cheng C., Ma Y., Jia M. Degradation behavior of polyphenols in model aqueous extraction system based on mechanical and sonochemical effects induced by ultrasound. *Separation and Purification Technology*. 2020;247:116967. DOI: 10.1016/j.seppur.2020.116967.

КОНФЕРЕНЦИЯ GLP-PLANET VI



СОВМЕСТНО с АССОЦИАЦИЕЙ
СПЕЦИАЛИСТОВ по ЛАБОРАТОРНЫМ
ЖИВОТНЫМ **RUS-LASA**



Санкт-Петербург, 2–4 июля 2025 г.

Приглашаем Вас принять участие в работе международной научно-практической конференции GLP-PLANET, которая будет проходить **2–4 июля 2025 г.** в конгресс-холле **Отеля «Санкт-Петербург»** (Пироговская наб., д. 5/2).

GLP-PLANET является ежегодной конференцией, которая собирает ведущих специалистов в области доклинических исследований, представителей фармацевтических компаний и регулятора, представителей профессиональных объединений и сообществ, экспертов в области систем менеджмента качества и надлежащей лабораторной практики (GLP).

ТЕМАТИЧЕСКИЕ СЕССИИ

| | |
|---|---------------|
| Доклинические исследования генотерапевтических лекарственных препаратов | 02.07.2025 |
| Доклинические исследования клеточных продуктов | 02.07.2025 |
| Культура доклинических исследований | 03.07.2025 |
| Репродуктивные технологии и репродуктивная токсичность | 04.07.2025 |
| Иммуноферментный анализ в доклинических исследованиях | 04.07.2025 |
| GLP-инжиниринг | 02.07.2025 |
| Экспериментальные модели | 03.07.2025 |
| Доклинические исследования вакцин | 04.07.2025 |
| Биомоделирование в экстремальной медицине | 04.07.2025 |
| Наука – дело молодых | 02-03.07.2025 |
| Нейробиология <i>in vivo</i> | 03.07.2025 |
| Лабораторное животноводство | 03.07.2025 |
| Гуманная экспериментальная техника. Практические аспекты | 04.07.2025 |

МАСТЕР-КЛАССЫ

| | |
|---|------------|
| Мастер-класс «Подводные камни при планировании и проведении экспериментальной работы или откуда берутся результаты исследований, которым нельзя слепо верить» | 02.07.2025 |
| Мастер-класс «Программное обеспечение для лабораторий» | 02.07.2025 |
| Мастер-класс «Квалификация лабораторного оборудования» | 02.07.2025 |
| Общее собрание Ассоциации специалистов по лабораторным животным Rus-LASA | 04.07.2025 |
| Круглый стол «Как организовать деятельность этической Комиссии?» | 02.07.2025 |
| Квиз «доклинический случай» | 03.07.2025 |
| Мастер-класс «Оценка степени тяжести экспериментальных процедур в исследованиях на грызунах» | 04.07.2025 |
| Мастер-класс «Подходы к проектированию и технологические процессы в современном виварии» | 03.07.2025 |
| Мастер-класс «Подходы к проектированию и технологические процессы в современном виварии» | 04.07.2025 |
| Мастер-класс «Размер имеет значение» | 04.07.2025 |

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

+7 (981) 041-01-45

sci.secretary@glp-planet.com

glp-planet.com

РЕГИСТРАЦИЯ



ПРОГРАММА





Применение метода влажной грануляции в технологии таблеток 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина, повышающего детоксицирующую функцию печени

А. И. Петраков✉, В. В. Шейкин, С. В. Кривошеков, А. М. Гурьев, М. В. Белоусов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России). 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

✉ Контактное лицо: Петраков Александр Игоревич. E-mail: aipp19@yandex.ru

ORCID: А. И. Петраков – <https://orcid.org/0009-0001-9625-0498>;
В. В. Шейкин – <https://orcid.org/0000-0002-0600-5764>;
С. В. Кривошеков – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
А. М. Гурьев – <https://orcid.org/0000-0002-1120-4979>;
М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Статья поступила: 23.08.2024

Статья принята в печать: 10.04.2025

Статья опубликована: 11.04.2025

Резюме

Введение. 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантин является перспективным веществом-индуктором монооксигеназной системы гепатоцитов, по данным доклинических исследований повышающим детоксицирующую функцию гепатоцитов на моделях неконъюгированной гипербилирубинемии, ишемии печени, токсического гепатита, острой гипобарической гипоксии. Ранее показана возможность получения таблеток на основе 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина методом прямого прессования, однако при дальнейшей разработке с увеличением загрузки таблеточной массы выявлены сложности с полной заполнением матрицы таблетпресса, что связано с недостаточной сыпучестью таблеточной массы. Это приводило к ухудшению однородности дозирования и увеличению количества брака по параметру средней массы. В рамках дальнейшей фармацевтической разработки и улучшения технологических свойств таблеточной массы предпринята попытка применить метод влажной грануляции для получения таблеток 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина с сохранением состава наполнителей (лактозы моногидрата и микрокристаллической целлюлозы) и формы, выдерживающих испытания согласно Государственной фармакопее РФ. Для этого изучено влияние связывающих веществ, антифрикционных агентов и размера гранул на технологические свойства таблетлируемой массы, проведен анализ распадаемости и прочности таблеток.

Цель. Разработка состава для влажного гранулирования 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина с получением гранул, обладающих оптимальными технологическими свойствами для получения таблеток высокого качества, выдерживающих испытания согласно Государственной фармакопее РФ.

Материалы и методы. Для получения гранул в качестве исходного сырья использовали фармацевтическую субстанцию 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина (серия DPDX280424001). Использовали как наполнители лактозы моногидрат (200-559-2, ООО «Нефтегазхимкомплект», Россия), микрокристаллическую целлюлозу (100-32-2, Silverline chemicals Ltd., Индия), крахмал картофельный и гидроксипропилцеллюлозу (ZW180113, Fengchen Group Co., Ltd., Китай), воду очищенную. Связывающие вещества представлены 5%-м гелем поливинилпирролидона, 5%-й крахмальной слизью и 5%-м гелем гидроксипропилметилцеллюлозы. Как антифрикционные вещества рассматривали магния стеарат (209-150-3, Ataman Chemicals, Турция), кальция стеарат и тальк (ООО «Агат-Мед», Россия). Таблеточные массы оценивали по показателям силы выталкивания таблетки из матрицы, сыпучести, насыпной плотности, прессуемости. В качестве пресс-станка использовали пресс для таблеток EP-1 (ERWEKA GmbH, Германия). Оценивали прочность на раздавливание, распадаемость и среднюю массу полученных таблеток. Анализ получаемых таблеток проводили в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации по параметрам «средняя масса», «прочность на раздавливание», «распадаемость».

Результаты и обсуждение. На основе латинского квадрата с применением шкалы желательности Харрингтона с последующим дисперсионным анализом экспериментальных данных выявлено, что наибольшее влияние на сыпучесть гранул 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина оказывает размер (влияние до 77,68 %,

оптимальный размер гранул 0,5–1 мм). Влияние связывающих агентов на распадаемость и прочность составило до 99,38 и до 95,35 % соответственно. Получение гранул с применением в качестве связывающего агента 5%-й крахмальной слизи позволило увеличить сыпучесть таблеточной массы с 3,5–4,0 до 12,5–12,9 г/с в сравнении с сыпучестью аналогичного состава таблеточной массы без применения метода влажной грануляции. Отклонение в средней массе не превышало 5 %, полученные таблетки не имели дефектов, сколов, выдерживали испытания на прочность и распадаемость.

Заключение. В результате проведенных экспериментов изучено влияние влажной грануляции на технологические свойства таблеточной массы 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидроthiazоло[2,3-F]ксантина. Полученные гранулы обладали повышенной сыпучестью в сравнении с исходной таблеточной массой, что позволило исключить неполную заполняемость матрицы таблетпресса, улучшило однородность дозирования, исключило образование брака и дефектов таблеток с сохранением их прочности и распадаемости в сравнении с методом прямого прессования. Улучшение сыпучести смеси за счет образования гранул также позволяет рассматривать в качестве дополнительных лекарственных форм 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидроthiazоло[2,3-F]ксантина капсулы и саше-пакеты.

Ключевые слова: влажная грануляция, индуктор цитохрома P450, цитохром P450, таблетки, антифрикционные агенты, связывающие вещества

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

Вклад авторов. М. В. Белоусов, А. М. Гурьев являлись руководителями исследования. В. В. Шейкин, А. И. Петраков проводили исследование. А. И. Петраков, С. В. Кривошеков написали текст статьи. Все авторы принимали участие в обсуждении.

Для цитирования: Петраков А. И., Шейкин В. В., Кривошеков С. В., Гурьев А. М., Белоусов М. В. Применение метода влажной грануляции в технологии таблеток 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидроthiazоло[2,3-F]ксантина, повышающего детоксицирующую функцию печени. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):123–134. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1907>

Wet granulation method in the technology of 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine tablets, which increases the detoxifying function of the liver

Aleksandr I. Petrakov ✉, **Vladimir V. Sheikin**, **Sergei V. Krivoshchekov**,
Artem M. Guryev, **Mikhail V. Belousov**

Siberian State Medical University, SSMU. 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia

✉ **Corresponding author:** Aleksandr I. Petrakov. **E-mail:** aipp19@yandex.ru

ORCID: Aleksandr I. Petrakov – <https://orcid.org/0009-0001-9625-0498>;
Vladimir V. Sheikin – <https://orcid.org/0000-0002-0600-5764>;
Sergei V. Krivoshchekov – <https://orcid.org/0000-0001-5505-7141>;
Artem M. Guryev – <https://orcid.org/0000-0002-1120-4979>;
Mikhail V. Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>.

Received: 23.08.2024

Accepted: 10.04.2025

Published: 11.04.2025

Abstract

Introduction. 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine is a promising substance-inducer of the monoxygenase system of hepatocytes, according to preclinical studies, increasing the detoxifying function of hepatocytes in models of acute hypobaric hypoxia, liver ischemia, unconjugated hyperbilirubinemia, toxic hepatitis. Previously, the possibility of tablets based on 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine by direct pressing was shown. However, during the development process, with an increase in batch volumes of tablet masses, insufficient completeness of loading of the tablet press matrix was revealed. This is due to the low flowability of the tablet mass. This led to a deterioration in the uniformity of dosage and the appearance of defects in the average weight. During pharmaceutical development was made to use the wet granulation method to obtain 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine tablets to improve the technological properties of the tablet mass. The composition of filler excipients (lactose monohydrate and microcrystalline cellulose), tablet form, and parameters of quality preserved. For this aim the influence of binders, antifriction agents and granule size on the technological properties of the tablet mass was studied. The crushing strength and disintegration of the tablets analyzed.

Aim. Development of a composition for wet granulation of 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine to obtain granules with optimal technological parameters to obtain high-quality tablets that pass tests according to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Materials and methods. To obtain granules, 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine of the DPDTX280424001 series was used as a starting material. Lactose monohydrate (200-559-2, LLC "Neftegazkhimkomplekt", Russia), microcrystalline cellulose (100-32-2, Silverline chemicals Ltd., India), potato starch and hydroxypropylcellulose (ZW180113,

Fengchen Group Co., Ltd., China) were used as filler excipients. 5 % polyvinylpyrrolidone gel, 5 % starch mucus and 5 % hydroxypropyl methylcellulose gel were considered as binder excipients. Magnesium stearate (209-150-3, Ataman Chemicals, Türkiye), calcium stearate and talc (LLC "Agat-Med", Russia) were used as antifriction agents. Tablet masses assessed in terms of the force of ejection of the tablet from the matrix, flowability, bulk density, and compressibility. An EP-1 tablet press (ERWEKA GmbH, Germany) used as a press machine. The crushing strength, disintegration, and average weight of the resulting tablets assessed. Tests carried out in accordance with the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Results and discussion. Based on the Latin square using the Harrington desirability function with analysis of variance of experimental data, it was found the greatest effect on the flowability of granules is on the granule size (influence to 77.68 %, granule size 0.5–1 mm). Influence of binder excipients to disintegration and crushing strength reached to 99.38 and 95.35 %. 5 % starch mucus as a binder excipient for obtain to granules possible to improve the flowability of the tablet mass from 3.5–4.0 to 12.5–12.9 g/s in comparison with the direct pressing method. The crushing strength and disintegration tests were successfully completed.

Conclusion. As a result of the experiments, the effect of wet granulation on the technological properties of the tablet mass of 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine was studied. The obtained granules had improved flowability compared to the initial tablet mass. This made it possible to ensure a more complete filling of the tablet press matrix, better uniformity of dosage, eliminate tablet defects and maintain strength and disintegration compared to direct pressing. The improvement of flowability due to granulation also makes it possible to consider capsules and sachets as alternative dosage forms for 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine.

Keywords: wet granulation, inducer of the cytochrome P450, cytochrome P450, tablets, antifriction agents, binders

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. Mikhail V. Belousov, Artem M. Guryev were supervisors of this work. Vladimir V. Sheikin, Aleksandr I. Petrakov conducted the study. Aleksandr I. Petrakov, Sergei V. Krivoshechekov prepared the text of the article. All the authors participated in the discussion of the results.

For citation: Petrakov A. I., Sheikin V. V., Krivoshechekov S. V., Guryev A. M., Belousov M. V. Wet granulation method in the technology of 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine tablets, which increases the detoxifying function of the liver. *Drug development & registration*. 2025;14(2):123–134. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1907>

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее распространенным заболеванием гепатобилиарной системы является неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), распространенность которой в мире достигает 25 % [1]. В настоящее время не существует ее эффективной терапии, за исключением борьбы с этиологическими факторами, к которым относятся употребление алкоголя, нездоровое питание, курение и др. [2]. Доказано, что НАЖБП приводит к снижению активности изоформы цитохрома P450 CYP3A4, являющейся одной из наиболее значимых в метаболизме ксенобиотиков и, как следствие, в детоксицирующей функции организма в целом [3, 4]. Кроме того, изменение метаболизма ксенобиотиков, связанное с нарушением работы системы цитохрома P450, отражается на фармакокинетике лекарственных средств и, следовательно, на эффективности терапии [5, 6]. Актуальным становится поиск и разработка новых лекарственных средств для поддержания ферментативной, детоксицирующей функции печени.

6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидроthiazоло[2,3-F]ксантин (ДПДТК) восстанавливает детоксицирующую функцию печени посредством индукции системы цитохрома P450, обладает низкой токсичностью и высоким потенциалом применения в лечении болезней печени [7, 8].

ДПДТК не обладает естественной сыпучестью, что требует внимания при выборе его лекарственной формы. Таблетки, по причине широкой вариативности вспомогательных веществ при корректировке технологических свойств субстанции, являются наиболее приемлемыми для разработки готовой лекарственной формы. Преимуществом таблеток является точность их дозирования, удобство и стабильность при хранении, возможность маскировки неприятных органолептических свойств и экономичность производства [9].

Ранее в рамках фармацевтической разработки на этапе лабораторной технологии коллективом авторов получены таблетки ДПДТК методом прямого прессования, удовлетворяющие требованиям Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ) [10]. В дальней-

шем с увеличением загрузки таблеточной массы выявлено, что вследствие ее низкой сыпучести происходит неполное заполнение матрицы и зависание таблеточных масс в воронке таблетпресса. Это приводило к ухудшению однородности дозирования по показателю средней массы и однородности дозирования, снижению прочности таблеток вследствие их расслоения. Для улучшения показателей сыпучести и насыпной плотности при получении таблеток ДПДТК принято решение применить метод влажной грануляции. Влажная грануляция активно применяется в современном фармацевтическом производстве, уменьшает пылеобразование, улучшает сыпучесть и однородность дозирования [11, 12].

Таким образом, при дальнейшей фармацевтической разработке и масштабировании технологии критически важными являются не только свойства целевого продукта (таблеток ДПДТК), но и улучшение технологических свойств таблетлируемой массы.

Цель. Разработка состава для влажного гранулирования 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина с получением гранул, обладающих оптимальными технологическими свойствами для получения таблеток высокого качества, выдерживающих испытания согласно ГФ РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали субстанцию 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина (серия DPDХ280424001, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России).

В качестве вспомогательных материалов применяли лактозы моногидрат (ЛМ) (200-559-2, ООО «Нефтегазхимкомплект», Россия), микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ) (100-32-2, Silverline chemicals Ltd., Индия), крахмал картофельный (КМ) (03967, Sigma-Aldrich, США), гидроксипропилметилцеллюлозу (ГПМЦ) (ZW180113, Group Co., Ltd., Китай), тальк (ООО «Агат-Мед», Россия), магния стеарат (209-150-3, Ataman Chemicals, Турция), кальция стеарат (216-472-8, Ataman Chemicals, Турция).

Гранулы оценивали по показателям: сыпучести, насыпной плотности. Анализ получаемых таблеток проводили по параметрам: средней массе, распадаемости, прочности на раздавливание. Все испытания проводились в соответствии с ГФ РФ. Измерение параметров проводили в 5 повторностях ($X + \Delta X$, $\alpha = 0,90$).

Для проведения исследований использовали следующие приборы и оборудование: весы аналитические HR-200 (AND, Япония), набор плетеных сит (Россия), ситовой анализатор CISA RP 200N в комплекте с 8 ситами $\varnothing 200 \times 50$ мм, сушильный шкаф ШС-80 (Россия), тестер сыпучести GTL (ERWEKA GmbH, Германия) со сменными насадками с диаметрами отверстий 10 мм (насадка № 1), 15 мм (насадка № 2), 25 мм (насадка № 3) (Германия), тестер насыпной плотности SVM-101 (ERWEKA GmbH, Германия), тестер истира-

емости TAR-120 (ERWEKA GmbH, Германия), тестер прочности TBH-125 (ERWEKA GmbH, Германия), прибор для определения распадаемости таблеток и капсул ZT-222 (ERWEKA GmbH, Германия), таблеточный пресс EP-1 (ERWEKA GmbH, Германия). В качестве формы таблеток выбраны облонги длиной 14 мм, шириной 5 мм. Критериями приемлемости качества выбраны время распадаемости таблеток не более 11–12 мин и прочность на раздавливание не менее 140 Н [10]. Таблеточные массы должны полностью заполнять матрицу таблетпресса, отклонение в средней массе таблеток не должно превышать 5 % (ОФС.1.4.2.0009). В качестве связывающего вещества взят раствор крахмала (крахмальную слизь) в концентрации 5 % (КМС), чтобы не допустить образования слишком плотного клейстера. Поливинилпирролидон (ПВП) и ГПМЦ применены в сравнении в тех же концентрациях.

Изучение влияния параметров влажной грануляции на свойства таблеточной массы, гранул и таблеток, получаемых из них

Метод многофакторных экспериментов активно используется для прогнозирования свойств при разработке таблеток [13, 14]. Для обоснования состава сформирован трехфакторный план на основе латинского квадрата. В качестве факторов рассмотрены: А – связывающие вещества (А1 – 5 % КМС, А2 – 5 % гель ПВП, А3 – 5 % гель ГПМЦ), В – антифрикционные вещества (В1 – тальк, В2 – кальция стеарат, В3 – магния стеарат), С – размер гранул в мм (С1 – 0,5–1, С2 – 0,25–0,5, С3 – 0,125–0,25). Матрица планирования эксперимента представлена в таблице 1.

Получение гранул: субстанцию ДПДТК смешивали с ЛМ, МКЦ и КМ в фарфоровой ступке. В полученную массу вносили раствор связывающего агента в соотношении связывающего вещества (мл) и смеси (г) 4 к 10. Полученную массу гомогенизировали и провели грануляцию через сита с апертурой 1, 0,5 и 0,25 мм.

Сушку гранул проводили в сушильном шкафу при фиксированной температуре 60 °С, отбирая навеску 1 г каждые полчаса до значения остаточной влажности менее 2 %, чтобы исключить влияние избыточной влажности МКЦ и крахмала на распадаемость таблеток [15, 16]. В соответствии с планом эксперимента полученные гранулы после сушки подвергали регрануляции до необходимого размера, отсеивали пылевую фракцию (меньше 0,125 мм). Остаточную влажность гранул оценивали по показателю потери в массе при высушивании на приборе для определения влажности MS-70 (AND, Япония). Точную навеску 1 г гранул ДПДТК помещали на чашечку влагомера, доведенную до постоянной массы, и высушивали при температуре 100–105 °С до постоянной массы [10]. Эксперимент проводили в 3 повторностях. Результаты измерений представлены в формате среднего линейного отклонения ($X \pm \Delta X$), $\alpha = 0,90$ (таблица 2).

Таблица 1. Состав прописей для получения гранул

Table 1. Composition of prescription based on the Latin square

| № прописи Prescription number | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|--|---|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Матрица эксперимента Experiment matrix | A ₁ B ₁ C ₁ | A ₁ B ₂ C ₃ | A ₁ B ₃ C ₂ | A ₂ B ₁ C ₂ | A ₂ B ₂ C ₁ | A ₂ B ₃ C ₃ | A ₃ B ₁ C ₃ | A ₃ B ₂ C ₂ | A ₃ B ₃ C ₁ |
| Ингредиенты Components | Состав прописи на 1 таблетку, г Prescription composition per one tablet, g | | | | | | | | |
| ДПДТК DPDTH | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 | 0,100 |
| ЛМ Lactose monohydrate | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 | 0,144 |
| МКЦ Microcrystalline cellulose | 0,072 | 0,072 | 0,072 | 0,072 | 0,072 | 0,072 | 0,072 | 0,072 | 0,072 |
| КМ Potato starch | 0,017 | 0,017 | 0,017 | 0,017 | 0,017 | 0,017 | 0,017 | 0,017 | 0,017 |
| КМС 5 % Starch mucus 5 % | 0,007 | 0,007 | 0,007 | – | – | – | – | – | – |
| 5%-й гель ПВП Polyvinylpyrrolidone gel 5 % | – | – | – | 0,007 | 0,007 | 0,007 | – | – | – |
| 5 % гель ГПМЦ Hydroxypropyl methylcellulose gel 5 % | – | – | – | – | – | – | 0,007 | 0,007 | 0,007 |
| Тальк Talc | 0,0034 | – | – | 0,0034 | – | – | 0,0034 | – | – |
| Кальция стеарат Calcium stearate | – | 0,0034 | – | – | 0,0034 | – | – | 0,0034 | – |
| Магния стеарат Magnesium stearate | – | – | 0,0034 | – | – | 0,0034 | – | – | 0,0034 |
| Размер гранул, мм Granule size, mm | 0,5–1 | 0,125–0,25 | 0,25–0,5 | 0,25–0,5 | 0,5–1 | 0,125–0,25 | 0,125–0,25 | 0,25–0,5 | 0,5–1 |

Таблица 2. Потеря в массе при высушивании гранул 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина

Table 2. Loss on drying of the granules 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine

| При температуре сушки 60 °C At a drying temperature of 60 °C | | Потеря в массе при высушивании, % Loss-on-drying, % | | |
|---|-----|--|-----------|-----------|
| | | Номер прописи Prescription number | | |
| | | 1–3 | 4–6 | 7–9 |
| Время сушки, мин Drying time, min | 30 | 3,2 ± 0,2 | 3,2 ± 0,3 | 3,4 ± 0,1 |
| | 60 | 2,8 ± 0,2 | 2,7 ± 0,2 | 2,8 ± 0,1 |
| | 90 | 2,1 ± 0,1 | 2,3 ± 0,2 | 2,5 ± 0,2 |
| | 120 | 1,7 ± 0,1 | 1,7 ± 0,2 | 1,8 ± 0,1 |
| | 150 | 1,6 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | 1,7 ± 0,1 |

Высушенные гранулы опудривали антифрикционным агентом массой, составляющей 1 % от массы гранул. Опудренные гранулы оценивали по показателям насыпной плотности и сыпучести (таблица 3).

Полученные после прессования гранул таблетки исследовали на прочность и распадаемость (таб-

лица 3). Результаты испытаний подвергнуты дисперсионному анализу (критерий Фишера, $p < 0,05$, $F_{\text{экс.}} > F_{\text{табл.}}$) (таблица 4).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По внешнему виду все гранулы имели белый или бело-кремовый цвет, округлую форму. По истечении 2 ч сушки остаточная влажность всех гранул достигла значения менее 2 %, что в данном режиме сушки исключает возможное влияние избыточной влажности наполнителей и дезинтеграторов в составе гранул на распадаемость таблеток, получаемых из них.

Отмечено, что гранулы, полученные с использованием 5%-го геля ПВП, обладали низкой прочностью, так как при регрануляции давали большой процент пылевидной фракции. Из результатов таблицы 3 видно, что применение в качестве связывающего агента 5%-го раствора крахмала (1–3) показало наиболее оптимальные технологические свойства как гранул, так и полученных из них таблеток. При этом по результатам дисперсионного анализа (таблица 4) степени влияния компонентов смеси и размера получаемых гранул на свойства гранул и таблеток выявлено, что наибольшее влияние на свойства таб-

леток оказывали связывающие вещества: на распадаемость влияние составило 99,38 %, на прочность – 95,35 %. Наибольшее влияние на сыпучесть оказывает размер гранул – 77,68 %.

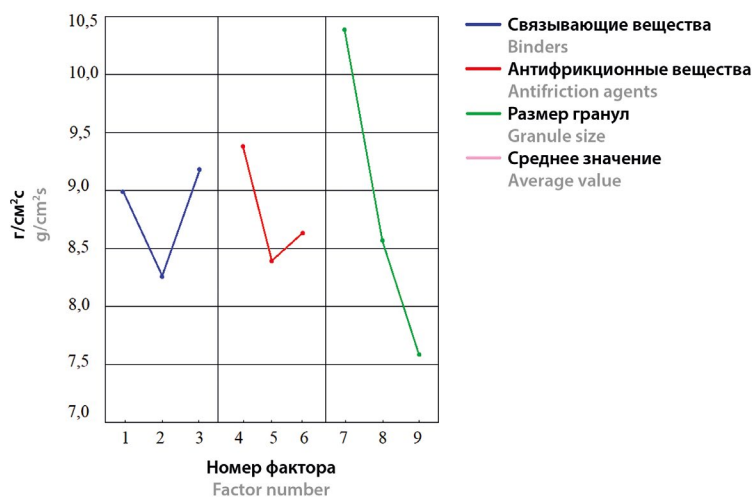
Таблица 3. Технологические параметры гранул и таблеток 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина

Table 3. Technological parameters of the granules and tablets 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine

| № | Гранулы Granules | | Таблетки Tablets | |
|---|--|--|--|---------------------------------------|
| | Сыпучесть (V_2), г/см ² с Flowability (V_2), g/cm ² s | Насыпная плотность (ρ), г/см ³ Bulk density (ρ), g/cm ³ | Прочность на раздавливание, Н Crushing strength, Н | Распадаемость, с Disintegration, s |
| 1 | 10,88 ± 0,56 | 0,78 ± 0,02 | 110 ± 8 | 620 ± 52 |
| 2 | 7,21 ± 0,63 | 0,79 ± 0,02 | 115 ± 6 | 603 ± 43 |
| 3 | 8,84 ± 0,21 | 0,76 ± 0,02 | 105 ± 5 | 640 ± 45 |
| 4 | 8,43 ± 0,45 | 0,8 ± 0,02 | 70 ± 9 | 178 ± 60 |
| 5 | 9,67 ± 0,15 | 0,79 ± 0,02 | 60 ± 15 | 220 ± 74 |
| 6 | 6,73 ± 0,52 | 0,78 ± 0,02 | 78 ± 10 | 215 ± 50 |
| 7 | 8,83 ± 0,23 | 0,75 ± 0,02 | 120 ± 7 | 933 ± 70 |
| 8 | 8,39 ± 0,61 | 0,76 ± 0,02 | 125 ± 6 | 886 ± 63 |
| 9 | 10,39 ± 0,34 | 0,8 ± 0,02 | 126 ± 10 | 860 ± 68 |

Оценка влияния выбранных вспомогательных веществ и размеров гранул на параметры гранул и таблеток представлена на рисунках 1–4. Применение КМС и геля ГПМЦ показало умеренную сыпучесть таблетлируемой смеси, тальк и магния стеарат улучшили этот показатель, наилучшие результаты сыпучести показали гранулы размером от 0,5 до 1 мм (рисунок 1). Применение 5%-го геля ПВП показало наибольшее увеличение насыпной плотности, связанное с разрушением и уплотнением гранул (рисунок 2). 5%-й гель ПВП и 5%-й КМС улучшили время распадаемости, которое не превышало 10 мин (рисунок 3). Применение 5%-й КМС и 5%-го геля ГПМЦ значительно повышают прочность таблеток до 110 и 125 Н соответственно (рисунок 4). Не наблюдалось значительного влияния размера гранул на распадаемость и прочность на раздавливание получаемых таблеток.

Ранее по результатам изучения свойств гранул и таблеток на основе латинского квадрата (таблица 3) указано, что наилучшие результаты показали прописи 1–3 с добавлением в качестве связывающего агента 5%-го раствора крахмала. При этом в результате дисперсионного анализа (таблица 4) наибольшее влияние на сыпучесть гранул оказал их размер, что в рамках проведенного эксперимента не дает достоверных данных об оптимальном для получения гранул и таблеток антифрикционном агенте.



- | | |
|------------------------|-----------------------|
| 1 – КМС | Размеры гранул: |
| 2 – ГПМЦ | 7 – 0,5–1,0 мм |
| 3 – ПВП | 8 – 0,5–0,25 мм |
| 4 – Тальк | 9 – менее 0,25 мм |
| 5 – КС | Granule sizes: |
| 6 – Магния стеарат | 7 – 0,5–1,0 мм |
| 1 – KM | 8 – 0,5–0,25 мм |
| 2 – HMG | 9 – less than 0.25 mm |
| 3 – PG | |
| 4 – Talc | |
| 5 – KS | |
| 6 – Magnesium stearate | |

Рисунок 1. Средние значения сыпучести гранул по уровням факторов

Figure 1. Average granule flowability values by factor levels

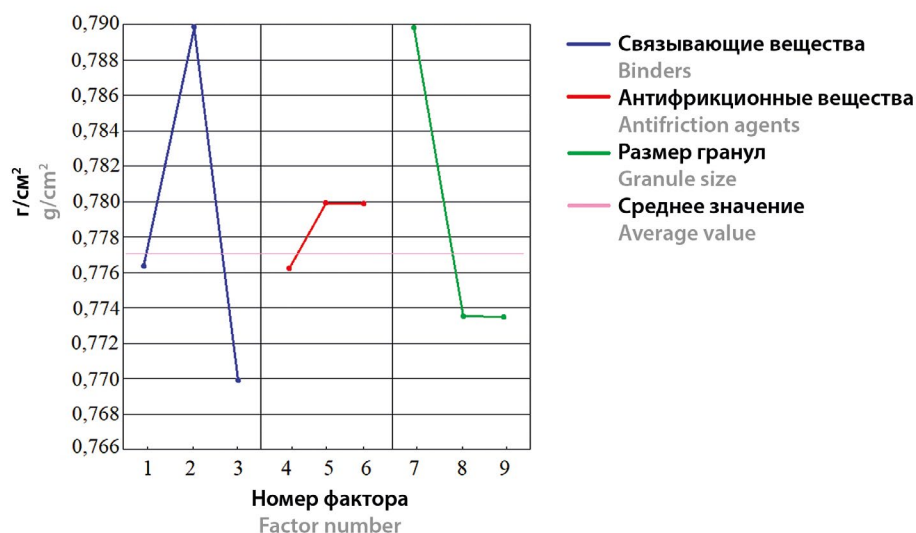
Таблица 4. Дисперсионный анализ результатов испытания гранул и таблеток 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина

Table 4. Variance analysis of test results of granules and tablets 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine

| | Показатель качества Parameter of quality | Источник дисперсии Source variances | Число степеней свободы Degrees of freedom | Сумма квадратов (SS) Sum of squares | Средний квадрат Medium Square (MS) | $F_{\text{эсп.}}$ | $F_{\text{таб.}}$ | p-level |
|---------------------|---|---|--|--|---------------------------------------|-------------------|-------------------|---------|
| Гранулы Granules | Сыпучесть Flowability | Связывающие вещества Binders | 2 | 1,4001 | 0,7000 | 3,59 | 4,46 | 0,218 |
| | | Антифрикционные вещества Antifriction agents | 2 | 1,4962 | 0,7481 | 3,83 | 4,46 | 0,207 |
| | | Размер гранул Granule size | 2 | 11,4422 | 5,7211 | 29,32 | 4,46 | 0,033 |
| | | Остаток Remainder | 2 | 0,3903 | 0,1951 | - | - | - |
| | Насыпная плотность Bulk density | Связывающие вещества Binders | 2 | 0,0006 | 0,0003 | 0,42 | 4,46 | 0,705 |
| | | Антифрикционные вещества Antifriction agents | 2 | 0,00002 | 0,00001 | 0,02 | 4,46 | 0,985 |
| | | Размер гранул Granule size | 2 | 0,0006 | 0,0003 | 0,37 | 4,46 | 0,728 |
| | | Остаток Remainder | 2 | 0,0015 | 0,0007 | - | - | - |
| Таблетки Tablets | Распадаемость Disintegration | Связывающие вещества Binders | 2 | 721856,9 | 360928,4 | 187,29 | 4,46 | 0,005 |
| | | Антифрикционные вещества Antifriction agents | 2 | 86,2 | 43,10 | 0,02 | 4,46 | 0,978 |
| | | Размер гранул Granule size | 2 | 536,2 | 268,10 | 0,1391 | 4,46 | 0,878 |
| | | Остаток Remainder | 2 | 3854,2 | 1927,10 | - | - | - |
| | Прочность на раздавливание Crushing strength | Связывающие вещества Binders | 2 | 4792,67 | 2396,33 | 29,46 | 4,46 | 0,033 |
| | | Антифрикционные вещества Antifriction agents | 2 | 18,00 | 9,00 | 0,11 | 4,46 | 0,900 |
| | | Размер гранул Granule size | 2 | 52,67 | 26,33 | 0,32 | 4,46 | 0,755 |
| | | Остаток Remainder | 2 | 162,67 | 81,33 | - | - | - |

Поэтому для увеличения достоверности влияния антифрикционных веществ на исследуемые параметры в проведенных экспериментах (таблица 3, $F_{\text{эсп.}} < F_{\text{таб.}}$) изучено влияние антифрикционных агентов на технологические свойства при выбранном оптимальном размере гранул 0,5–1 мм. Состав прописей с выбранными по результатам предыдущего эксперимента веществами представлен в таблице 5.

Оценка технологических параметров проводилась по сыпучести/flowability (X_1) и насыпной плотности / bulk density (X_2) для гранул размером от 0,5 до 1,0 мм. Таблетки оценивали по силе выталкивания из матрицы / ejection force of the tablet from matrix (X_3), прочности на раздавливание / crushing strength (X_4), прочности на истирание / abrasion resistance (X_5), времени распадаемости / disintegration time (X_6). Полученные данные представлены в таблице 6.



- | | |
|------------------------|-----------------------|
| 1 – КМС | Размеры гранул: |
| 2 – ГПМЦ | 7 – 0,5–1,0 мм |
| 3 – ПВП | 8 – 0,5–0,25 мм |
| 4 – Тальк | 9 – менее 0,25 мм |
| 5 – КС | Granule sizes: |
| 6 – Магния стеарат | 7 – 0.5–1.0 mm |
| 1 – КМ | 8 – 0.5–0.25 mm |
| 2 – НМГ | 9 – less than 0.25 mm |
| 3 – РГ | |
| 4 – Талс | |
| 5 – КС | |
| 6 – Magnesium stearate | |

Рисунок 2. Средние значения насыпной плотности гранул по уровням факторов

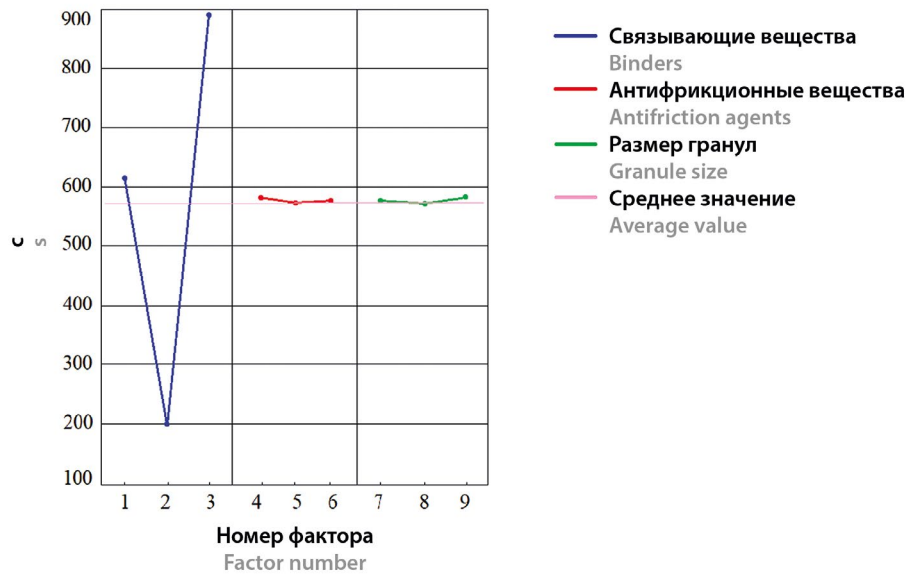
Figure 2. Average values of bulk density of granules by factor levels

Таблица 5. Состав прописей таблеток ДПДТК

Table 5. Composition of tablet prescriptions DPDTX

| Субстанция и эксципиенты Substance and excipients | Номер прописи (мг на 1 таблетку) Prescription number (mg per one table) | | |
|--|--|-----|-----|
| | № 1 | № 2 | № 3 |
| ДПДТК DPDTX | 100 | 100 | 100 |
| ЛМ Lactose monohydrate | 144 | 144 | 144 |
| МКЦ Microcrystalline cellulose | 72 | 72 | 72 |
| КМ Potato starch | 17 | 17 | 17 |
| КМС (5 %) 5 % starch mucus | 7 | 7 | 7 |
| Тальк Talc | 3,4 | | |
| Кальция стеарат Calcium stearate | | 3,4 | |
| Магния стеарат Magnesium stearate | | | 3,4 |
| Итого: Total: | 343 | | |

Из таблицы 6 видно, что использование практически всех исследуемых антифрикционных веществ позволяет достичь значений параметров таблеток, удовлетворяющих требованиям ГФ. Пропись № 1 по параметру распадаемости проходит по верхней границе времени, регламентированного фармакопеей. Для выбора оптимального антифрикционного агента была применена шкала желательности Харрингтона. Выбраны границы изменения для следующих параметров: D_1 – сыпучесть (15–1 г/с), D_2 – сила выталкивания (15–1) кгс/см, D_3 – прочность на раздавливание (140–70 Н), D_4 – распадаемость (от 1 до 15 мин). В качестве верхнего порога для параметра сыпучести выбрано значение, обеспечивающее полную заполняемость матрицы пресса, так как в проведенном на основе латинского квадрата эксперименте гранулы, имеющие показатели сыпучести более 10 г/с, обеспечивали полную заполняемость матрицы таблетпрессы. По результатам проведенных экспериментов (таблица 3) таблетки, имеющие прочность менее 60 Н, не проходили тест на истираемость. Хорошие результаты показывали таблетки с прочностью до 140 Н. Предел времени распадаемости выбран согласно требованиям ОФС.1.4.1.0015 «Таблетки» для таблеток без оболочки.



- | | |
|------------------------|-----------------------|
| 1 – КМС | Размеры гранул: |
| 2 – ГПМЦ | 7 – 0,5–1,0 мм |
| 3 – ПВП | 8 – 0,5–0,25 мм |
| 4 – Тальк | 9 – менее 0,25 мм |
| 5 – КС | Granule sizes: |
| 6 – Магния стеарат | 7 – 0.5–1.0 mm |
| 1 – КМ | 8 – 0.5–0.25 mm |
| 2 – НМГ | 9 – less than 0.25 mm |
| 3 – PG | |
| 4 – Talc | |
| 5 – KS | |
| 6 – Magnesium stearate | |

Рисунок 3. Средние значения распадаемости таблеток по уровням факторов

Figure 3. Average tablet disintegration values by factor levels

Таблица 6. Параметры качества гранул и таблеток ДПДТК

Table 6. Quality parameters of granules and tablets DPDTX

| № | Таблетки Tablets | | | Гранулы Granules | | |
|---|--|-----------------|------------|------------------------------------|--|--|
| | $X_3, \text{кгс/см}^2$ $X_3, \text{kgs/cm}^2$ | $X_4, \text{Н}$ | $X_5, \%$ | $X_6, \text{с}$ X_6, s | $X_1, \text{г/см}^2\text{с}$ $X_1, \text{g/cm}^2\text{s}$ | $X_2, \text{г/см}^3$ $X_2, \text{g/cm}^3$ |
| 1 | 4,4 ± 0,4 | 105 ± 24 | 99,3 ± 0,2 | 785 ± 145 | 8,9 ± 0,1 | 0,78 ± 0,1 |
| 2 | 2,2 ± 0,4 | 110 ± 15 | 99,7 ± 0,1 | 732 ± 100 | 10,3 ± 0,1 | 0,78 ± 0,1 |
| 3 | 1,7 ± 0,3 | 135 ± 9 | 99,2 ± 0,2 | 676 ± 143 | 12,7 ± 0,2 | 0,78 ± 0,1 |

В рамках обозначенных границ определены желательности для каждого изучаемого параметра и рассчитана усредненная функция желательности (MD) на каждую пропись (таблица 7).

По данным таблицы 7 в качестве наиболее усредненной функции желательности (MD) для обозначенных пределов параметров выбрана пропись № 3, содержащая в качестве антифрикционного вещества магния стеарат. Таким образом, удалось выбрать антифрикционный агент, обеспечивающий оптимальные технологические свойства гранул и таблеток.

Таблица 7. Оценка качества прописей таблеток по критерию желательности Харрингтона

Table 7. Assessing the quality of tablet prescriptions using Harrington's desirability criterion

| № прописи Prescription number | Желательность параметра Desirability for parameter | | | | |
|----------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|
| | MD | D_1 | D_2 | D_3 | D_4 |
| 1 | 0,39 | 0,86 | 0,095 | 0,96 | 0,03 |
| 2 | 0,52 | 0,96 | 0,97 | 0,96 | 0,08 |
| 3 | 0,76 | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 0,35 |

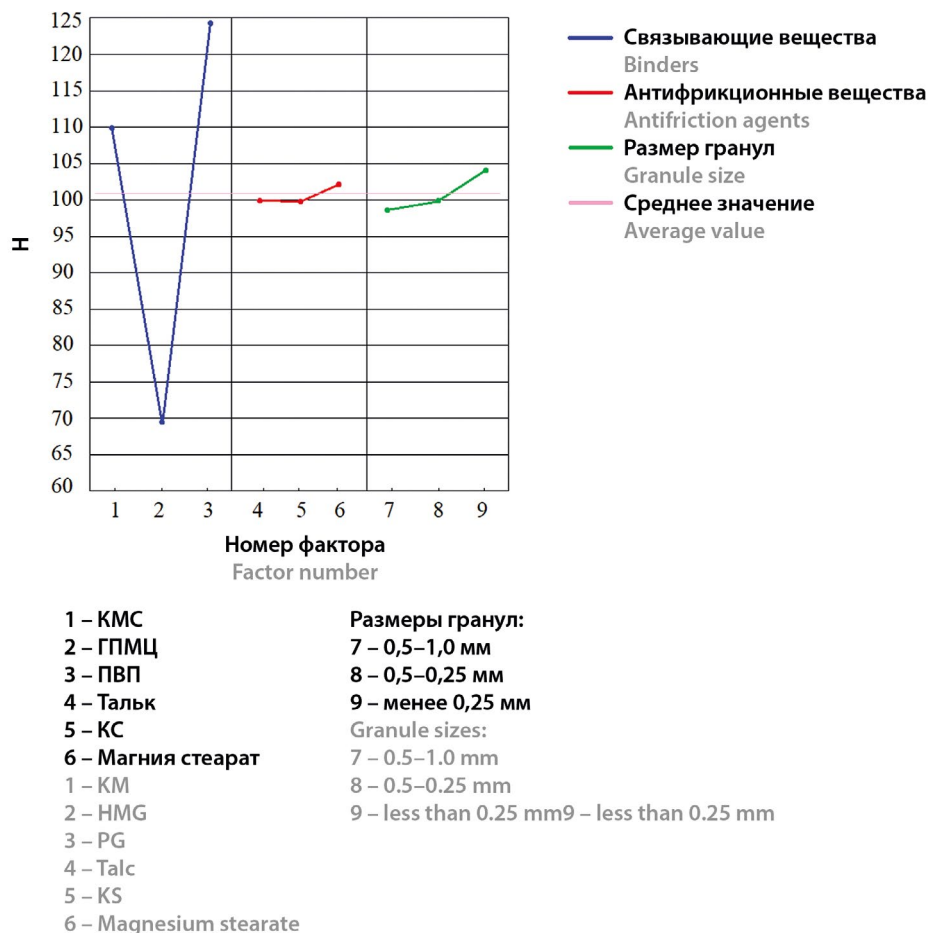


Рисунок 4. Средние значения прочности на раздавливание таблеток по уровням факторов

Figure 4. Average values of crushing strength of tablets by factor levels

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан способ получения таблеток ДПДТК методом влажной грануляции, обеспечивающий улучшение технологических свойств таблеточной массы ДПДТК. Полученные гранулы обладают большей насыпной плотностью, полнотой заполнения матрицы, однородностью дозирования, сыпучестью в сравнении с ранее полученными таблеточными массами [10]. При этом отклонение в средней массе таблеток составляет менее 5 %.

Технологические свойства гранул и параметры качества таблеток ДПДТК.

Параметры гранулята:

| | |
|--|------------|
| Сыпучесть, г/с | 12,7 ± 0,2 |
| Насыпная масса, г/см ³ | 0,78 ± 0,1 |
| Сила выталкивания таблетки из матрицы, кгс | 1,7 ± 0,3 |

Параметры таблеток:

| | |
|------------------|---------------|
| Средняя масса, г | 0,342 ± 0,016 |
|------------------|---------------|

| | |
|-------------------------------|--------------|
| Прочность на раздавливание, Н | 135 ± 9 |
| Прочность на истирание, % | 99,21 ± 0,15 |
| Распадаемость, с | 670 ± 110 |

ЛИТЕРАТУРА

- Cotter T.G., Rinella M. Nonalcoholic Fatty Liver Disease 2020: The State of the Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1851–1864. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.01.052.
- Vilar-Gomez E., Martinez-Perez Ya., Calzadilla-Bertot L., Torres-Gonzalez A., Gra-Oramas B., Gonzalez-Fabian L., Friedman S. L., Diago M., Romero-Gomez M. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(2):367–378. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.005.
- Jamwal R., Barlock B.J. Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Hepatic Cytochrome P450 (CYP) Enzymes. *Pharmaceuticals*. 2020;13(9):222. DOI: 10.3390/ph13090222.
- Woolsey S.J., Mansell S.E., Kim R.B., Tirona R.G., Beaton M.D. CYP3A Activity and Expression in Nonalcoholic

- lic Fatty Liver Disease. *Drug Metabolism and Disposition*. 2015;43(10):1484–1490. DOI: 10.1124/dmd.115.065979.
5. Evers R., Piquette-Miller M., Polli J.W., Russel F.G.M., Sprowl J.A., Tohyama K., Ware J.A., de Wildt S.N., Xie W., Brouwer K.L.R. Disease-Associated Changes in Drug Transporters May Impact the Pharmacokinetics and/or Toxicity of Drugs: A White Paper From the International Transporter Consortium. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2018;104:900–915. DOI: 10.1002/cpt.1115.
 6. Cobbina E., Akhlaghi F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) – Pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. *Drug Metabolism Reviews*. 2017;49(2):197–211. DOI: 10.1080/03602532.2017.1293683.
 7. Газизова И.Р., Алехин Е.К. Антитоксические свойства нового индуктора микросомальной ферментной системы гепазана. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2001;5:96–98.
 8. Никитин Н.А., Халиуллин Ф.А., Алехин Е.К., Токунова Э.Ф., Тюрина О.В., Клен Е.Э., Тюрина Л.А. Зависимости «структура-активность» модуляторов микросомальной ферментной системы. Сообщение II Исследование индукторов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2001;6:46–49.
 9. Arshad M.S., Zafar S., Yousef B., Alyassin Y., Ali R., AlAsiri A., Chang M.-W., Ahmad Z., Elkordy A.A., Faheem A., Pitt K. A review of emerging technologies enabling improved solid oral dosage form manufacturing and processing. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;178:113840. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113840.
 10. Петраков А.И., Шейкин В.В., Кривошечков С.В., Безверхняя Е.А., Гурьев А.М., Белоусов М.В. Разработка состава таблетированной лекарственной формы индуктора монооксигеназной системы гепатоцитов на основе 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):189–196. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1517.
 11. Saccavo D., Lamberti G., Barba A.A. Analysis and simulation of wet-granulation processes. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2024;159:105455. DOI: 10.1016/j.jtice.2024.105455.
 12. Macho O., Gabrišová L., Gušťařík A., Jezso K., Juriga M., Kabát J., Blaško J. The Influence of Wet Granulation Parameters on the Compaction Behavior and Tablet Strength of a Hydralazine Powder Mixture. *Pharmaceutics*. 2023;15(8):2148. DOI: 10.3390/pharmaceutics15082148.
 13. Голубев А.Н., Нгуен Т.Ш., Басевич А.В., Сорокин В.В., Каухова И.Е., Марченко А.Л., Смирнова Е.М. Подходы к разработке состава таблеток с использованием современного статистического программного обеспечения и концепции Quality-by-Design. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(3):45–48. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-3-45-48.
 14. Терентьева О.А., Флисюк Е.В., Ивкин Д.Ю., Наркевич И.А. Разработка состава и технологии таблеток нового нейропротекторного средства с использованием дробного факторного эксперимента. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(1):18–22. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-1-18-22.
 15. Franceschinis E., Bressan V., Fontanel E., Realdon N., Volpato S., Santomaso A.C. Effect of the drying type on the properties of granules and tablets produced by high shear wet granulation. *Powder Technology*. 2024;434:119316. DOI: 10.1016/j.powtec.2023.119316.
 16. Veronica N., Lee E.S.M., Heng P.W.S., Liew C.V. Functionality of wet-granulated disintegrant in comparison to directly incorporated disintegrant in a poorly water-soluble tablet matrix. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;661:124467. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.124467.

REFERENCES

1. Cotter T.G., Rinella M. Nonalcoholic Fatty Liver Disease 2020: The State of the Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1851–1864. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.01.052.
2. Vilar-Gomez E., Martinez-Perez Ya., Calzadilla-Bertot L., Torres-Gonzalez A., Gra-Oramas B., Gonzalez-Fabian L., Friedman S.L., Diago M., Romero-Gomez M. Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*. 2015;149(2):367–378. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.005.
3. Jamwal R., Barlock B.J. Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Hepatic Cytochrome P450 (CYP) Enzymes. *Pharmaceutics*. 2020;13(9):222. DOI: 10.3390/ph13090222.
4. Woolsey S.J., Mansell S.E., Kim R.B., Tirona R.G., Beaton M.D. CYP3A Activity and Expression in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Drug Metabolism and Disposition*. 2015;43(10):1484–1490. DOI: 10.1124/dmd.115.065979.
5. Evers R., Piquette-Miller M., Polli J.W., Russel F.G.M., Sprowl J.A., Tohyama K., Ware J.A., de Wildt S.N., Xie W., Brouwer K.L.R. Disease-Associated Changes in Drug Transporters May Impact the Pharmacokinetics and/or Toxicity of Drugs: A White Paper From the International Transporter Consortium. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2018;104:900–915. DOI: 10.1002/cpt.1115.
6. Cobbina E., Akhlaghi F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) – Pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. *Drug Metabolism Reviews*. 2017;49(2):197–211. DOI: 10.1080/03602532.2017.1293683.
7. Gazizova I.R., Alekhin E.K. Antitoxic properties of the new inducer of the microsomal enzyme system hepazan. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2001;5:96–98. (In Russ.)
8. Nikitin N.A., Khaliullin F.A., Alekhin E.K., Tokunova E.F., Tyurina O.V., Klen E.E., Tyurina L.A. Structure-activity relationships of microsomal enzyme modulators systems. Message II Study of inductors. *Химико-Фармацевтический Журнал*. 2001;6:46–49. (In Russ.)
9. Arshad M.S., Zafar S., Yousef B., Alyassin Y., Ali R., AlAsiri A., Chang M.-W., Ahmad Z., Elkordy A.A., Faheem A., Pitt K. A review of emerging technologies enabling improved solid oral dosage form manufacturing and processing. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;178:113840. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113840.
10. Petrakov A.I., Sheikin V.V., Krivoshechekov S.V., Bezverkhniaia E.A., Guryev A.M., Belousov M.V. Development of the Tablet Dosage Form Composition for the Inductor of

- Hepatocytes Monooxygenase System Based on 6,8-dimethyl-2-piperidinomethyl-2,3-dihydrothiazolo[2,3-F]xanthine. *Drug development & registration*. 2023;12(4):189–196. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1517.
11. Caccavo D., Lamberti G., Barba A. A. Analysis and simulation of wet-granulation processes. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2024;159:105455. DOI: 10.1016/j.jtice.2024.105455.
 12. Macho O., Gabrišová L., Gušťařík A., Jezso K., Juriga M., Kabát J., Blaško J. The Influence of Wet Granulation Parameters on the Compaction Behavior and Tablet Strength of a Hydralazine Powder Mixture. *Pharmaceutics*. 2023;15(8):2148. DOI: 10.3390/pharmaceutics15082148.
 13. Golubev A. N., Nguyen T. Sh., Basevich A. V., Sorokin V. V., Kaukhova I. E., Marchenko A. L., Smirnova E. M. Approaches to the Development of Drugs with the Use of Modern Statistical Software Concepts and Quality-by-Design. *Drug development & registration*. 2019;8(3):45–48. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-3-45-48.
 14. Terenteva O. A., Flisyuk E. V., Ivkin D. Yu., Narkevich I. A. Development of the Composition and Technology of New Neuroprotective Drug Tablets Using Fractional Factorial Design. *Drug development & registration*. 2020;9(1):18–22. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-1-18-22.
 15. Franceschinis E., Bressan V., Fontanel E., Realdon N., Volpato S., Santomaso A. C. Effect of the drying type on the properties of granules and tablets produced by high shear wet granulation. *Powder Technology*. 2024;434:119316. DOI: 10.1016/j.powtec.2023.119316.
 16. Veronica N., Lee E. S. M., Heng P. W. S., Liew C. V. Functionality of wet-granulated disintegrant in comparison to directly incorporated disintegrant in a poorly water-soluble tablet matrix. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;661:124467. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.124467.



Достижения в области применения наномицелл для повышения эффективности противоопухолевых субстанций (обзор)

Е. В. Санарова¹✉, Л. Л. Николаева^{1,2}, С. Д. Щеглов^{1,2}, Ж. М. Козлова²,
О. Л. Орлова¹, Н. А. Оборотова¹, А. В. Ланцова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России). 115522, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ **Контактное лицо:** Санарова Екатерина Викторовна. **E-mail:** sanarova8686@mail.ru

ORCID: Е. В. Санарова – <https://orcid.org/0000-0002-5592-5137>;
Л. Л. Николаева – <https://orcid.org/0000-0001-8003-8241>;
С. Д. Щеглов – <https://orcid.org/0009-0002-0777-0422>;
Ж. М. Козлова – <https://orcid.org/0000-0003-1525-732X>;
О. Л. Орлова – <https://orcid.org/0000-0002-4558-0083>;
Н. А. Оборотова – <https://orcid.org/0000-0002-6986-3942>;
А. В. Ланцова – <https://orcid.org/0000-0002-0650-2023>.

Статья поступила: 24.12.2024

Статья принята в печать: 06.05.2025

Статья опубликована: 07.05.2025

Резюме

Введение. О влиянии лекарственной формы на фармакологический эффект известно с древних времен. Стратегия получения мицеллярных лекарственных форм для активных противоопухолевых субстанций была сформулирована в прошлом веке. Однако широкое практическое распространение она получила в последние десятилетия. Это во многом связано с успехами в области синтеза новых структурных компонентов для формирования мицеллярного носителя, а также с получением более глубоких знаний о биохимических процессах, происходящих в опухолевой клетке.

Текст. Данный обзор посвящен достижениям в области применения наномицеллярных форм противоопухолевых препаратов с целью повышения эффективности терапии рака, которые охватывают период с 2019 по 2024 гг. С этой целью рассмотрены и проанализированы вспомогательные вещества, используемые для получения наномицеллярных форм противоопухолевых субстанций, на примере доцетаксела, паклитаксела, доксорубицина, фотосенсибилизаторов. Создание мицеллярных форм позволило по-новому взглянуть на эти известные в онкологической практике вещества.

Заключение. Имеющиеся достижения в области применения наномицелл для повышения эффективности противоопухолевых субстанций, несомненно, показывают перспективность развития этого технологического направления. Однако остается еще много нерешенных вопросов, связанных как со стабильностью наномицелл при введении в организм, так и с правовым регулированием в области создания и внедрения этой новой фармацевтической формы. Эти вопросы предстоит еще решить фармацевтической науке.

Ключевые слова: наномицеллы, противоопухолевые субстанции, полочкамеры, TPGS, противоопухолевая активность

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

Вклад авторов. Е. В. Санарова, Л. Л. Николаева, С. Д. Щеглов, А. В. Ланцова – проведение патентно-информационного и литературного поиска, анализ и обработка полученных баз данных, написание статьи. Ж. М. Козлова, О. Л. Орлова и Н. А. Оборотова – внесение значимых исправлений в содержание работы, поиск и обработка зарубежных научных исследований, окончательное утверждение публикуемой рукописи.

Финансирование. Грант РФФ 23-75-01026 «Разработка адресных комбинированных структур на основе фосфолипидных наносистем для терапии рака легкого».

Для цитирования: Санарова Е. В., Николаева Л. Л., Щеглов С. Д., Козлова Ж. М., Орлова О. Л., Оборотова Н. А., Ланцова А. В. Достижения в области применения наномицелл для повышения эффективности противоопухолевых субстанций. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(2):135–147. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2007>

Advances in the use of nanomicelles to enhance the efficacy of antitumour substances (review)

Ekaterina V. Sanarova¹✉, Ludmila L. Nikolaeva^{1,2}, Stepan D. Shceglov^{1,2}, Zhanna M. Kozlova², Olga L. Orlova¹, Nataliya A. Oborotova¹, Anna V. Lantsova¹

¹ Federal State Budgetary Institution "N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 23, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russia

² I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Ekaterina V. Sanarova. **E-mail:** sanarova8686@mail.ru

ORCID: Ekaterina V. Sanarova – <https://orcid.org/0000-0002-5592-5137>;
Ludmila L. Nikolaeva – <https://orcid.org/0000-0001-8003-8241>;
Stepan D. Shceglov – <https://orcid.org/0009-0002-0777-0422>;
Zhanna M. Kozlova – <https://orcid.org/0000-0003-1525-732X>;
Olga L. Orlova – <https://orcid.org/0000-0002-4558-0083>;
Nataliya A. Oborotova – <https://orcid.org/0000-0002-6986-3942>;
Anna V. Lantsova – <https://orcid.org/0000-0002-0650-2023>.

Received: 24.12.2024

Accepted: 06.05.2025

Published: 07.05.2025

Abstract

Introduction. The influence of the dosage form on the pharmacological effect has been known since ancient times. The strategy for the preparation of micellar dosage forms for active antitumour substances was formulated in the last century. However, it has become widespread in practice in recent decades. This is largely due to advances in the synthesis of new structural components for the formation of micellar carrier, as well as to the acquisition of better knowledge of biochemical processes occurring in the tumour cell.

Text. This review is devoted to the achievements in the field of application of nanomicellar forms of antitumor drugs to improve the effectiveness of cancer therapy, which cover the period from 2019 to 2024. For this purpose, excipients used to obtain nanomicellar forms of antitumor substances are considered and analyzed, using docetaxel, paclitaxel, doxorubicin, and photosensitizers as examples. The creation of micellar forms allowed us to take a new look at these substances known in oncological practice.

Conclusion. Available achievements in the field of nanomicelles application for increasing the effectiveness of antitumour substances undoubtedly show the promising development of this technological direction. However, there are still many unresolved issues related to the stability of nanomicelles when administered into the body, as well as legal regulation in the field of creation and introduction of this new pharmaceutical form. These questions still need to be resolved by pharmaceutical science.

Keywords: nanomicelles, antitumour substances, poloxamers, TPGS, antitumour 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. Ekaterina V. Sanarova, Ludmila L. Nikolaeva, Stepan D. Shceglov, Anna V. Lantsova – conducting patent information and literature search, analysis and processing of obtained databases, writing of the article. Zhanna M. Kozlova, Olga L. Orlova and Nataliya A. Oborotova – making significant corrections to the content of the work, searching for and processing foreign scientific studies, final approval of the published manuscript.

Funding. This study was supported by Russian Science Foundation grant No. 23-75-01026 «Development of targeted combined structures based on phospholipid nanosystems for lung cancer therapy».

For citation: Sanarova E. V., Nikolaeva L. L., Shceglov S. D., Kozlova Zh. M., Orlova O. L., Oborotova N. A., Lantsova A. V. Advances in the use of nanomicelles to enhance the efficacy of antitumour substances. *Drug development & registration.* 2025;14(2):135–147. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2007>

ВВЕДЕНИЕ

Традиционные методы химиотерапии связаны с серьезными побочными эффектами из-за отсутствия точной нацеленности на опухоль, неспецифической токсичности и лекарственной устойчивости. Наноразмерные носители на основе биоразлагаемых полимеров, которым в последние годы уделяется значительное внимание, являются одним из подходов при решении проблем, связанных со стабильностью, растворимостью и токсичностью активных фармацевтических субстанций (АФС), обеспечивая их защиту от разложения, контролируемое высвобождение и биораспределение, а также повышая биодоступность. Такие наноносители, и в частности наномицеллы (НМ), обладают уникальным потенциалом в терапии рака за счет превращения в «интеллектуальные» структуры путем изменения их размера, свойств поверхности и состава [1]. НМ представляют собой самосборные наноразмерные структуры с гидрофобным ядром и гидрофильной оболочкой, обычно с размером частиц в диапазоне от 10 до 100 нм (рисунок 1) [2].

Эти структуры могут инкапсулировать терапевтические вещества и визуализирующие агенты, обладая при этом свойствами «невидимости». Кроме того, они могут быть адаптированы для доставки АФС в определенные ткани и терапии с контролируемым высвобождением. По сравнению с обычными препаратами НМ обладают рядом преимуществ, включая улучшение биодоступности плохо растворимых или нерастворимых субстанций, продление срока пребывания препарата *in vivo*, а также повышение эффективности и смягчение побочных эффектов, что крайне важно в лечении онкологии [3]. Кроме того, стоит отметить, что НМ – это носители, которые открывают новое направление комби-

нированной доставки лекарств, при этом, варьируя их состав, можно в значительной степени изменять фармакокинетические показатели.

Самой известной системой доставки в настоящее время являются липосомы [4–6]. В отличие от липосом НМ имеют гидрофобное ядро и гидрофильную оболочку. По сравнению с липосомами эти структуры обладают большей кинетической стабильностью, имеют меньший диапазон размеров и могут обеспечивать контролируемое высвобождение активного вещества, а значит, могут быть более эффективны в терапии рака [7]. Кроме того, было обнаружено, что некоторые наномицеллярные препараты позволяют частично преодолеть устойчивость к известным противоопухолевым препаратам за счет повышения биодоступности и чувствительности [8].

При формировании мицелл ключевыми показателями, позволяющими подобрать адекватный состав и технологию получения НМ, являются значения гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) и критической концентрации мицеллообразования (ККМ) полимера (таблица 1). ГЛБ – числовое отражение гидрофильности и липофильности оцениваемого вещества. Этот параметр широко используется для прогнозирования свойств ПАВ и позволяет оценить степень сродства солюбилизатора к дисперсной фазе и дисперсионной среде в НМ. Чем выше показатель ГЛБ, тем выше гидрофильность молекулы полимера. В свою очередь, ККМ в большей степени определяется длиной гидрофобного блока амфифильной молекулы структурного полимера: чем цепь длиннее, тем ниже ККМ и тем стабильнее мицеллы.

Самыми распространенными вспомогательными веществами, применяемыми для создания структуры НМ, являются полисорбаты, амфифильные плюроники (полоскамеры), полиэтиленгликоли (ПЭГ,

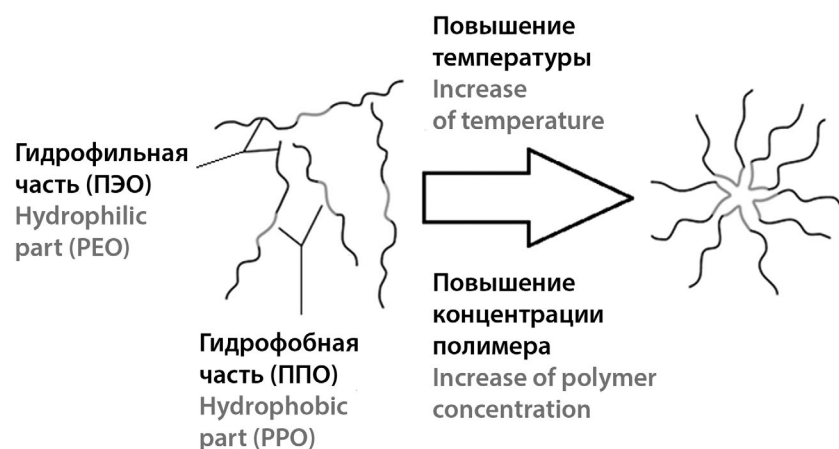


Рисунок 1. Схематическое изображение формирования «ненагруженных» мицелл в водном растворе на примере полоскамера (ПЭО – полиэтиленоксид; ППО – полипропиленоксид)

Figure 1. Schematic representation of the formation of ‘unloaded’ micelles in aqueous solution, on the example of poloxamer (PEO – polyethylene oxide; PPO – polypropylene oxide)

«чистые» и модифицированные, например, сукцинатом с добавлением витамина Е, полимолочной кислотой, сополимерами молочной и гликолевой кислот, дистеароилфосфатидилэтаноламином), полиизопропилакриламид и др. Однако для парентерального применения одобрено ограниченное количество полимеров, основные из них представлены в таблице 1.

Самым известным из представленных веществ является полисорбат-80, который применяется в фармацевтической технологии уже многие годы. Однако это вспомогательное вещество крайне неиндифферентно и его необходимо вводить в состав ЛФ в самых низких эффективных концентрациях, преимущественно до 1,0% [9]. В клинической практике применяется, например, доцетаксел в мицеллярной форме на основе твина-80 – *Taxotere*, но введение этого препарата требует премедикации глюкокортикоидами с целью предупреждения реакций повышенной чувствительности, что обусловлено присутствием в его составе полисорбата [10].

Cremophor® ELP / Kolliphor® ELP – мицеллообразующее ПАВ, которое также нашло применение в области создания растворимых форм для гидрофобных субстанций как в разработке, так и в клинике [11].

Широкоизвестный препарат *Taxol* – это мицеллярная форма паклитаксела, где в качестве растворителя применяют смесь Cremophor ELP и этилового спирта с последующим разведением до нужной концентрации паклитаксела (от 0,3 до 1,2 мг/мл) [12]. Но, помимо обязательной премедикации, для данного раствора существуют ограничения, связанные с необходимостью пользоваться оборудованием, которое не содержит деталей из ПВХ, а также вводить раствор через систему со встроенным мембранным фильтром.

Все эти трудности делают данные ПАВ малопривлекательными для применения в составе современных НМ. И все большую популярность набирают полочкамеры. На рисунке 1 схематично показано, как в водном растворе формируются мицеллы полочкамеры, при этом блок полиэтиленоксида (ПЭО) является гидрофильным и образует внешний слой наночастицы, в то время как блок полипропиленоксида (ППО) является гидрофобным и составляет внутреннее ядро [13]. Блок ППО создает надежный резервуар для гидрофобных молекул АФС, защищает их от инактивации в биологических средах и позволяет эффективно доставлять к злокачественному новообразованию, в то время как гидрофильная оболочка

Таблица 1. Полимеры промышленного производства, наиболее часто применяемые для создания НМ для парентерального введения, и их характеристики

Table 1. Industrial polymers most commonly used to create NMs for parenteral administration and their characteristics

| Наименование полимера (источник) Polymer name (source) | Синонимы Synonyms | Молекулярная масса, г/моль Molecular weight, g/mol | ГЛБ HLB | ККМ, % CCM, % |
|--|--|---|------------|------------------|
| Полиоксиэтилен (20) сорбитан монолеат (USP-NF) Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate (USP-NF) | Полисорбат-80, твин-80 Polysorbate 80, tween 80 | 429 | 15 | ~0,03 |
| Рицинолеат макроглицерина (Ph. Eur.), полиоксил-35-касторовое масло (USP-NF) Macrogolglycerol ricinoleate (Ph. Eur.), polyoxyl-35 castor oil (USP-NF) | Cremophor ELP / Kolliphor ELP | Смесь: глицерин полиэтиленгликоль рицинолеат – 2500; эфиры жирных кислот полиэтиленгликоля – 1200 Mixture: glycerol polyethylene glycol ricinoleate – 2500; polyethylene glycol fatty acid esters – 1200 | 12–14 | ~0,02 |
| Полочкамер 407 (P407, F127) (BP, PhEur, USP-NF) Poloxamer 407 (P407, F127) (BP, PhEur, USP-NF) | Сополимер полиоксиэтилен-полипропилен, плуроник, Lutrol Polyoxyethylene-polypropylene copolymer, pluronic, Lutrol | 9840–14 600 | 22 | ~0,03 |
| Полочкамер 188 (P188, F68) (BP, PhEur, USP-NF) Poloxamer 188 (P188, F68) (BP, PhEur, USP-NF) | | 7680–9510 | 29 | ~0,4 |
| Витамин Е полиэтиленгликоль сукцинат (USP-NF) Vitamin E polyethylene glycol succinate (USP-NF) | Токоферол полиэтиленгликоль сукцинат; TPGS Tocopherol polyethylene glycol succinate; TPGS | 1500 | 13 | ~0,02 |

ка способствует доставке лекарственного средства к клеткам-мишеням. Среди синтетических полимеров поллоксамеры нашли широкое применение благодаря своей триблочной структуре, в которой гидрофильные и гидрофобные сегменты присутствуют в структуре поллоксамера одновременно, что наделяет его уникальными свойствами, такими как термочувствительность и способность легко образовывать мицеллы. Изменение длины гидрофильных и гидрофобных блоков влияет на общую молекулярную массу и конечные свойства полимера, благодаря этому можно получить поллоксамеры разных марок. Наиболее распространенными марками поллоксамеров являются поллоксамеры 188 и 407 [14]. Применение поллоксамеров в системах доставки уже стало реальностью, и некоторые из этих препаратов были одобрены FDA [15]. Кроме того, известно, что поллоксамеры усиливают проапоптотическую передачу сигналов, тем самым сенсibiliзируют опухолевые клетки и делают их более уязвимыми к воздействию противоопухолевых препаратов [16].

Одним из перспективных мицеллообразующих ПАВ является также витамин E TPGS – токоферол полиэтиленгликоль сукцинат. TPGS представляет собой амфифильное соединение с цепью PEG в качестве гидрофильной головки и витамином E в качестве липофильного хвоста. Это синтетическое производное природного альфа-токоферола является одобренным FDA фармацевтическим адьювантом, часто используемым при разработке систем доставки для улучшения фармакокинетики противоопухолевых препаратов и снижения множественной лекарственной устойчивости. Кроме того, было показано, что TPGS витамина E значительно улучшает характеристики наночастиц, что приводит к гораздо более высокому усвоению препарата клетками, а также к более рациональной фармакокинетике *in vivo*. Первые свойства TPGS, улучшающие всасывание, были описаны в 1992 году, и в то же время было объяснено влияние TPGS на повышение биодоступности витамина D. Для выбора оптимального ПЭГ было оценено подавление Р-гликопротеиновой помпы (P-gp) TPGS с различными размерами цепей ПЭГ. В ходе реализации этого исследования было обнаружено, что боковая цепь ПЭГ-1000 близка к идеальной. В связи с этим коммерческая форма TPGS содержит ПЭГ-1000 в своем структурном каркасе. Подавляя экспрессию P-gp и изменяя активность насосов, выводящих лекарства из организма, TPGS также может снижать лекарственную устойчивость [17–19]. Имеются сообщения о том, что TPGS способен сам проявлять противоопухолевый эффект за счет генерации активных форм кислорода (АФК), приводящей в последующем к апоптозу [20].

По информации базы данных *PubMed* (полученным 24.10.2024 г.), за последние 5 лет опубликовано более 2 тыс. статей, так или иначе связанных с применением мицелл для терапии рака. Часть публика-

ций описывает создание и изучение мицеллярных форм для неизвестных субстанций, другая часть представлена работами, посвященными оценке эффективности, безопасности и других параметров НМ, созданных для известных, применяемых в клинике противоопухолевых АФС (например, паклитаксела, доцетаксела, доксорубицина и др.). В то же время при обращении к менее специализированной базе *Science Direct* число только исследовательских статей по этой теме превышает 9 тыс., что, несомненно, говорит о неснижающемся интересе к этой теме, включающей в себя такие ключевые аспекты, как фармацевтическая технология и клиническая фармакология.

Наномицеллярные противоопухолевые препараты, применяемые в клинической медицине

В настоящее время существует ряд наномицеллярных противоопухолевых препаратов, одобренных для применения в клинической медицине. В качестве действующих веществ в них выступают субстанции доцетаксела (Taxotere) и паклитаксела (Nanoxel, Paclical, Genexol PM и Arealea). *Taxotere* был зарегистрирован в 1996 г. с целью повысить растворимость доцетаксела за счет получения мицеллярной структуры с помощью полисорбата, что, несомненно, удалось. *Taxotere* – это доцетаксел (DTX) в форме концентрата для приготовления раствора для инфузий на основе полисорбата-80 с приложенным растворителем (13%-й водный раствор этилового спирта). Доцетаксел представляет собой противоопухолевый препарат растительного происхождения. Эффективность DTX была доказана при раке молочной железы, немелкоклеточном раке легкого, раке яичников, гормонорезистентном раке предстательной железы, раке желудка, раке головы и шеи. Хотя DTX успешно тормозит рост и распространение опухолей, он может вызывать неселективную токсичность, что ограничивает его применение в клинических целях. Однако включение DTX в различные наноносители может улучшить доставку лекарственного вещества (ЛВ), обеспечивая как повышенную противоопухолевую активность, так и снижение системной токсичности для пациентов. Доклинические и клинические исследования показали, что наноструктуры с DTX более эффективны против РМЖ, чем свободные препараты [21]. *Nanoxel*, *Paclical*, *Genexol PM* и *Arealea* – это наномицеллярные формы паклитаксела (PTX) [22, 23]. На фармацевтическом рынке имеется лекарственная форма PTX – *Taxol*, который является одним из наиболее часто используемых препаратов при лечении ряда заболеваний, таких как рак яичников, молочной железы и немелкоклеточный рак легких (НМРЛ) [24]. Однако, чтобы преодолеть плохую растворимость PTX в воде, в состав *Taxol* ввели соразтворители – этанол и полиэтоксильрованное касторовое масло (ПКМ, Cremophor / Kolliphor® ELP) [25]. Однако это вещество не является инертным носителем и оказывает ряд биологиче-

ских эффектов, которые имеют нежелательные клинические последствия. Указанные выше наномицеллярные препараты не содержат ПКМ, а созданы на основе амфифильных полимеров, которые образуют мицеллы наноразмера при воздействии водной среды; область ядра мицелл состоит из гидрофобных групп, которые служат резервуаром для РТХ [26]. Препарат высвобождается медленно, когда поверхность полимера разрушается, а наноразмер частиц препарата приводит к избирательному проникновению (пассивное нацеливание) в опухолевые клетки, которые обладают высокой сосудистой проницаемостью по сравнению с нормальными клетками.

Наномицеллярные противоопухолевые препараты, находящиеся на различных стадиях исследований

Перспективность применения НМ не вызывает сомнения, и поэтому по всему миру ученые пытаются создать мицеллярные формы как для известных противоопухолевых препаратов, так и для вновь синтезированных субстанций с выявленным цитотоксическим эффектом. Далее приведены примеры включения различных АФС в наномицеллярные носители.

Паклитаксел

РТХ является эффективным химиотерапевтическим средством, однако, как было подробно описано выше, его клиническое применение ограничено плохой растворимостью в воде и высокой токсичностью, что приводит к низкой переносимости. Эти трудности преодолеваются с помощью подходящих фармакологических носителей. В настоящее время существуют различные системы доставки РТХ, такие как РТХ, связанный с альбумином, полимерные мицеллы, липосомы, пролекарства, циклодекстрины и др. Одними из наиболее перспективных в настоящее время считаются мицеллы, как на основе ПАВ, так и на основе полимеров. Различные варианты НМ, содержащих эту АФС, в настоящее время проходят доклинические и клинические испытания [27].

РТХ, как было сказано ранее, уже выпускается несколькими производителями в мицеллярной форме, однако ученые по всему миру продолжают совершенствовать его НМ. Эта субстанция является прекрасной моделью для создания мицелл в связи со своей высокой гидрофобностью. Например, для РТХ были разработаны НМ на основе Pluronic® F-68 с морфологией «ядро – оболочка» с использованием метода температурно-индуцированного фазового перехода. Присутствие ПЭО в полостях и его роль в поверхностном экранировании введенного в кровоток паклитаксела показали, что созданные НМ обладают возможностью длительной циркуляции в плазме (за счет небольшого размера мицелл (10–100 нм) они не захватываются системой макрофагальных фагоцитов) и усиленным эффектом проникновения и удерживания. Помимо этого, циркуляция

мицелл плюроника в плазме может быть продлена путем модификации их поверхности гидрофильными полимерами, такими как полиэтиленгликоль (ПЭГилирование) [28].

Особый интерес вызывают исследования, обеспечивающие селективность воздействия на опухоль. Так, известно, что высокий уровень внутриклеточных АФК характерен для опухолевых клеток и может служить мишенью для эффективной адресной доставки лекарств для лечения рака. Следовательно, медицине необходимы биоматериалы, реагирующие на избыточный уровень АФК. В недавнем исследовании китайских ученых был синтезирован новый полимер, реагирующий на АФК, на основе D-α-токоферилполиэтиленгликоля-1000 сукцината (TPGS) и поли(β-тиоэфира) – TPGS-PBTE – для адресной доставки РТХ. Полученные НМ – РТХ-TPGS-PBTE продемонстрировали хорошую способность реагировать на АФК, изменяя размер и высвобождая препарат. По сравнению со свободным РТХ наночастицы, нагруженные РТХ, показали повышенную цитотоксичность и более высокий уровень апоптоза в отношении клеток плоскоклеточной карциномы (SCC-7). Также наблюдалась избирательная доставка наночастиц к опухоли, в особенности после модификации пептидом, нацеленным на опухоль (cRGD) [29].

Genexol-PM (Samyang Co., Корея) – это новый препарат полимерного мицеллярного паклитаксела, в котором в качестве солюбилизатора используются нетоксичные и биоразлагаемые диблок-сополимеры. Один флакон *Genexol-PM* содержит 30 мг паклитаксела и 150 мг метоксиполиэтиленгликоля-поли(D,L-лактида) в качестве солюбилизатора (рисунок 2). Перед применением во флакон с *Genexol-PM* асептически добавляют 5 мл изотонического раствора, а полученный прозрачный бесцветный раствор дополнительно разбавляют 5 % декстрозой до конечной концентрации 0,6–3,0 мг/мл [30].

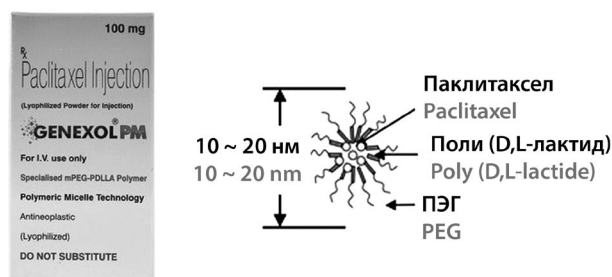


Рисунок 2. Схематическое изображение НМ в препарате *Genexol-PM*

Figure 2. Schematic representation of nanomicelles in the *Genexol-PM*

Исследование *in vivo* показало, что противоопухолевая активность *Genexol-PM* превосходит активность обычного паклитаксела, а его максимально переносимая доза в 3 раза выше [31]. Впоследствии

были проведены I и II фазы клинических испытаний с использованием препарата Genexol-PM, вводимого три раза в неделю, в сочетании с карбоплатином у пациентов с эпителиальным раком яичников [32]. В исследовании I фазы, несмотря на введение более высокой дозы паклитаксела с Genexol-PM, побочные эффекты, связанные с паклитакселом, были сопоставимы с побочными эффектами при использовании обычного паклитаксела [33]. При проведении II фазы исследования сообщалось, что эффективность трехнедельного приема Genexol-PM плюс карбоплатин не уступала эффективности стандартного режима приема паклитаксела при приемлемых профилях токсичности [34].

Доцетаксел

Известно, что DTX демонстрирует превосходящую эффективность по сравнению с РТХ при раке яичников – стойкой злокачественной опухоли с высоким уровнем смертности. Однако его клиническому применению также препятствует низкая биодоступность. На примере DTX можно продемонстрировать возможность создания однокомпонентных и комплексных мицелл для улучшения профилей эффективности и безопасности данного химиотерапевтического агента в эксперименте. Например, изучалось влияние мицелл различных ПАВ (ионогенных и неионогенных) на противоопухолевую активность DTX. Так, мицеллы на основе неионогенных полоксамеров продемонстрировали наилучшие профили высвобождения DTX и значительное увеличение его эффективности [15].

В исследовании, проведенном на базе фармацевтического факультета медицинского университета города Синьсян (КНР), была разработана новая самосборная наноплатформа для активного таргетирования тройного негативного рака молочной железы, сверхэкспрессирующего рецепторы фолиевой кислоты. Эта платформа была создана на основе модифицированных производных полоксамера 188, в результате чего были получены НМ соответствующего размера (<100 нм), обладающие хорошей стабильностью и удовлетворительной биосовместимостью. Изучение захвата данных НМ клетками и распределения их *in vivo* доказали возможность активного нацеливания на опухолевые клетки. Кроме того, показано, что НМ значительно снизили гепато- и нефротоксичность DTX [35].

Для создания НМ, чувствительных к окислительно-восстановительным процессам, группой индийских ученых был синтезирован глутатион (GSH), редокс-чувствительный тиолированный витамин-PEG-1000-сукцинат (TPGS-SH). Затем методом диализа были приготовлены НМ, конъюгированные с доцетакселом (DTX) и цетуксимабом, чувствительные к окислительно-восстановительным реакциям. В ходе оценки

ключевых характеристик полученных частиц установлено, что размер, поверхностный заряд и процентное содержание DTX находятся в диапазоне 183–227 нм, от +18 до +26 мВ и 68–71 % соответственно. Также методом электронной микроскопии показали сферическую и однородную форму наночастиц с гладкой поверхностью (рисунок 3).

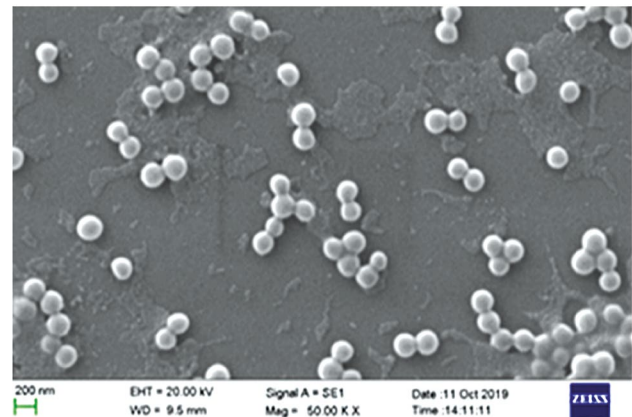


Рисунок 3. Изображение наномицелл DTX-TPGS-SH, полученное с помощью сканирующей электронной микроскопии [35]

Figure 3. Image of DTX-TPGS-SH nanomicelles using scanning electron microscopy

Изучение чувствительности НМ к рН/окислительно-восстановительным реакциям показало, что они более стабильны при высоком рН и низких концентрациях глутатиона. Проведенные *in vitro* исследования цитотоксичности, поглощения клетками, миграции и апоптоза на клетках A549 доказали, что НМ обеспечивают более высокую цитотоксичность. Результаты исследования *in vivo* эффективности на модели рака легкого у мышей позволили утверждать, что целенаправленное воздействие DTX-TPGS-SH значительно сократило количество опухолевых клеток по сравнению с контролем [36].

В исследовании H. Zhang с коллегами DTX был соединен с амфифильным диблочным полимером – метоксиполиэтиленгликоль-поли(ε-капролактоном) (mPEG-PCL), а в качестве линкера между DTX и mPEG-PCL использовалась чувствительная к окислительно-восстановительным реакциям дисульфидная связь. Доказано, что синтезированные конъюгаты mPEG-PCL-SS-DTX самособираются в мицеллы в водном растворе, которые демонстрируют устойчивый профиль высвобождения DTX. Тест на гемолитическую токсичность приготовленных мицелл mPEG-PCL-SS-DTX показал наличие незначительной гемолитической активности, что свидетельствует об их безопасности в качестве системы доставки лекарств. Анализ цитотоксичности этих НМ подтвердил их

высокую цитотоксичность по отношению к клеткам MCF-7/A и A549 и перспективность дальнейшего изучения [37, 38].

Доксорубицин

Разработка наночастиц с таргетным эффектом может решить проблему токсического воздействия доксорубина на нормальные ткани и клетки при лечении рака [39]. Группой европейских исследователей предложены мицеллы на основе сукцината токоферола (TOS) и D- α -токоферолполиэтиленгликоля-2000 (TPGS₂₀₀₀) в качестве системы доставки производного доксорубина (DOXC₁₂) при лечении глиобластомы. Мицеллы DOXC₁₂-TOS-TPGS₂₀₀₀ показали высокую концентрацию гидрофобного DOXC₁₂ (29%), размер менее 100 нм и чувствительность к pH. *In vitro* наблюдалось быстрое поглощение мицелл DOXC₁₂-TOS-TPGS₂₀₀₀ клетками глиобластомы GL261. Цитотоксичность мицелл DOXC₁₂-TOS-TPGS₂₀₀₀ оценивалась на двух клеточных линиях глиобластомы и показала синергизм между DOXC₁₂ и TOS-TPGS₂₀₀₀. Более высокая цитотоксичность мицелл DOXC₁₂-TOS-TPGS₂₀₀₀ была обусловлена в основном некрозом. Мицеллы DOXC₁₂-TOS-TPGS₂₀₀₀ могут стать многообещающей системой доставки для повышения противоопухолевой эффективности доксорубина при глиобластоме [40].

Целью исследования ученых из Саудовской Аравии являлась разработка НМ для лютеолина и DOX в качестве комбинированной системы доставки для лечения рака. Наночастицы были приготовлены с использованием 2,5 % каждого из действующих веществ. НМ были успешно разработаны и оптимизированы с использованием 20 % TPGS. Наночастицы имели сферическую структуру размером примерно 50–90 нм, что было подтверждено с помощью сканирующей электронной микроскопии. ИК-спектры НМ, нагруженных лютеолином и DOX, были идентичными, что свидетельствует о постоянстве состава. При этом МТТ-тест показал, что лечение этими комбинированными НМ привело к снижению жизнеспособности клеток MCF-7 и HepG2 по сравнению с монотерапией [41].

Фотосенсибилизаторы

Попытки включения фотосенсибилизаторов (ФС) в состав мицелл осуществляются давно и достаточно успешно. Например, гидрофобный ФС производное хлорина е6 (Ce6) был загружен в мицеллы полксамера F127 для повышения растворимости и улучшения эффективности нацеливания на опухоль. Полученные мицеллы Ce6-F127 продемонстрировали значительное повышение растворимости и эффективности генерации синглетного кислорода в водной среде по сравнению со свободным Ce6. Конфокальная

микроскопия и анализ флуоресцентно-активированной клеточной сортировки подтвердили повышенную скорость интернализации Ce6-F127 в клеточных линиях меланомы мышей (B16F10) и клеточных линиях карциномы полости рта человека (FaDu). При лазерном облучении (666 нм) клеточная фототоксичность Ce6-F127 в отношении B16F10 и FaDu была примерно в три раза выше, чем при использовании свободного Ce6. Терапевтические исследования *in vivo*, проведенные на мышинной модели рака кожи, продемонстрировали способность Ce6-F127 в сочетании с лазерным облучением эффективно проникать в солидные опухоли, что привело к значительному уменьшению объема опухоли по сравнению со свободным Ce6. Кроме того, НМ продемонстрировал повышение уровня TUNEL-положительных клеток, снижение уровня маркеров пролиферации в опухолевых тканях и предотвращение метастазирования в легкие при незначительном уровне пролиферирующих клеток и коллагеназы, что было подтверждено с помощью иммуногистохимии. Последующий анализ сыворотки и компонентов крови подтвердил безопасность и эффективность Ce6-F127 у мышей. Следовательно, разработанные НМ обладают значительным потенциалом для одновременного лечения солидных опухолей и предотвращения метастазирования [42].

Будучи ФС второго поколения, фталоцианин цинка (ZnPc) обладает множеством преимуществ при противоопухолевой фотодинамической терапии, таких как сильное поглощение в красной и ближней инфракрасной областях спектра, высокая фото- и химическая стабильность и т. д. Однако ZnPc плохо растворяется в воде и склонен к агрегации из-за п-п-взаимодействия между молекулами, что ограничивает его применение. В связи с этим для данного ФС крайне актуально применение НМ, позволяющих обеспечить его мономерное существование в организме и избирательное накопление в опухолевых тканях. В исследовании голландских ученых были изучены мицеллы бензил-поли(ϵ -капролактона)-b-поли(этиленгликоля), инкапсулирующие ZnPc, с целью повышения его растворимости и специфичности в отношении раковых клеток. В ходе эксперимента определили, что НМ с наименьшим содержанием ZnPc (0,2 и 0,4 % ZnPc по массе) были наиболее стабильны в плазме, демонстрировали минимальную передачу ZnPc липопротеинам и вызывали наибольшую фототоксичность в трех линиях раковых клеток [клеточные линии карциномы внепеченочных желчных протоков человека TFK1 (ACC 344) и EG11 (ACC 385) и клеточная линия эпидермоидной карциномы A431 (CRL-1555)] [43].

Российскими учеными создана комплексная наномицеллярная конструкция, содержащая ФС второго поколения – алюминия фталоцианин – и таргетный противоопухолевый препарат – гефитиниб [44, 45].

Каркас этих мицелл сформирован Pluronic F68 с добавлением соевого фосфатидилхолина. Идея, послужившая началом этой работы, заключалась в повышении селективности высвобождения гефитиниба в опухоли за счет лазерного облучения комплексных мицелл, содержащих инфракрасный ФС. В ходе реализации проекта применяли несколько подходов, в том числе получение комплексных липосомальных носителей, твердых дисперсий, но именно мицеллярная доставка позволила обеспечить наибольший эффект в сравнении с монотерапией [46].

Конечно, применение НМ в терапии опухолевых заболеваний не ограничивается этими исследованиями. Существует множество других работ, как описывающих сами НМ, их свойства, применение, так и посвященных созданию НМ для новых субстанций, обладающих противоопухолевой активностью, фотодинамически активных агентов и многих других.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Имеющиеся на сегодняшний день достижения в области применения НМ для повышения эффективности противоопухолевых субстанций, несомненно, показывают перспективность развития этого технологического направления. Ученые различных стран успешно создают эффективные в отношении опухолевых леток НМ, содержащие такие активные фармацевтические субстанции, как доцетаксел, паклитаксел, доксорубицин, фотосенсибилизаторы, на основе имеющихся вспомогательных веществ, модифицированных или вновь синтезированных. Однако остается еще много нерешенных вопросов, связанных как со стабильностью НМ при введении в организм, так и с правовым регулированием в области создания и внедрения этой новой фармацевтической формы.

ЛИТЕРАТУРА

- Dechbumroong P., Hu R., Keaswejjareansuk W., Namdee K., Liang X.-J. Recent advanced lipid-based nanomedicines for overcoming cancer resistance. *Cancer Drug Resistance*. 2024;7:24. DOI: 10.20517/cdr.2024.19.
- Mahato R. Multifunctional Micro- and Nanoparticles. In: Mitra A. K., Cholkar K., Mandal A., editors. *Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery and Medical Devices*. Amsterdam: Elsevier Inc.; 2017. P. 21–43. DOI: 10.1016/b978-0-323-42978-8.00002-4.
- Trinh H. M., Joseph M., Cholkar K., Mitra R., Mitra A. K. Nanomicelles in Diagnosis and Drug Delivery. In: Mitra A. K., Cholkar K., Mandal A., editors. *Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery and Medical Devices*. Amsterdam: Elsevier Inc.; 2017. P. 45–58. DOI: 10.1016/b978-0-323-42978-8.00003-6.
- Санарова Е. В., Ланцова А. В., Николаева Л. Л., Дмитриева М. В., Орлова О. Л., Косоруков В. С. Создание липосомальных систем доставки для противоопухолевых субстанций. М.: Издательство «Перо»; 2023. 152 с.
- Sanarova E., Lantsova A., Oborotova N., Polozkova A., Dmitrieva M., Orlova O., Nikolaeva L., Borisova L., Shprakh Z. Development of a Liposomal Dosage Form for a New Somatostatin Analogue. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;81(1):146–149. DOI: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000490.
- Sanarova E., Lantsova A., Oborotova N., Orlova O., Polozkova A., Dmitrieva M., Nikolaeva N. Liposome drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2019;11(3):1148–1155.
- Khan Z., Haider M. F., Naseem N., Siddiqui M. A., Ahmad U., Khan M. M. Nanocarrier for the treatment of liver cancer. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2022;14(11):944–957.
- Alshweiat A., Jaber M., Abuawad A., Athamneh T., Oqal M. Recent insights into nanoformulation delivery systems of flavonoids against glioblastoma. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2024;91:105271. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.105271.
- Санарова Е. В., Ланцова А. В., Николаева Л. Л., Оборотова Н. А. Применение полисорбатов для создания парентеральных лекарственных форм гидрофобных веществ (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2022;56(7):35–39. DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-7-35-39.
- Tang C., Zhao Y., Liu J., Zheng X., Guo X., Liu H., Chen L., Shi Y. Polysorbate 80 as a possible allergenic component in cross-allergy to docetaxel and fosaprepitant: A literature review. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2023;29(8):1998–2006. DOI: 10.1177/10781552231203186.
- Санарова Е. В., Ланцова А. В., Николаева Л. Л., Осипов В. Н., Гусев Д. В., Борисова Л. М. Солюбилизация производного 3-гидроксихиназолина, обладающего противоопухолевой активностью. *Российский биотерапевтический журнал*. 2023;22(4):60–67. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-4-60-67.
- Gallego-Jara J., Lozano-Terol G., Sola-Martínez R. A., Cánovas-Díaz M., de Diego Puente T. A Compressive Review about Taxol®: History and Future Challenges. *Molecules*. 2020;25(24):5986. DOI: 10.3390/molecules25245986.
- Zarrintaj P., Ramsey J. D., Samadi A., Atoufi Z., Yazdi M. K., Ganjali M. R., Amirabad L. M., Zangene E., Farokhi M., Formela K., Saeb M. R., Mozafari M., Thomas S. Poloxamer: A versatile tri-block copolymer for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. 2020;110:37–67. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.04.028.
- Cappuccio de Castro K., Cedran Coco J., Mendes dos Santos É., Artem Ataíde J., Miliani Martinez R., Monteiro do Nascimento M. H., Prata J., Martins Lopes da Fonte P. R., Severino P., Gava Mazzola P., Rolim Baby A., Barbosa Souto E., Ribeiro de Araujo D., Moreni Lopes A. Pluronic® triblock copolymer-based nanoformulations for cancer therapy: A 10-year overview. *Journal of Controlled Release*. 2023;353:802–822. DOI: 10.1016/j.jconrel.2022.12.017.
- Бахрушина Е. О., Пыжов В. С., Сахарова П. С., Демина Н. Б., Чижова Д. А., Табанская Т. В., Лутфуллин М. Ф. Блок-сополимеры этиленоксида и пропиленоксида: перспективы применения в отечественной медицине и фармации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2–1):333–344. DOI: 10.30895/1991-2919-2023-530.

16. Bakhrushina E. O., Khodenok A. I., Pyzhov V. S., Solomatina P. G., Demina N. B., Korochkina T. V., Krasnyuk I. I. Study of the effect of active pharmaceutical ingredients of various classes of BCS on the parameters of thermosensitive systems based on poloxamers. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2023;31(10):101780. DOI: 10.1016/j.jsps.2023.101780.
17. Mirzaei S., Gholami M. H., Hashemi F., Zabolian A., Farahani M. V., Hushmandi K., Zarrabi A., Goldman A., Ashrafizadeh M., Orive G. Advances in understanding the role of P-gp in doxorubicin resistance: Molecular pathways, therapeutic strategies, and prospects. *Drug Discovery Today*. 2022;27(2):436–455. DOI: 10.1016/j.drudis.2021.09.020.
18. Mehata A. K., Setia A., Vikas V., Malik A. K., Hassani R., Dailah H. G., Alhazmi H. A., Albarraq A. A., Mohan S., Muthu M. S. Vitamin E TPGS-Based Nanomedicine, Nanotheranostics, and Targeted Drug Delivery: Past, Present, and Future. *Pharmaceutics*. 2023;15(3):722. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030722.
19. Yan H., Du X., Wang R., Zhai G. Progress in the study of D- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) reversing multidrug resistance. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2021;205:111914. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2021.111914.
20. Chen Y., Mo L., Wang X., Chen B., Hua Y., Gong L., Yang F., Li Y., Chen F., Zhu G., Ni W., Zhang C., Cheng Y., Luo Y., Shi J., Qiu M., Wu S., Tan Z., Wang K. TPGS-1000 exhibits potent anticancer activity for hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*. *Aging*. 2020;12(2):1624–1642. DOI: 10.18632/aging.102704.
21. Kumar Panthi V., Bashyal S., Raj Paudel K., Docetaxel-loaded nanoformulations delivery for breast cancer management: Challenges, recent advances, and future perspectives. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2024;92:105314. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.105314.
22. Dashputre N. L., Kadam J. D., Laddha U. D., Patil S. B., Udayant P. B., Kakad S. P. Targeting breast cancer using phytoconstituents: Nanomedicine-based drug deliver. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. 2023;9:100116. DOI: 10.1016/j.ejmcr.2023.100116.
23. Zhang P., Xiao Y., Sun X., Lin X., Koo S., Yaremenko A. V., Qin D., Kong N., Farokhzad O. C., Tao W. Cancer nanomedicine toward clinical translation: Obstacles, opportunities, and future prospects. *Med*. 2023;4(3):147–167. DOI: 10.1016/j.medj.2022.12.001.
24. Чеберда А. Е., Белоусов Д. Ю. Сравнительный фармакоэкономический анализ препаратов Пакликал® и Таксол® в условиях Российской Федерации. *Качественная клиническая практика*. 2016;(1):14–24.
25. Lim W. T., Tan E. H., Toh C. K., Hee S. W., Leong S. S., Ang P. C. S., Wong N. S., Chowbay B. Phase I pharmacokinetic study of a weekly liposomal paclitaxel formulation (Genexol®-PM) in patients with solid tumors. *Annals of Oncology*. 2010;21(2):382–388. DOI: 10.1093/annonc/mdp315.
26. Nam S. H., Lee S.-W., Lee Y.-J., Kim Y. M. Safety and Tolerability of Weekly Genexol-PM, a Cremophor-Free Polymeric Micelle Formulation of Paclitaxel, with Carboplatin in Gynecologic Cancer: A Phase I Study. *Cancer Research and Treatment*. 2023;55(4):1346–1354. DOI: 10.4143/crt.2022.1436.
27. Wileński S., Koper A., Śledzińska P., Bebyn M., Koper K. Innovative strategies for effective paclitaxel delivery: Recent developments and prospects. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2024;30(2):367–384. DOI: 10.1177/10781552231208978.
28. Pei Q., Jiang B., Hao D., Xie Z. Self-assembled nanoformulations of paclitaxel for enhanced cancer theranostics. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2023;13(8):3252–3276. DOI: 10.1016/j.apsb.2023.02.021.
29. Tu Y., Zhang W., Fan G., Zou C., Zhang J., Wu N., Ding J., Zou W. Q., Xiao H., Tan S. Paclitaxel-loaded ROS-responsive nanoparticles for head and neck cancer therapy. *Drug Delivery*. 2023;30(1):2189106. DOI: 10.1080/10717544.2023.2189106.
30. Kim T.-Y., Kim D.-W., Chung J.-Y., Shin S. G., Kim S.-C., Heo D. S., Kim N. K., Bang Y.-J. Phase I and pharmacokinetic study of Genexol-PM, a cremophor-free, polymeric micelle-formulated paclitaxel, in patients with advanced malignancies. *Clinical Cancer Research*. 2004;10(11):3708–3716. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0655.
31. Kim S. C., Kim D. W., Shim Y. H., Bang J. S., Oh H. S., Kim S. W., Seo M. H. In vivo evaluation of polymeric micellar paclitaxel formulation: toxicity and efficacy. *Journal of Controlled Release*. 2001;72(1–3):191–202. DOI: 10.1016/s0168-3659(01)00275-9.
32. Lee S.-W., Kim Y.-M., Cho C.-H., Kim Y. T., Kim S. M., Hur S. Y., Kim J.-H., Kim B.-G., Kim S.-C., Ryu H.-S., Kang S. B. An Open-Label, Randomized, Parallel, Phase II Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of a Cremophor-Free Polymeric Micelle Formulation of Paclitaxel as First-Line Treatment for Ovarian Cancer: A Korean Gynecologic Oncology Group Study (KGOG-3021). *Cancer Research and Treatment*. 2018;50(1):195–203. DOI: 10.4143/crt.2016.376.
33. Lee S.-W., Kim Y.-M., Kim Y. T., Kang S. B. An open-label, multicenter, phase I trial of a cremophor-free, polymeric micelle formulation of paclitaxel combined with carboplatin as a first-line treatment for advanced ovarian cancer: a Korean Gynecologic Oncology Group study (KGOG-3016). *Journal of Gynecologic Oncology*. 2017;28(3):e26. DOI: 10.3802/jgo.2017.28.e26.
34. Hou X., Guan Y., He S., Wu Z., Bai J., Xu J., Wang J., Xu S., Zhu H., Yin Y., Yang X., Shi Y. A novel self-assembled nanoplatform based on retrofitting poloxamer 188 for triple-negative breast cancer targeting treatment. *Chemico-Biological Interactions*. 2023;384:110710. DOI: 10.1016/j.cbi.2023.110710.
35. Hu Y., Ran M., Wang B., Lin Y., Cheng Y., Zheng S. Co-Delivery of Docetaxel and Curcumin via Nanomicelles for Enhancing Anti-Ovarian Cancer Treatment. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:9703–9715. DOI: 10.2147/IJN.S274083.
36. Viswanadh M. K., Agrawal N., Azad S., Jha A., Poddar S., Mahto S. K., Muthu M. S. Novel redox-sensitive thiolated TPGS based nanoparticles for EGFR targeted lung cancer therapy. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;602:120652. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120652.
37. Zhang H., Wang K., Zhang P., He W., Song A, Luan Y. Redox-sensitive micelles assembled from amphiphilic mPEG-PCL-SS-DTX conjugates for the delivery of docetaxel. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016;142:89–97. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.02.045.

38. Zhang E., Xing R., Liu S., Li P. Current advances in development of new docetaxel formulations. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(3):301–312. DOI: 10.1080/17425247.2019.1583644.
39. Zeng W., Luo Y., Gan D., Zhang Y., Deng H., Liu G. Advances in Doxorubicin-based nano-drug delivery system in triple negative breast cancer. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;11:1271420. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1271420.
40. Wang M., Malfanti A., Bastiancich C., Pr at V. Synergistic effect of doxorubicin lauroyl hydrazone derivative delivered by α -tocopherol succinate micelles for the treatment of glioblastoma. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;5:100147. DOI: 10.1016/j.ijpx.2022.100147.
41. Alshamrani S., Kumar A., Aldughaim M. S., Alghamdi K. M., Hussain M. D., Alanazi F. K., Kazi M. Development of Polymeric Micelles for Combined Delivery of Luteolin and Doxorubicin for Cancer Therapy. *Journal of Cancer*. 2024;15(14):4717–4730. DOI: 10.7150/jca.96402.
42. Paul M., Ghosh B., Biswas S. F127/chlorin e6-nanomicelles to enhance Ce6 solubility and PDT-efficacy mitigating lung metastasis in melanoma. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15:621–637. DOI: 10.1007/s13346-024-01619-5.
43. Mesquita B., Singh A., Prats Masdeu C., Lokhorst N., Hehels E. R., van Steenberg M., Mastrobattista E., Heger M., van Nostrum C. F., Oliveira S. Nanobody-mediated targeting of zinc phthalocyanine with polymer micelles as nanocarriers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;655:124004. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.124004.
44. Николаева Л. Л., Санарова Е. В., Ланцова А. В. Гефитиниб: комбинированная терапия и комплексные системы доставки (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(1):26–33. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-1-1615.
45. Санарова Е. В., Ланцова А. В., Николаева Л. Л., Оборотова Н. А., Литвиненко Я. Е., Соловьева Н. Л. Создание модели комплексной наносистемы доставки, содержащей ингибитор тирозинкиназы и фотосенсибилизатор. *Химико-фармацевтический журнал*. 2023;57(7):43–46. DOI: 10.30906/0023-1134-2023-57-7-43-46.
46. Nikolaeva L. L., Sanarova E. V., Kolpaksidi A. P., Shcheglov S. D., Rudakova A. A., Baryshnikova M. A., Lantsova A. V. Effect of the composition of combined solid lipid particles with gefitinib and a photosensitizer on their size, stability and cytotoxic activity. *Biomedical Photonics*. 2024;13(2):19–25. DOI: 10.24931/2413-9432-2023-13-1-19-25.
47. technologies for Diagnostics, Drug Delivery and Medical Devices. Amsterdam: Elsevier Inc.; 2017. P. 45–58. DOI: 10.1016/B978-0-323-42978-8.00003-6.
48. Sanarova E. V., Lantsova A. V., Nikolaeva L. L., Dmitrieva M. V., Orlova O. L., Kosorukov V. S. Creation of liposomal delivery systems for antitumour substances. Moscow: "Petro" Publishing House; 2023. 152 p. (In Russ.)
49. Sanarova E., Lantsova A., Oborotova N., Polozkova A., Dmitrieva M., Orlova O., Nikolaeva L., Borisova L., Shprakh Z. Development of a Liposomal Dosage Form for a New Somatostatin Analogue. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;81(1):146–149. DOI: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000490.
50. Sanarova E., Lantsova A., Oborotova N., Orlova O., Polozkova A., Dmitrieva M., Nikolaeva N. Liposome drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2019;11(3):1148–1155.
51. Khan Z., Haider M. F., Naseem N., Siddiqui M. A., Ahmad U., Khan M. M. Nanocarrier for the treatment of liver cancer. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2022;14(11):944–957.
52. Alshweiat A., Jaber M., Abuawad A., Athamneh T., Oqal M. Recent insights into nanoformulation delivery systems of flavonoids against glioblastoma. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2024;91:105271. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.105271.
53. Sanarova E. V., Lantsova A. V., Nikolaeva L. L., Oborotova N. A. Using polysorbates for the creation of parenteral dosage forms of hydrophobic substances (a review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(7):35–39. (In Russ.) DOI 10.30906/0023-1134-2022-56-7-35-39.
54. Tang C., Zhao Y., Liu J., Zheng X., Guo X., Liu H., Chen L., Shi Y. Polysorbate 80 as a possible allergenic component in cross-allergy to docetaxel and fosaprepitant: A literature review. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2023;29(8):1998–2006. DOI: 10.1177/10781552231203186.
55. Sanarova E. V., Lantsova A. V., Nikolaeva L. L., Osipov V. N., Gusev D. V., Borisova L. M. Solubilization of 3-hydroxyquinazoline derivative with antitumor activity. *Russian Journal of Biotherapy*. 2023;22(4):60–67. (In Russ.) DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-4-60-67.
56. Gallego-Jara J., Lozano-Terol G., Sola-Martínez R. A., C novas-Díaz M., de Diego Puente T. A Compressive Review about Taxol[®]: History and Future Challenges. *Molecules*. 2020;25(24):5986. DOI: 10.3390/molecules25245986.
57. Zarrintaj P., Ramsey J. D., Samadi A., Atoufi Z., Yazdi M. K., Ganjali M. R., Amirabad L. M., Zangene E., Farokhi M., Formela K., Saeb M. R., Mozafari M., Thomas S. Poloxamer: A versatile tri-block copolymer for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. 2020;110:37–67. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.04.028.
58. Cappuccio de Castro K., Cedran Coco J., Mendes dos Santos  ., Artem Ataide J., Miliani Martinez R., Monteiro do Nascimento M. H., Prata J., Martins Lopes da Fonte P. R., Severino P., Gava Mazzola P., Rolim Baby A., Barbosa Souto E., Ribeiro de Araujo D., Moreni Lopes A. Pluronic[®] triblock copolymer-based nanoformulations for cancer therapy: A 10-year overview. *Journal of Controlled Release*. 2023;353:802–822. DOI: 10.1016/j.jconrel.2022.12.017.

REFERENCES

1. Dechbumroong P., Hu R., Keaswejjareansuk W., Namdee K., Liang X.-J. Recent advanced lipid-based nanomedicines for overcoming cancer resistance. *Cancer Drug Resistance*. 2024;7:24. DOI: 10.20517/cdr.2024.19.
2. Mahato R. Multifunctional Micro- and Nanoparticles. In: Mitra A. K., Cholkar K., Mandal A., editors. *Emerging Nanotechnologies for Diagnostics, Drug Delivery and Medical Devices*. Amsterdam: Elsevier Inc.; 2017. P. 21–43. DOI: 10.1016/B978-0-323-42978-8.00002-4.
3. Trinh H. M., Joseph M., Cholkar K., Mitra R., Mitra A. K. Nanomicelles in Diagnosis and Drug Delivery. In: Mitra A. K., Cholkar K., Mandal A., editors. *Emerging Nano-*

15. Bakhrushina E.O., Pyzhov V.S., Sakharova P.S., Demina N.B., Chizhova D.A., Tabanskaya T.V., Lutfullin M.F. Block Copolymers of Ethylene Oxide and Propylene Oxide: Prospects for Medical and Pharmaceutical Application in Russia. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2-1):333-344. (In Russ.) DOI: 10.30895/1991-2919-2023-530.
16. Bakhrushina E.O., Khodenok A.I., Pyzhov V.S., Solomatina P.G., Demina N.B., Korochkina T.V., Krasnyuk I.I. Study of the effect of active pharmaceutical ingredients of various classes of BCS on the parameters of thermosensitive systems based on poloxamers. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2023;31(10):101780. DOI: 10.1016/j.jsps.2023.101780.
17. Mirzaei S., Gholami M.H., Hashemi F., Zabolian A., Farahani M.V., Hushmandi K., Zarrabi A., Goldman A., Ashrafizadeh M., Orive G. Advances in understanding the role of P-gp in doxorubicin resistance: Molecular pathways, therapeutic strategies, and prospects. *Drug Discovery Today*. 2022;27(2):436-455. DOI: 10.1016/j.drudis.2021.09.020.
18. Mehata A.K., Setia A., Vikas V., Malik A.K., Hassani R., Dailah H.G., Alhazmi H.A., Albarraq A.A., Mohan S., Muthu M.S. Vitamin E TPGS-Based Nanomedicine, Nanotheranostics, and Targeted Drug Delivery: Past, Present, and Future. *Pharmaceutics*. 2023;15(3):722. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030722.
19. Yan H., Du X., Wang R., Zhai G. Progress in the study of D- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) reversing multidrug resistance. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2021;205:111914. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2021.111914.
20. Chen Y., Mo L., Wang X., Chen B., Hua Y., Gong L., Yang F., Li Y., Chen F., Zhu G., Ni W., Zhang C., Cheng Y., Luo Y., Shi J., Qiu M., Wu S., Tan Z., Wang K. TPGS-1000 exhibits potent anticancer activity for hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*. *Aging*. 2020;12(2):1624-1642. DOI: 10.18632/aging.102704.
21. Kumar Panthi V., Bashyal S., Raj Paudel K., Docetaxel-loaded nanoformulations delivery for breast cancer management: Challenges, recent advances, and future perspectives. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2024;92:105314. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.105314.
22. Dashputre N.L., Kadam J.D., Laddha U.D., Patil S.B., Udayant P.B., Kakad S.P. Targeting breast cancer using phytoconstituents: Nanomedicine-based drug deliver. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. 2023;9:100116. DOI: 10.1016/j.ejmcr.2023.100116.
23. Zhang P., Xiao Y., Sun X., Lin X., Koo S., Yaremenko A.V., Qin D., Kong N., Farokhzad O.C., Tao W. Cancer nanomedicine toward clinical translation: Obstacles, opportunities, and future prospects. *Med*. 2023;4(3):147-167. DOI: 10.1016/j.medj.2022.12.001.
24. Cheberda A.E., Belousov D.Yu. Comparative pharmacoeconomic analysis of Paclical[®] and Taxol[®] in Russian Federation. *Good Clinical Practice*. 2016;(1):14-24. (In Russ.)
25. Lim W.T., Tan E.H., Toh C.K., Hee S.W., Leong S.S., Ang P.C.S., Wong N.S., Chowbay B. Phase I pharmacokinetic study of a weekly liposomal paclitaxel formulation (Genexol[®]-PM) in patients with solid tumors. *Annals of Oncology*. 2010;21(2):382-388. DOI: 10.1093/annonc/mdp315.
26. Nam S.H., Lee S.-W., Lee Y.-J., Kim Y.M. Safety and Tolerability of Weekly Genexol-PM, a Cremophor-Free Polymeric Micelle Formulation of Paclitaxel, with Carboplatin in Gynecologic Cancer: A Phase I Study. *Cancer Research and Treatment*. 2023;55(4):1346-1354. DOI: 10.4143/crt.2022.1436.
27. Wileński S., Koper A., Śledzińska P., Bebyn M., Koper K. Innovative strategies for effective paclitaxel delivery: Recent developments and prospects. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. 2024;30(2):367-384. DOI: 10.1177/10781552231208978.
28. Pei Q., Jiang B., Hao D., Xie Z. Self-assembled nanoformulations of paclitaxel for enhanced cancer theranostics. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2023;13(8):3252-3276. DOI: 10.1016/j.apsb.2023.02.021.
29. Tu Y., Zhang W., Fan G., Zou C., Zhang J., Wu N., Ding J., Zou W.Q., Xiao H., Tan S. Paclitaxel-loaded ROS-responsive nanoparticles for head and neck cancer therapy. *Drug Delivery*. 2023;30(1):2189106. DOI: 10.1080/10717544.2023.2189106.
30. Kim T.-Y., Kim D.-W., Chung J.-Y., Shin S.G., Kim S.-C., Heo D.S., Kim N.K., Bang Y.-J. Phase I and pharmacokinetic study of Genexol-PM, a cremophor-free, polymeric micelle-formulated paclitaxel, in patients with advanced malignancies. *Clinical Cancer Research*. 2004;10(11):3708-3716. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0655.
31. Kim S.C., Kim D.W., Shim Y.H., Bang J.S., Oh H.S., Kim S.W., Seo M.H. In vivo evaluation of polymeric micellar paclitaxel formulation: toxicity and efficacy. *Journal of Controlled Release*. 2001;72(1-3):191-202. DOI: 10.1016/s0168-3659(01)00275-9.
32. Lee S.-W., Kim Y.-M., Cho C.-H., Kim Y.T., Kim S.M., Hur S.Y., Kim J.-H., Kim B.-G., Kim S.-C., Ryu H.-S., Kang S.B. An Open-Label, Randomized, Parallel, Phase II Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of a Cremophor-Free Polymeric Micelle Formulation of Paclitaxel as First-Line Treatment for Ovarian Cancer: A Korean Gynecologic Oncology Group Study (KGOG-3021). *Cancer Research and Treatment*. 2018;50(1):195-203. DOI: 10.4143/crt.2016.376.
33. Lee S.-W., Kim Y.-M., Kim Y.T., Kang S.B. An open-label, multicenter, phase I trial of a cremophor-free, polymeric micelle formulation of paclitaxel combined with carboplatin as a first-line treatment for advanced ovarian cancer: a Korean Gynecologic Oncology Group study (KGOG-3016). *Journal of Gynecologic Oncology*. 2017;28(3):e26. DOI: 10.3802/jgo.2017.28.e26.
34. Hou X., Guan Y., He S., Wu Z., Bai J., Xu J., Wang J., Xu S., Zhu H., Yin Y., Yang X., Shi Y. A novel self-assembled nanoplatform based on retrofitting poloxamer 188 for triple-negative breast cancer targeting treatment. *Chemico-Biological Interactions*. 2023;384:110710. DOI: 10.1016/j.cbi.2023.110710.
35. Hu Y., Ran M., Wang B., Lin Y., Cheng Y., Zheng S. Co-Delivery of Docetaxel and Curcumin via Nanomicelles for Enhancing Anti-Ovarian Cancer Treatment. *International Journal of Nanomedicine*. 2020;15:9703-9715. DOI: 10.2147/IJN.S274083.
36. Viswanadh M.K., Agrawal N., Azad S., Jha A., Poddar S., Mahto S.K., Muthu M.S. Novel redox-sensitive thiolated TPGS based nanoparticles for EGFR targeted lung cancer therapy. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;602:120652. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120652.

37. Zhang H., Wang K., Zhang P., He W., Song A., Luan Y. Redox-sensitive micelles assembled from amphiphilic mPEG-PCL-SS-DTX conjugates for the delivery of docetaxel. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016;142:89–97. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.02.045.
38. Zhang E., Xing R., Liu S., Li P. Current advances in development of new docetaxel formulations. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(3):301–312. DOI: 10.1080/17425247.2019.1583644.
39. Zeng W., Luo Y., Gan D., Zhang Y., Deng H., Liu G. Advances in Doxorubicin-based nano-drug delivery system in triple negative breast cancer. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;11:1271420. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1271420.
40. Wang M., Malfanti A., Bastiancich C., Pr at V. Synergistic effect of doxorubicin lauroyl hydrazone derivative delivered by α -tocopherol succinate micelles for the treatment of glioblastoma. *International Journal of Pharmaceutics: X*. 2023;5:100147. DOI: 10.1016/j.ijpx.2022.100147.
41. Alshamrani S., Kumar A., Aldughaim M. S., Alghamdi K. M., Hussain M. D., Alanazi F. K., Kazi M. Development of Polymeric Micelles for Combined Delivery of Luteolin and Doxorubicin for Cancer Therapy. *Journal of Cancer*. 2024;15(14):4717–4730. DOI: 10.7150/jca.96402.
42. Paul M., Ghosh B., Biswas S. F127/chlorin e6-nanomicelles to enhance Ce6 solubility and PDT-efficacy mitigating lung metastasis in melanoma. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15:621–637. DOI: 10.1007/s13346-024-01619-5.
43. Mesquita B., Singh A., Prats Masdeu C., Lokhorst N., Hebbels E. R., van Steenbergen M., Mastrobattista E., Heeger M., van Nostrum C. F., Oliveira S. Nanobody-mediated targeting of zinc phthalocyanine with polymer micelles as nanocarriers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;655:124004. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.124004.
44. Nikolaeva L. L., Sanarova E. V., Lantsova A. V. Gefitinib: Combination Therapy and Complex Delivery Systems (Review). *Drug development & registration*. 2024;13(1):26–33. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-1-1615.
45. Sanarova E. V., Lantsova A. V., Nikolaeva L. L., Oborotova N. A., Litvinenko Y. E., Solovieva N. L. Creation of a model of complex nanodelivery systems containing a tyrosine kinase inhibitor and a photosensitizer. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;57(7):43–46. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2023-57-7-43-46.
46. Nikolaeva L. L., Sanarova E. V., Kolpaksidi A. P., Shcheglov S. D., Rudakova A. A., Baryshnikova M. A., Lantsova A. V. Effect of the composition of combined solid lipid particles with gefitinib and a photosensitizer on their size, stability and cytotoxic activity. *Biomedical Photonics*. 2024;13(2):19–25. DOI: 10.24931/2413-9432-2023-13-1-19-25.

120 Минпромторг
России



ЮБИЛЕЙНАЯ X ВСЕРОССИЙСКАЯ GMP-КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

17-19 сентября
Кластер «Ломоносов»
Москва, 2025

**РЕГИСТРАЦИЯ
ОТКРЫТА**

Оператор:
ЦКК С-ГРУП
+7(495) 120-53-33
conference@sgr.com.ru

www.gosgmp.ru



Оригинальная статья / Research article

УДК 615.014.21

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2055>



Влияние на высвобождение размера частиц твердых дисперсных систем при проведении теста «Растворение»

С. А. Золотов¹, А. В. Панов²✉

¹ Общество с ограниченной ответственностью «АМЕДАРТ». 109316, Россия, г. Москва, Волгоградский проспект, д. 42, корп. 24

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (РТУ МИРЭА). 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

✉ **Контактное лицо:** Панов Алексей Валерьевич. **E-mail:** panov@mirea.ru; alpa602@mail.ru

ORCID: С. А. Золотов – <https://orcid.org/0000-0002-1852-7615>;

А. В. Панов – <https://orcid.org/0000-0002-1603-143X>.

Статья поступила: 16.03.2025

Статья принята в печать: 22.05.2025

Статья опубликована: 23.05.2025

Резюме

Введение. Применение метода твердых дисперсных систем для увеличения растворимости липофильных активных фармацевтических субстанций является промышленно применимым при использовании разных технологий, но в литературных источниках недостаточно отражено влияние размера частиц на растворение данных систем в зависимости от метода.

Цель. Изучение влияния размера частиц аморфных твердых дисперсных систем «дарунавир – водорастворимый полимер», полученных методами удаления растворителя и экструзии горячего расплава, на растворение дарунавира в биологическом интервале рН 1,2; 4,5 и 6,8.

Материалы и методы. Аморфные твердые дисперсные системы получены двумя способами: удалением растворителя и экструзией горячего расплава. Аморфность определена методами рентгеновской порошковой дифракции и электронной микроскопией. Эффективность дисперсных систем сравнивали по результатам теста «Растворение» порошков, механически измельченных до одинакового размера частиц, в биологическом интервале рН. Концентрация дарунавира в растворе определена с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием на диодной матрице.

Результаты и обсуждение. Наилучший результат показала твердая дисперсная система на основе полимера Eudragit® E PO с размером частиц D_{90} менее 10 мкм. Увеличение концентрации дарунавира относительно кристаллической формы, соответствующей дарунавира этанолату, составило в средах растворения с рН 1,2; 4,5 и 6,8 соответственно 324, 2485 и 740 %.

Заключение. Способы получения твердых дисперсных систем, такие как удаление растворителя и экструзия горячего расплава, при одинаковом размере частиц не оказывают влияние на концентрацию АФС дарунавира в растворе в биологическом интервале рН при проведении теста «Растворение».

Ключевые слова: дарунавир, твердые дисперсии, тест «Растворение», аморфность, микроскопия

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

Вклад авторов. С. А. Золотов участвовал в обработке результатов и планировании цели. А. В. Панов участвовал в планировании цели и оценке результатов.

Для цитирования: Золотов С. А., Панов А. В. Влияние на высвобождение размера частиц твердых дисперсных систем при проведении теста «Растворение». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):149–155. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2055>

Effect of particle size on release of solid dispersed particles during the "Dissolution" test

Sergei A. Zolotov¹, Aleksey V. Panov²✉

¹ Limited Liability Company "AMEDART". 42/24, Volgogradsky prospekt, Moscow, 109316, Russia

² MIREA – Russian Technological University. 86, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia

© Золотов С. А., Панов А. В., 2025

© Zolotov S. A., Panov A. V., 2025

✉ **Corresponding author:** Aleksey V. Panov. **E-mail:** panov@mirea.ru; alpa602@mail.ru

ORCID: Sergei A. Zolotov – <https://orcid.org/0000-0002-1852-7615>;
Aleksey V. Panov – <https://orcid.org/0000-0002-1603-143X>.

Received: 16.03.2025

Accepted: 22.05.2025

Published: 23.05.2025

Abstract

Introduction. The use of the solid disperse systems method to increase the solubility of lipophilic active pharmaceutical ingredients is industrially applicable using different technologies, but the influence of particle size on the dissolution of these systems, depending on the method, is not sufficiently reflected in the literature.

Aim. To study the influence of the particle size of amorphous solid disperse systems "darunavir-water-soluble polymer" obtained by solvent removal and hot melt extrusion on the dissolution of Darunavir in the biological pH range of 1.2; 4.5 and 6.8.

Materials and methods. Amorphous solid disperse systems were obtained in two ways: solvent removal and hot melt extrusion. Amorphism was determined by X-ray powder diffraction and electron microscopy. The efficiency of disperse systems was compared based on the results of the "Dissolution" test of powders mechanically ground to the same particle size in the biological pH range. The concentration of Darunavir in solution was determined using high-performance liquid chromatography with diode array detection.

Results and discussion. The best result was shown by a solid dispersion system based on the Eudragit® E PO polymer with a particle size D_{90} of less than 10 μm . The increase in the concentration of Darunavir relative to the crystalline form corresponding to Darunavir ethanolate was 324, 2485, and 740%, respectively, in dissolution media with pH 1.2; 4.5, and 6.8.

Conclusions. Methods for obtaining solid dispersion systems, such as solvent removal and hot melt extrusion with the same particle size, do not affect the concentration of the Darunavir API in solution in the biological pH range during the Dissolution test.

Keywords: darunavir, solid dispersions, Dissolution test, amorphousness, microscopy

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. Sergei A. Zolotov participated in processing the results and planning the goal. Aleksey V. Panov participated in planning the goal and evaluating the results.

For citation: Zolotov S. A., Panov A. V. Effect of particle size on release of solid dispersed particles during the "Dissolution" test. *Drug development & registration*. 2025;14(2):149–155. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2055>

ВВЕДЕНИЕ

Основной проблемой при создании современных пероральных лекарственных препаратов является высокая липофильность используемых активных фармацевтических субстанций [1–20], относящихся ко второму и четвертому классам биофармацевтической системы. Липофильность АФС влечет за собой плохую растворимость в биологическом интервале pH [2], что может сказываться на биодоступности и оказывать негативное влияние на терапевтический эффект лекарственного препарата (ЛП) [3]. Почти 90 % новых молекул сталкиваются с этой проблемой [4]. Это сказывается на увеличении дозировки кандидата в исследованиях *in vitro* и *in vivo* на животных, что впоследствии не коррелируется с результатами клинических исследований на человеке, а при положительном результате влечет за собой увеличение стоимости как исследования, так и дальнейшей терапии.

Для увеличения растворимости АФС используются следующие промышленные методы, представленные в таблице 1. Часто эти методы комбинируются между собой для создания максимально эффективного лекарственного препарата.

Наиболее эффективным методом увеличения растворимости и, как следствие, биодоступности, по мнению некоторых авторов [11], является создание твердых дисперсных систем (ТДС) на основе полимерного носителя. В таблице 2 представлены существующие технологические решения для получения ТДС в промышленных масштабах.

В современных литературных источниках недостаточно отражено влияние на растворение размера частиц твердых дисперсных систем, полученных с помощью технологии удаления растворителя или технологии экструзии горячего расплава.

Цель работы. Сравнение результатов теста «Растворение» аморфных твердых дисперсных систем «дарунавир – водорастворимый полимер», полу-

Таблица 1. Методы увеличения растворимости АФС в оригинальных ЛП

Table 1. Methods for increasing the solubility of API in drugs

| Метод Method | Лекарственные препараты ¹ Medicinal product ¹ |
|--|--|
| Микронизация [5] Micronization [5] | Абаджио® (Genzyme Europe B.V., Нидерланды) Abagio® (Genzyme Europe B.V., Netherlands) |
| Добавление поверхностно-активных веществ [8] Addition of surfactants [8] | Стокрин® (Merck Sharp & Dohme B.V., Нидерланды) Stocrin® (Merck Sharp & Dohme B.V., Netherlands) |
| Нанокристаллы [4] Nanocrystals [4] | Трайкор® (Abbott Laboratories GmbH, Германия) Trikor® (Abbott Laboratories GmbH, Germany) |
| Самозмульгирующие системы доставки [9] Self-emulsifying delivery systems [9] | Кстанди® (Astellas Pharma Europe B.V., Нидерланды) Xtandi® (Astellas Pharma Europe B.V., Netherlands) |
| Создание твердых дисперсных систем типа «АФС – водорастворимый полимер» [6, 7] Creation of solid dispersed systems of the type "APS – water-soluble polymer" [6, 7] | Норвир® (AbbVi S.r.l., Италия) Norvir® (AbbVi S.r.l., Italy) |
| Создание твердых дисперсных систем типа «АФС – циклодекстрин» [10] Creation of solid dispersed systems of the type "APS – cyclodextrin" [10] | Уконик® (TG Therapeutics, США) Ukonik® (TG Therapeutics, USA) |

Примечание. ¹ FDA Approves Three Food Colors from Natural Sources. Available at: <https://www.fda.gov>. Accessed: 16.03.2025.

Note. ¹ FDA Approves Three Food Colors from Natural Sources. Available at: <https://www.fda.gov>. Accessed: 16.03.2025.

ченных методами удаления растворителя и экструзии горячего расплава, в зависимости от размера частиц в биологическом интервале при pH 1,2; 4,5 и 6,8.

Таблица 2. Методы получения твердых дисперсий в оригинальных ЛП

Table 2. Methods for obtaining solid dispersions in drugs

| Метод Method | Лекарственные препараты [11] Medicinal product [11] |
|---|---|
| Технология удаления растворителя Solvent removal technology | Афинитор® (Novartis Pharma AG, Швейцария). Интеленс® (Janssen-Cilag S.p.A., Италия). Стиварга® (Bayer AG, Германия) Afinitor® (Novartis Pharma AG, Switzerland). Intelence® (Janssen-Cilag S.p.A., Italy). Stivarga® (Bayer AG, Germany) |
| Технология экструзии горячего расплава Hot melt extrusion technology | Норвир® (AbbVi S.r.l., Италия). Калетра® (AbbVi S.r.l., Италия) Norvir® (AbbVi S.r.l., Italy). Kaletra® (AbbVi S.r.l., Italy) |

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Все оборудование, задействованное в процессе подготовки проб и проведения анализа, было откалибровано, проверено и квалифицировано.

Для исследований использовались дарунавира этанолат (ДЭ) (ФС-001209), дарунавир аморфный (ДА) (ФС-000982, HETERO, Индия). АФС относятся ко II классу БКС и обладают плохой растворимостью.

Полимеры: Kollidon® VA 64 (BASF, Германия); Eudragit® E PO (Evonik Industries AG, Германия).

Для детектирования и расчетов использовался стандартный образец «Дарунавира» (ООО «АМЕДАРТ», Россия) с чистотой 99,8 % на сухое и свободное от органических растворителей вещество.

Структурные формулы дарунавира и полимеров, используемых в работе, представлены на рисунке 1.

Получение твердых дисперсных систем, соотношение АФС: полимер – 1:5 (масс/масс)

Метод удаления растворителя. Дарунавира этанолат растворяли в ацетоне при температуре 50 °С, соотношение составляло 1/5 г/мл, после чего при перемешивании на магнитной мешалке добавляли расчетное количество полимера. Затем раствор выливали на поддон и высушивали в вакуумно-сушильном шкафу VO29 (Mettmert GmbH, Германия) при вакууме до 20 мбар и температуре 90 °С. Готовую сухую дисперсию измельчали в мельнице MF (IKA, Германия) с размером ячеек 0,315 мм и производили досушку. Полученный образец исследовали на анализаторе влажности OHAUS (США) до потери веса при высушивании менее 0,5 % для удаления ацетона до норм остаточного органического растворителя класса 3 согласно руководству ICH Q3C.

Экструзия горячего расплава (НМЕ) проводилась в двухшнековом экструдере Pharma 11 (Thermo Fisher Scientific, Германия). Аппарат оснащен шнеком диаметром 11 мм. Экструзия проводилась при постоянной скорости подачи физической смеси «АФС –

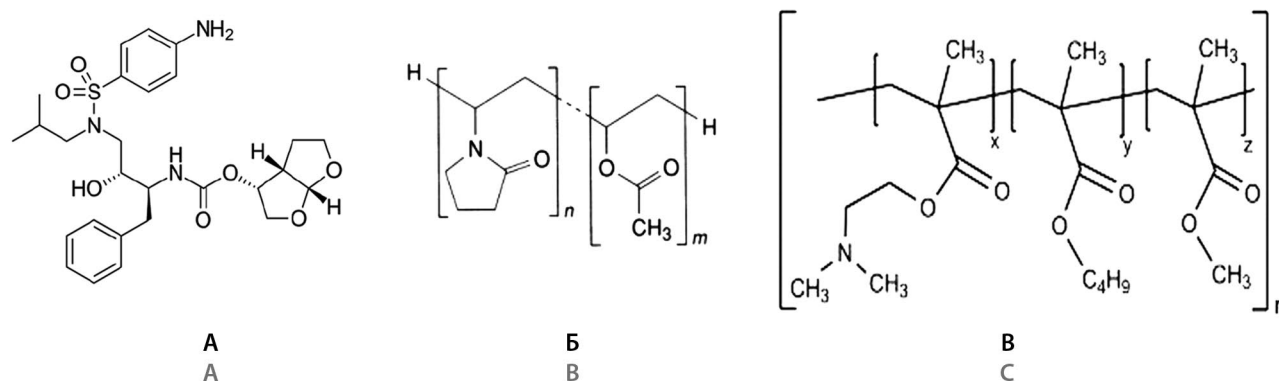


Рисунок 1. Структурные формулы:

А – АФС дарунавира; Б – Kollidon® VA 64; В – Eudragit® E PO

Figure 1. Structural formulas:

А – AFS darunavir; В – Kollidon® VA 64; С – Eudragit® E PO

полимер» в заданном соотношении, при максимальной температуре цилиндра 150 °С. Готовый экструдат измельчали в мельнице MF (IKA, Германия) с размером ячеек 0,315 мм.

Измельчение ТДС до размера частиц D90 100 мкм и 10 мкм, измеренных методом лазерной дифракции, проводили на молотковой лабораторной мельнице MEGAMILL (ROTECH, Китай).

Тест «Растворение» для ТДС проводили в биологическом диапазоне рН. Образцы ТДС и АФС растворяли в следующих стандартных средах согласно ОФС.1.3.0003.15:

- растворе соляной кислоты с рН 1,2;
- ацетатном буфере с рН 4,5;
- фосфатном буфере с рН 6,8.

Тест «Растворение» проводили в условиях, одобренных FDA для твердых лекарственных препаратов на основе действующего вещества дарунавир [12]: перемешивание в течение 30 мин в тестере растворения, аппарат II (Distek, Inc., США), со скоростью вращения лопасти 75 мин⁻¹ при 37 °С в 900 мл среды растворения. По истечении этого времени раствор извлекали и фильтровали через фильтр ПТФЭ с диаметром пор 0,45 мкм.

Метод ВЭЖХ для определения концентрации АФС. Хроматографическое разделение проводили на хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) в изократическом режиме с использованием буферного раствора 0,01 М формиата аммония (рН 3,0) и ацетонитрила в соотношении 55:45 (об./об.) со скоростью потока 1,0 мл/мин на колонке X-Bridge C18 (150 × 4,6 мм × 3,5 мкм). Детектирование проводили с помощью диодной матрицы при длине волны 265 нм, температура колонки 30 °С. Данные о гомогенности пика ДЭ, полученные с помощью фотодиодной матрицы, продемонстрировали специфичность метода в присутствии деградантов. Продукты деградации бы-

ли хорошо разделены с первичным пиком дарунавира, что указывает на то, что метод является специфичным. Валидацию метода проводили в соответствии с руководящими принципами Международной конференции по гармонизации в отношении специфичности, точности, линейности, правильности и надежности. Регрессионный анализ показал значение коэффициента корреляции более 0,999 [13].

Стабильность твердой дисперсной системы на аморфность изучалась в климатической камере ICH 110 (Memmert GmbH, Германия). Образцы ТДС помещали в контейнеры Duma® Twist-Off 45.035 с 3827 (Gerresheimer AG, Германия), которые укупили крышками DES и испытывали в точках времени 1 месяц, 3 месяца и 6 месяцев при температуре 40 °С и повышенной влажности 75 %, что в точке хранения 6 месяцев соответствует 2 годам хранения при комнатной температуре. Образцы ТДС оценивали на аморфность методом рентгеновской дифракции.

Сканирующая электронная микроскопия. Образцы порошка наносились на двухсторонний углеродный скотч (SPI Supplies, США), закрепленный на алюминиевом столике. Далее на образцы напылялось золото (толщина слоя 5 нм) с помощью установки SPI-Module Sputter Coater (SPI Supplies, США). Анализ образцов порошка проводили с помощью двухлучевого сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D (FEI Company, США) в режиме высокого вакуума при ускоряющем напряжении 10 кВ.

Порошковая рентгеновская дифракция. Образцы носителей АФИ изучали методом рентгеновской порошковой дифракции (РФА) на дифрактометре D8 ADVANCE (Bruker, Германия). Данный вид анализа проводился с целью исследования образцов носителей АФИ на кристалличность для сопоставления полученных данных с другими результатами исследований. Рентгеновские дифракционные

картины получены с использованием излучения $\text{CuK}\alpha$, напряжение на ускоряющей трубке 40 кВ, ток 40 мА, Ni-фильтр, детектор LYNXEYE, геометрия на отражение, диапазон углов $2\theta = 5\text{--}60^\circ$, шаг $0,01125^\circ$. Время накопления сигнала 0,22–0,40 с/шаг, скорость вращения кюветы с образцом 20 об/мин. Для получения экспериментальных дифракционных картин исследуемые образцы тщательно перетирались в ступке из синтетической яшмы непосредственно перед съемкой и помещались в низкофоновые кюветы с подложкой из ориентированного монокристаллического кремния.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как указывалось ранее, высокая биодоступность низкорастворимой в воде АФС ДЭ может быть достигнута путем создания на ее основе твердой дисперсной системы за счет равномерного распределения частиц активного вещества и перевода их в аморфное состояние. Для установления степени аморфности частиц дарунавир все полученные ТДС были проанализированы методом порошковой дифракции, как описано выше.

Ввиду того, что все полученные образцы ТДС ДЭ-ЕРО НМЕ 1-5 имеют схожие рентгенограммы с характерным аморфным галло, можно сделать вывод, что дарунавир находится в ТДС в аморфном состоянии и исследуемые объекты должны обладать повышенным растворением относительно кристаллической формы данной АФС ДЭ.

Для установления того факта, что представленные образцы являются твердым раствором, был применен метод электронной микроскопии, результаты которого представлены на рисунке 2.

На микрофотографиях всех ТДС (4, 5, 7 и 8) отсутствуют посторонние включения, характеризующие фазы самой АФС или полимера, что свидетельствует о том, что они представляют собой гомогенный твердый раствор.

Для установления наиболее оптимального состава ТДС полученные образцы подвергали исследованию с помощью теста «Растворение» в трех стандартных средах (рН 1,2; 4,5 и 6,8) в условиях, одобренных FDA для твердых лекарственных препаратов на основе действующего вещества дарунавир. Количественное определение АФС дарунавир проводили методом ВЭЖХ в изократическом режиме. Все данные получены в трех повторах, относительное стандартное отклонение не превышало 3%. Образцы ТДС обозначены по правилу АФС / полимер VA 64 или ЕРО, полученные по технологии SE или НМЕ, размер частиц D_{90} 10 или 100 мкм.

Результаты теста «Растворение» представлены в таблице 3 и на диаграммах 1–3 в виде значения концентрации АФС дарунавир в мг/мл, достигнутого путем перемешивания исследуемого образца ТДС в 900 мл среды растворения на лопастной мешалке со

скоростью вращения лопасти 75 мин^{-1} при 37°C в течение 30 мин. Образцы ТДС при этом были получены с помощью технологий SE и НМЕ и имели разный размер частиц.

Таблица 3. Концентрация АФС в конечной точке теста «Растворение» в зависимости от рН

Table 3. Concentration of API at the end point of the "Dissolution" test depending on pH

| Объект Object | Метод / размер частиц, мкм Method / particle size, μm | Среда растворения Dissolution medium | | |
|------------------------------|---|---|--------|--------|
| | | рН 1,2 | рН 4,5 | рН 6,8 |
| ДЭ DE | | 0,821 | 0,101 | 0,112 |
| ДА DA | | 1,212 | 0,391 | 0,183 |
| ТДС ДЭ-VA 64 ASD DE-VA 64 | SE/100 | 2,038 | 1,206 | 0,407 |
| | HME/100 | 2,021 | 1,211 | 0,402 |
| | SE/10 | 2,317 | 1,305 | 0,492 |
| | HME/10 | 2,326 | 1,302 | 0,491 |
| ТДС ДЭ-Е РО ASD DE-E РО | SE/100 | 3,491 | 2,128 | 0,682 |
| | HME/100 | 3,489 | 2,326 | 0,713 |
| | SE/10 | 3,485 | 2,620 | 0,943 |
| | HME/10 | 3,492 | 2,611 | 0,941 |

Исходя из полученных данных, все твердые дисперсии независимо от полимера, образующего дисперсную среду, и размера частиц обладают более высокими концентрациями дарунавир, обнаруженного в среде растворения относительно как кристаллической формы АФС ДЭ, так и аморфной формы АФС ДА. Следует отметить, что аморфная форма дарунавир показывает более высокую концентрацию в тесте «Растворение» в биологическом интервале рН относительно результатов дарунавир этанола, принятого за 100%. Содержание последнего при переходе в аморфную форму показывает рост при рН 1,2 на 48%, при рН 4,5 на 287% и при рН 4,5 на 63%.

Неоспоримым фактом является то, что рН-зависимый полимер Eudragit® Е РО, рекомендованный некоторыми авторами [14, 15], является отличительным полимером для повышения растворимости АФС с кислотным рКа, к которым относится и дарунавир с рКа = 2,39 [16].

Мы предполагаем, что за счет большего количества неподеленных электронных пар Eudragit® Е РО в отличие от Kollidon® VA 64 возможно образование большего количества водородных связей полимер-АФС не только за счет строения молекулы, но и за счет мольного соотношения в твердой дисперсии (молекулярная масса Eudragit® Е РО 47 000 г/моль против молекулярной массы до 70 000 г/моль у конкурента [17, 18]) и, следовательно, увеличение концентрации дарунавир в среде растворения.

Способ получения ТДС при одинаковом размере частиц не оказывал статистически значимого влияния на концентрацию дарунавир в среде раст-

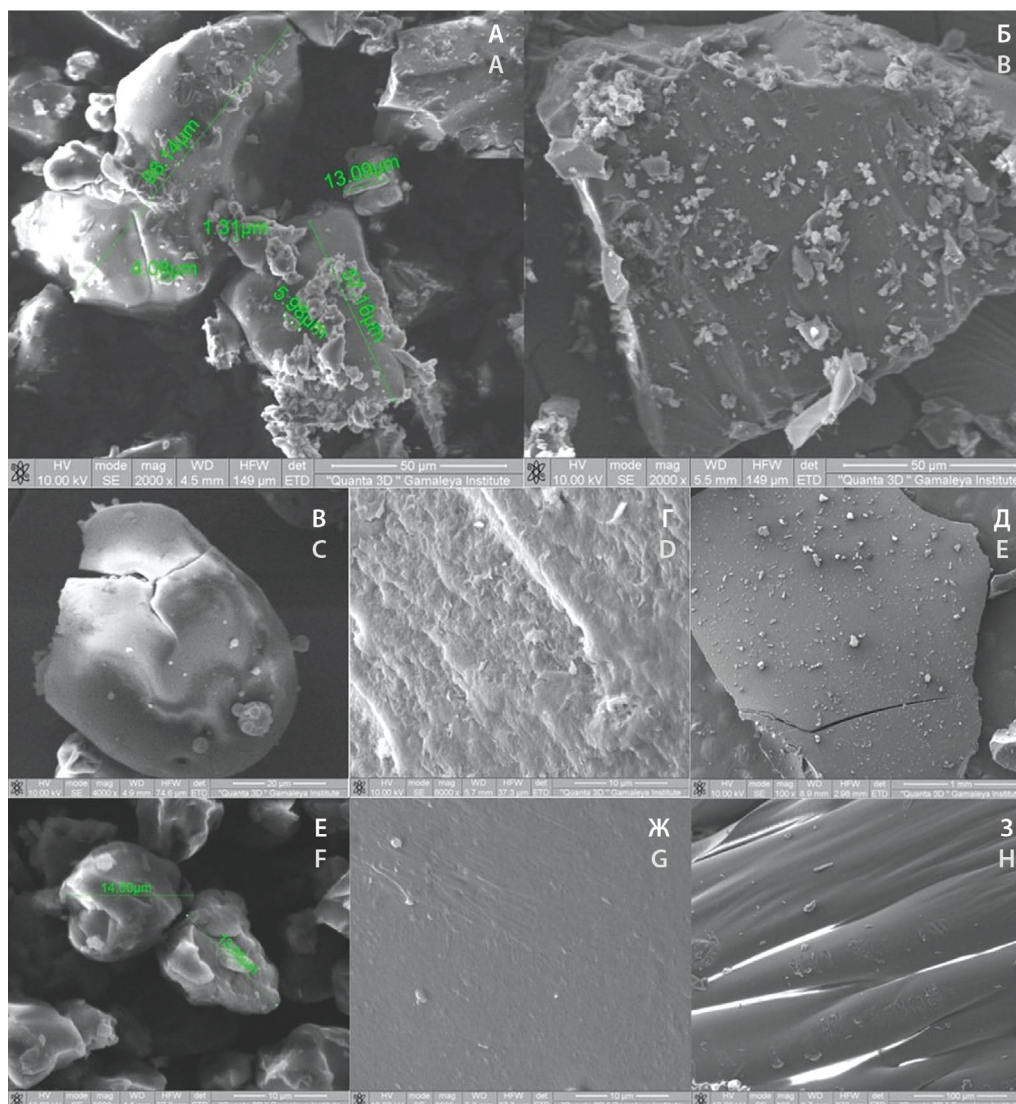


Рисунок 2. Микрофотографии.

А – АФС дарунавир аморфный (50 мкм); **Б** – АФС дарунавир этоналат (50 мкм); **В** – полимер Kollidon® VA 64 (30 мкм); **Г** – ТДС ДЭ-VA 64 SE 1-5 (10 мкм); **Д** – ТДС ДЭ-VA 64 HME 1-5 (1 мкм); **Е** – полимер Eudragit® E PO (10 мкм); **Ж** – ТДС ДЭ-Е PO SE 1-5 (10 мкм); **З** – ТДС ДЭ-Е PO HME 1-5 (100 мкм)

Figure 2. Micrographs.

A – API Darunavir amorphous (50 μm); **B** – API Darunavir ethonolate (50 μm); **C** – Polymer Kollidon® VA 64 (30 μm); **D** – ASD DE-VA 64 SE 1-5 (10 μm); **E** – ASD DE-VA 64 HME 1-5 (1 μm); **F** – Polymer Eudragit® E PO (10 μm); **G** – ASD DE-Eudragit® E PO SE 1-5 (10 μm); **H** – ASD DE – Eudragit® E PO HME 1-5 (100 μm)

ворения в биологическом интервале pH. Однако снижение размера частиц оказывало существенное влияние на все объекты исследования в сторону увеличения концентрации дарунавир во всех средах растворения, кроме образцов ТДС ДЭ-Е PO при pH 1,2, где наблюдаются максимальные концентрации дарунавир в среде растворения – за счет возможной синергии растворения АФС с кислотным рКа и полимера, растворимость которого растет при понижении pH [19].

Если принять за 100 % концентрацию кристаллической формы АФС ДЭ, перешедшую в раствор, для

полимера Kollidon® VA 64 и Eudragit® E PO, проценты увеличения при pH 1,2 составили 182 и 324 %, при pH 4,5 – 1192 и 2485 %, при pH 6,8 – 338 и 740 % соответственно.

Данные соотносятся с результатами работы [20], свидетельствующими, что профиль растворения не зависит от технологии получения ТДС, на него влияет размер частиц исходной ТДС.

Следует отметить, что все образцы ТДС, независимо от размера частиц и технологии получения, на протяжении всего срока изучения стабильности находились в рентгеноаморфном состоянии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Способы производства твердых дисперсных систем, такие как удаление растворителя и экструзия горячего расплава, при одинаковом размере частиц не оказывают влияние на концентрацию АФС дарунавира в растворе в биологическом интервале рН при проведении теста «Растворение».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lobo S. Is there enough focus on lipophilicity in drug discovery? *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2020;15(3):261–263. DOI: 10.1080/17460441.2020.1691995.
2. Hamed R., Awadallah A., Sunoqrot S., Tarawneh O., Nazal S., AlBaraghtli T., Sayyad J. A., Abbas A. pH-Dependent Solubility and Dissolution Behavior of Carvedilol—Case Example of a Weakly Basic BCS Class II Drug. *AAPS PharmSciTech*. 2016;17(2):418–426. DOI: 10.1208/s12249-015-0365-2.
3. Lust A., Laidmäe I., Palo M., Meos A., Aaltonen J., Veski P., Heinämäki J., Kogermann K. Solid-state dependent dissolution and oral bioavailability of piroxicam in rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;48(1–2):47–54. DOI: 10.1016/j.ejps.2012.10.005.
4. Xie B., Liu Y., Li X., Yang P., He W. Solubilization techniques used for poorly water-soluble drugs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2024;14(11):4683–4716. DOI: 10.1016/j.apsb.2024.08.027.
5. Vandana K.R., Prasanna Raju Y., Harini Chowdary V., Sushma M., Vijay Kumar N. An overview on in situ micronization technique – An emerging novel concept in advanced drug delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2014;22(4):283–289. DOI: 10.1016/j.jsps.2013.05.004.
6. Zhang J., Guo M., Luo M., Cai T. Advances in the development of amorphous solid dispersions: The role of polymeric carriers. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2023;18(4):100834. DOI: 10.1016/j.ajps.2023.100834.
7. Budiman A., Lailasari E., Nurani N.V., Yunita E.N., Anastasya G., Aulia R.N., Novianty Lestari I., Subra L., Aulifa D. L. Ternary Solid Dispersions: A Review of the Preparation, Characterization, Mechanism of Drug Release, and Physical Stability. *Pharmaceutics*. 2023;15(8):2116. DOI: 10.3390/pharmaceutics15082116.
8. Saha U., De R., Das B. Interactions between loaded drugs and surfactant molecules in micellar drug delivery systems: A critical review. *Journal of Molecular Liquids*. 2023;382:121906. DOI: 10.1016/j.molliq.2023.121906.
9. Uttreja P., Karnik I., Youssef A. A. A., Narala N., Elkanayati R. M., Baisa S., Alshammari N. D., Banda S., Kumar Vemula S., Repka M. A. Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS): Transition from Liquid to Solid—A Comprehensive Review of Formulation, Characterization, Applications, and Future Trends. *Pharmaceutics*. 2025;17(1):63. DOI: 10.3390/pharmaceutics17010063.
10. Elsegaie D., El-Nabarawi M. A., Mahmoud H. A., Teaima M., Louis D. A Comparative Study on Cyclodextrin Derivatives in Improving Oral Bioavailability of Etoricoxib as a Model Drug: Formulation and Evaluation of Solid Dispersion-Based Fast-Dissolving Tablets. *Biomedicines*. 2023;11(9):2440. DOI: 10.3390/biomedicines11092440.
11. Bhujbal S.V., Mitra B., Jain U., Gong Y., Agrawal A., Kariki S., Taylor L.S., Kumar S., Zhou Q. (T.) Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021;11(8):2505–2536. DOI: 10.1016/j.apsb.2021.05.014.
12. Niazi S.K. Handbook of bioequivalence testing. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press; 2014. 2 ed. 838 p.
13. Reddy B.V.R., Jyothi G., Reddy B.S., Raman N.V.V.S.S., Reddy K.S.C., Rambabu C. Stability-Indicating HPLC Method for the Determination of Darunavir Ethanolate. *Journal of Chromatographic Science*. 2012;51(5):471–476. DOI: 10.1093/chromsci/bms165.
14. Fine-Shamir N., Dahan A. Methacrylate-Copolymer Eudragit EPO as a Solubility-Enabling Excipient for Anionic Drugs: Investigation of Drug Solubility, Intestinal Permeability, and Their Interplay. *Molecular Pharmaceutics*. 2019;16(7):2884–2891. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b00057.
15. Frank D.S., Prasad P., Iuzzolino L., Schenck L. Dissolution Behavior of Weakly Basic Pharmaceuticals from Amorphous Dispersions Stabilized by a Poly(dimethylaminoethyl Methacrylate) Copolymer. *Molecular Pharmaceutics*. 2022;19(9):3304–3313. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.2c00456.
16. Habyalimana V., Kindenge Mbinze J., Yemoa A.L., Waffo C., Diallo T., Tshilombo N.K., Kadima Ntokamunda J.-L., Lebrun P., Hubert P., Djang'eing'a Marini R. Application of design space optimization strategy to the development of LC methods for simultaneous analysis of 18 antiretroviral medicines and 4 major excipients used in various pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2017;139:8–21. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.02.040.
17. Son Y.J., Kim Y., Kim W.J., Jeong S.Y., Yoo H.S. Antibacterial Nanofibrous Mats Composed of Eudragit for pH-Dependent Dissolution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;104(8):2611–2618. DOI: 10.1002/jps.24521.
18. Li Y., Zhou L., Zhang M., Li R., Di G., Liu H., Wu X. Micelles based on polyvinylpyrrolidone VA64: A potential nanoplatform for the ocular delivery of apocynin. *International Journal of Pharmaceutics*. 2022;615:121451. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.121451.
19. Inam S., Irfan M., ul ain Lali N., Syed H.K., Asghar S., Khan I. U., Khan S.-U.-D., Iqbal M. S., Zaheer I., Khames A., Abou-Taleb H. A., Abourehab M. A. S. Development and Characterization of Eudragit® EPO-Based Solid Dispersion of Rosuvastatin Calcium to Foresee the Impact on Solubility, Dissolution and Antihyperlipidemic Activity. *Pharmaceutics*. 2022;15(4):492. DOI: 10.3390/ph15040492.
20. Trenkenschuh E., Blattner S.M., Hirsh D., Hoffmann R., Luebbert C., Schaefer K. Development of Ternary Amorphous Solid Dispersions Manufactured by Hot-Melt Extrusion and Spray-Drying—Comparison of *In Vitro* and *In Vivo* Performance. *Molecular Pharmaceutics*. 2024;21(3):1309–1320. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.3c00696.



Методы испытаний адгезивных полимерных композиций в разработке и контроле качества средств ухода за стомой на примере адгезивных пластин (обзор)

И. А. Садковский^{1, 2✉}, Л. А. Король¹, А. Б. Карабанова², А. В. Короленко¹,
Е. А. Шеметова¹, И. И. Краснюк¹, Г. В. Раменская¹, М. А. Мандрик^{1, 2}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН). 119991, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, д. 29

✉ Контактное лицо: Садковский Иван Александрович. E-mail: sadkovskiy_i_a@staff.sechenov.ru

ORCID: И. А. Садковский – <https://orcid.org/0000-0001-8375-9909>;
Л. А. Король – <https://orcid.org/0000-0001-5919-1866>;
А. Б. Карабанова – <https://orcid.org/0009-0008-8154-1605>;
А. В. Короленко – <https://orcid.org/0009-0008-8045-6564>;
Е. А. Шеметова – <https://orcid.org/0009-0000-0754-0534>;
И. И. Краснюк – <https://orcid.org/0000-0003-4382-7377>;
Г. В. Раменская – <https://orcid.org/0000-0001-8779-3573>;
М. А. Мандрик – <https://orcid.org/0000-0002-3558-9615>.

Статья поступила: 10.10.2024

Статья принята в печать: 27.05.2025

Статья опубликована: 28.05.2025

Резюме

Введение. Адгезивные пластины, предназначенные для фиксации стомных мешков, а также защиты кожи перистомальной области стомированных пациентов, являются ключевым элементом калоприёмника или уроприёмника. Функциональность адгезивных пластин обеспечивается комплексом их технических характеристик и конструктивных особенностей, что делает выбор подходящих методов испытаний пластин важным аспектом в разработке, производстве и контроле качества этих медицинских изделий.

Текст. Для испытаний адгезивных пластин могут использоваться методы, как предусмотренные российскими и международными стандартами, так и не входящие в них. К предусмотренным стандартам методам испытаний относятся описание внешнего вида (размера), тестирование адгезионной прочности, исследование pH поверхности пластин, а также испытания на устойчивость к эрозии и абсорбционную способность пластин. Не включенные в стандарты на адгезивные пластины, но широко описанные в научной литературе и применяемые исследователями на практике методы включают в себя испытания некоторых адгезионных и механических характеристик, таких как липкость и прочность при сдвиге, а также испытания на растяжение или сгиб для характеристики прочностных и деформационных характеристик материала пластин. Также для адгезивных пластин могут применяться методы испытаний медицинских свойств, общие для всех медицинских изделий, контактирующих с кожей. Кроме того, показано, как адгезионные свойства пластин могут быть спрогнозированы на основе реологических свойств полимеров, входящих в состав адгезивного слоя, а также описаны факторы, важные при подборе материалов, моделирующих кожу в испытаниях *in vitro*.

Заключение. В обзоре представлена подробная характеристика методов, представляющих интерес для испытаний адгезивных пластин, в частности их общих принципов и условий проведения, а также методов, позволяющих прогнозировать адгезионные свойства пластин и определять связь между испытаниями адгезии *in vivo* и *in vitro*. Ряд описанных методов представляет интерес для включения в нормативную документацию на испытания адгезивных пластин при условии их унификации и модификации с учетом особенностей изделия.

Ключевые слова: методы испытаний, адгезивная пластина, медицинские изделия, средства для ухода за стомой, прогнозирование адгезии

© Садковский И. А., Король Л. А., Карабанова А. Б., Короленко А. В., Шеметова Е. А., Краснюк И. И., Раменская Г. В., Мандрик М. А., 2025
© Sadkovskii I. A., Korol L. A., Karabanova A. B., Korolenko A. V., Shemetova E. A., Krasnyuk I. I., Ramenskaya G. V., Mandrik M. A., 2025

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

Вклад авторов. И. А. Садковский – концепция работы, поиск и анализ литературы, написание текста обзора. Л. А. Король, А. Б. Карабанова, А. В. Короленко – поиск и анализ литературы, редактирование текста обзора. Е. А. Шеметова, И. И. Краснюк, Г. В. Раменская – консультационная помощь при написании данного обзора. М. А. Мандрик – автор идеи, концепция работы, написание текста обзора. Все авторы участвовали в критическом обсуждении результатов и утверждении окончательного текста обзора.

Для цитирования: Садковский И. А., Король Л. А., Карабанова А. Б., Короленко А. В., Шеметова Е. А., Краснюк И. И., Раменская Г. В., Мандрик М. А. Методы испытаний адгезивных полимерных композиций в разработке и контроле качества средств ухода за стомой на примере адгезивных пластин. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):156–169. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2031>

Test methods for adhesive polymer compositions in development and quality control for stoma care products on the example of adhesive baseplates (review)

Ivan A. Sadkovskii^{1,2}✉, Ludmila A. Korol¹, Anna B. Karabanova², Anastasia V. Korolenko¹, Elena A. Shemetova¹, Ivan I. Krasnyuk¹, Galina V. Ramenskaya¹, Mark A. Mandrik^{1,2}

¹ I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

² A. V. Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis, RAS (TIPS RAS). 29, Leninsky prospekt, Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Ivan A. Sadkovskii. **E-mail:** sadkovskiy_i_a@staff.sechenov.ru

ORCID: Ivan A. Sadkovskii – <https://orcid.org/0000-0001-8375-9909>;
Ludmila A. Korol – <https://orcid.org/0000-0001-5919-1866>;
Anna B. Karabanova – <https://orcid.org/0009-0008-8154-1605>;
Anastasia V. Korolenko – <https://orcid.org/0009-0008-8045-6564>;
Elena A. Shemetova – <https://orcid.org/0009-0000-0754-0534>;
Ivan I. Krasnyuk – <https://orcid.org/0000-0003-4382-7377>;
Galina V. Ramenskaya – <https://orcid.org/0000-0001-8779-3573>;
Mark A. Mandrik – <https://orcid.org/0000-0002-3558-9615>.

Received: 10.10.2024

Accepted: 27.05.2025

Published: 28.05.2025

Abstract

Introduction. Adhesive baseplates, designed to fix ostomy bags and protect the skin of the peristomal area of ostomy patients, are a key element of an ostomy bag or urine bag. The functionality of adhesive baseplates is ensured by a set of their technical characteristics and design features, which makes the choice of appropriate baseplate testing methods an important aspect in the development, production and quality control of these medical devices.

Text. For testing adhesive baseplates, methods provided by Russian and international standards, as well as those not included in them, can be used. The methods provided by the standards include description of appearance (size), testing of adhesive strength, study of surface pH, as well as tests for wet integrity and water absorbancy. Methods not included in the standards for adhesive plates, but widely described in the scientific literature and used by researchers in practice include testing of some adhesive and mechanical properties, such as tack, shear strength, as well as tensile or bending tests to characterize the strength and deformation properties of the baseplate material. In addition, for adhesive baseplates, methods for testing medical properties common to all medical devices that are exposed to skin can be used. Besides this, it is shown how the adhesive properties of baseplates can be predicted based on the rheological properties of the adhesive layer, and factors important in the selection of materials modeling skin for *in vitro* tests are described.

Conclusion. The review presents a detailed description of methods of interest for testing adhesive baseplates, in particular their general principles and conditions of implementation, as well as methods that allow predicting the adhesive properties of plates and determining the relationship between adhesion tests *in vivo* and *in vitro*. A number of the described methods are of interest to include in normative documentation for adhesive baseplates tests, subject to their unification and modification taking into account the characteristics of this medical device.

Keywords: test methods, adhesive baseplate, medical devices, ostomy aids, adhesion prediction

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. Ivan A. Sadkovskii conceptualised the study, collected and analyzed literature data and wrote the manuscript. Ludmila A. Korol, Anna B. Karabanova, Anastasia V. Korolenko collected and analyzed literature data and participated in the editing of the manuscript. Elena A. Shemetova, Ivan I. Krasnyuk, Galina V. Ramenskaya provided

consulting support. Mark A. Mandrik conceived the study idea, conceptualised the study, and participated in the writing of the manuscript. All authors participated in the critical discussion of the manuscript and approved the final version of the manuscript.

For citation: Sadkovskii I. A., Korol L. A., Karabanova A. B., Korolenko A. V., Shemetova E. A., Krasnyuk I. I., Ramenskaya G. V., Mandrik M. A. Test methods for adhesive polymer compositions in development and quality control for stoma care products on the example of adhesive baseplates. *Drug development & registration*. 2025;14(2):156–169. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2031>

ВВЕДЕНИЕ

Стомирование представляет собой распространенную хирургическую манипуляцию при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как колоректальный рак, воспалительные заболевания, непроходимость или перфорация кишечника, а также при заболеваниях мочеполовой системы [1]. Кишечная стома (илеостома или колостома) формируется за счет выведения конца или петли кишечника через переднюю брюшную стенку, что позволяет сохранять и обеспечивать выделительную функцию кишечника при его частичном удалении или необходимости временной изоляции отдельных участков (например, анастомоза) [1, 2]. Также распространенной практикой является использование фрагмента кишечника для создания уростомы, служащей для выведения мочи после радикальной цистэктомии при заболеваниях мочеполовой системы, таких как рак мочевого пузыря [3].

Стома, как правило, не имеет замыкательного аппарата, поэтому стомированные пациенты не способны контролировать процессы дефекации или мочеиспускания [4]; кроме того, едкие выделения из стомы оказывают негативное воздействие на кожу перистомальной области и могут быть причиной эрозии кожи и возникновения контактного дерматита [5]. В связи с этим основным практическим аспектом ухода за стомой становится использование калоприемников или уроприемников – специальных устройств, носимых на теле и предназначенных для сбора кишечного содержимого или мочи и устранения их агрессивного воздействия на кожу (согласно ГОСТ Р 58235-2022 «Специальные средства при нарушении функции выделения. Термины и определения. Классификация»).

Калоприемник (уроприемник) состоит из герметичного контейнера (стомного мешка) и адгезивной пластины, предназначенной для герметичного и надежного крепления мешков на коже передней брюш-

ной стенки вокруг стомы^{1,2,3} [6–8]; пластина может быть встроенной в конструкцию (однокомпонентное устройство) или же соединяться с мешком при помощи адгезивного или механического фланцевого соединения (двухкомпонентное устройство) [6, 7]. Типичные адгезивные пластины состоят из пластиковой подложки, например из полиуретана, ламинированной одним или несколькими адгезивными (клеевыми) слоями, и защитной антиадгезионной пленки, удаляемой непосредственно перед применением пластины. Гибкий клеевой слой, как правило, является смесью (расплавом) гидрофобных, чувствительных к давлению адгезивов (ЧДА) и гидрофильных полимеров, обладающих свойствами гидроколлоидов, и по сути представляет собой толстую композитную пленку. В центре пластины располагается отверстие, предназначенное для стомы, которое зачастую может моделироваться путем вырезания или путем ручного формования [6, 7].

Адгезивная пластина является медицинским изделием, играющим ключевую роль в обеспечении функций калоприемника: помимо крепления стомного мешка, она обеспечивает защиту кожи перистомальной области от выделений из стомы и сохранение физиологических функций кожи. Эффек-

¹ ГОСТ Р 58235-2022. Специальные средства при нарушении функции выделения. Термины и определения. Классификация. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200194434>. Ссылка активна на 24.07.2024.

² ГОСТ Р 58237–2022. Средства ухода за кишечными стомами: калоприемники, вспомогательные средства и средства ухода за кожей вокруг стомы. Характеристики и основные требования. Методы испытаний. Доступно по: <https://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=246873>. Ссылка активна на 24.07.2024.

³ ГОСТ Р ИСО 12505–1–2019. Адгезивные пластины калоприемников и уроприемников. Методы испытаний. Часть 1. Размер, pH поверхности и абсорбция. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200166274>. Ссылка активна на 24.07.2024.

тивность применения пластин в значительной степени связана с комплексом технических характеристик и особенностей конструкции этого изделия, что делает выбор подходящих методов испытаний этих характеристик актуальной задачей при контроле качества, а также разработке и производстве адгезивных пластин.

Нормативная документация на методы испытаний адгезивных пластин в настоящее время представлена государственным стандартом ГОСТ Р 58237-2022 «Средства ухода за кишечными стомами: калоприемники, вспомогательные средства и средства ухода за кожей вокруг стомы. Характеристики и основные требования. Методы испытаний», а также серией стандартов ГОСТ ИСО 12505 под общим наименованием «Адгезивные пластины калоприемников и урприемников. Методы испытаний» из двух частей, идентичных соответствующим международным стандартам ISO. Стандарты включают в себя описание методов испытания размера, pH поверхности, абсорбционной способности пластин, а также устойчивости к эрозии и адгезивной прочности. Однако они затрагивают лишь часть характеристик, объективно влияющих на функциональность изделий, что обуславливает актуальность обзора и других методов, применимых для характеристики адгезивных пластин.

Таким образом, целью настоящего исследования является характеристика и анализ актуальных методов испытаний адгезивных пластин, а также методов, не регламентированных нормативной документацией, но представляющих интерес для испытаний пластин и входящих в их состав материалов.

Внешний вид

Дизайн адгезивных пластин играет важную роль в обеспечении их функциональности. Различные характеристики внешнего вида, такие как форма, а также линейные и габаритные размеры (длина, ширина, диаметр и толщина), прямо влияют на комфорт использования и эффективность защиты перистомальной кожи для стом различных типов и размеров [4]. Так, например, в случае плоской стомы, втянутой стомы или сложного рельефа перистомальной области плоские адгезивные пластины обеспечивают менее эффективную защиту перистомальной области, чем специальные выпуклые (конвексные) пластины, способные оказывать давление на кожу вокруг стомы, тем самым обеспечивая ее возвышение над кожным рельефом [4, 8].

Характеристика внешнего вида адгезивных пластин предусмотрена нормативной документацией: метод подробно описан в ГОСТ Р 58237-2022 и ГОСТ Р ИСО 12505-1-2019. Сущность метода состоит в определении формы и размеров (длины, ширины или диаметра), а также толщины адгезивной пластины. На основе полученных данных при необходимости рассчитывают площадь поверхности пластины.

Кроме того, при необходимости измеряют диаметр стартового, готового или моделируемого отверстия и фланца, а также максимальный диаметр вырезаемого отверстия.

Согласно вышеуказанным стандартам, форму адгезивной пластины описывают по следующим характеристикам, приведенным в таблице 1.

Кроме того, проводят измерение размеров и толщины пластины при помощи измерительной линейки и толщиномера.

Адгезивные пластины измеряются в соответствии с их геометрической формой согласно схеме, представленной на рисунке 1.

Измерения толщины проводят в центре у стартового или подготовленного отверстия для стомы, а также на расстоянии 5 мм от внешнего края. Значение толщины пластины рассчитывают как разность между общей толщиной адгезивной пластины и толщиной защитной пленки отдельно.

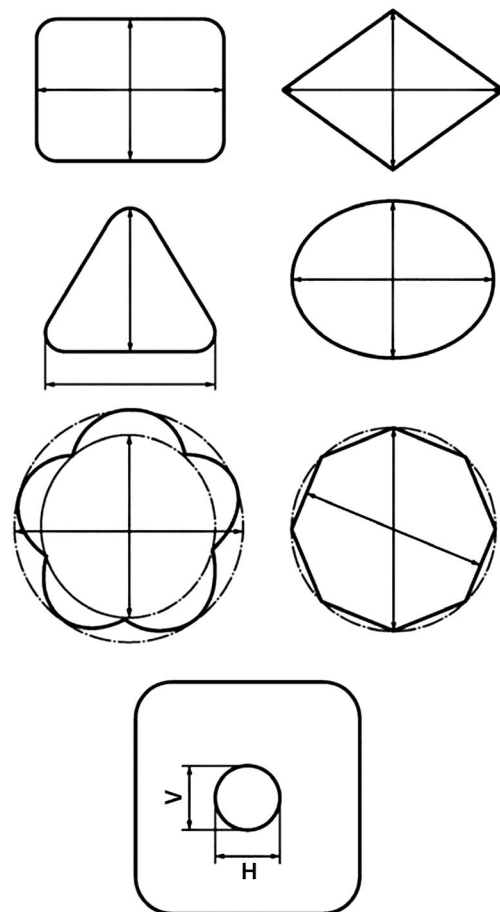


Рисунок 1. Схема измерения размеров адгезивных пластин:

V – длина по вертикали; **H** – длина по горизонтали

Figure 1. Scheme for measuring the dimensions of adhesive plates:

V – vertical length; **H** – horizontal length

Таблица 1. Описание формы адгезивной пластины согласно нормативной документации

Table 1. Description of the shape of the adhesive plate according to normative documentation

| Характеристика Characteristics | Описание Description |
|---|---|
| Форма лицевой стороны пластины Skin barrier faceplate | Квадратная, прямоугольная, ромбовидная, треугольная, круглая, овальная или иной формы Square, rectangle, diamond, triangle, circle, oval, others |
| Поперечное сечение пластины Skin barrier cross section | Плоское, конвексное или иной формы Flat, convex, other |
| Внешний край пластины Skin barrier edge | Плоский, скошенный, иной формы Flat edge, tapered edge, others |
| Окантовка Fringe of the skin barrier | С окантовкой из клейкой пленки или без окантовки из клейкой пленки No tape, tape border |

В связи с тем, что адгезивные пластины имеют разную форму поперечного сечения, стандартами установлено несколько способов измерения толщины, схематично представленных на рисунке 2.

Следует отметить, что для конвексных адгезивных пластин одной из ключевых характеристик внешнего вида, определяющих функциональность, также является крутизна выпуклости (наклон купола), которая на практике количественно определяется как угол от основания пластины до вершины купола [9], однако в настоящее время описание этого аспекта внешнего вида конвексных пластин не регламентируется стандартами.

Механические свойства

Механические свойства адгезивного гидроколлоидного слоя и полимерной подложки являются одним из основных параметров, определяющих технологические и эксплуатационные характеристики адгезивных пластин. В частности, важными условиями обеспечения функциональности изделия являются достаточная прочность, позволяющая сохранять целостность при внешних воздействиях, и одновременно с этим достаточная гибкость, обеспечивающая способность пластины адаптироваться к движениям тела, сохраняя плотный контакт с кожей перистомальной области в условиях неровности рельефа и не вызывая при этом неприятных ощущений.

В настоящее время аналитические процедуры для оценки механических свойств адгезивных пластин отсутствуют в актуальных стандартах; тем не менее

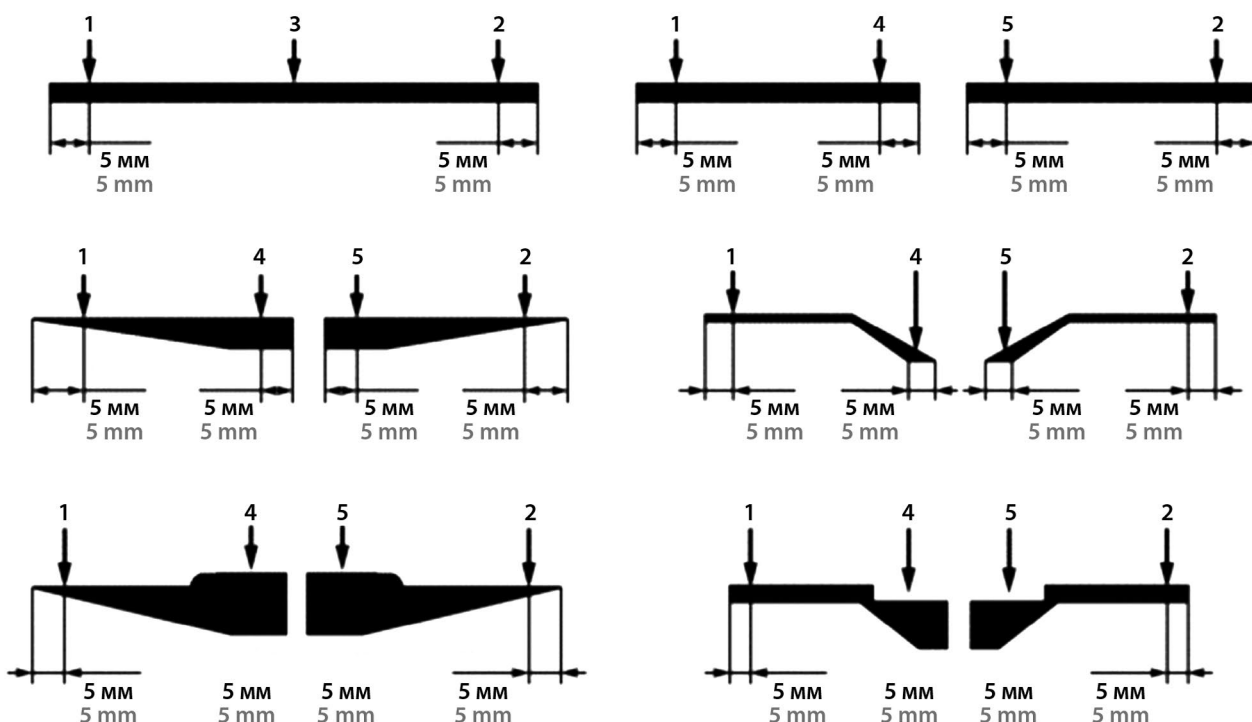


Рисунок 2. Схема измерения толщины адгезивных пластин:

1 и 2 – места измерения толщины с двух сторон по периферии; 3, 4 и 5 – места измерения толщины в центре

Figure 2. Scheme for measuring the thickness of adhesive plates:

1 and 2 – thickness measurement points on both sides along the periphery; 3, 4 and 5 – thickness measurement points in the center

существует ряд широко распространенных стандартных методов, используемых для изучения механических свойств тонких полимерных пленок, в частности гидроколлоидных раневых повязок, трансдермальных, а также оральных мукоадгезивных пленок, что делает их потенциально пригодными и для адгезивных пластин. Эти методы включают в себя испытания на *растяжение, прокол, складывание, изгиб* и некоторые другие [10].

Одним из основных способов характеристики механических свойств материалов является *испытание на растяжение*. В испытаниях на растяжение тонких полимерных пленок, в частности гидроколлоидных, распространение получили методы, основанные на стандарте ASTM D 882 [11, 12], модифицированные в отношении размера образцов. Метод заключается в растяжении зафиксированного в зажимах испытательной машины тонкого прямоугольного образца вдоль его главной продольной оси с постоянной скоростью траверсы. В процессе фиксируют усилие растяжения, выдерживаемое образцом, усилие, при котором происходит разрыв образца и удлинение образца относительно его исходных размеров [11]. Кривая зависимости деформации от напряжения, полученная в результате этого испытания, используется для расчета предела прочности при растяжении, модуля упругости, относительного удлинения и энергии разрыва, используемых в качестве показателей прочности, жесткости, пластичности и ударной вязкости пленок соответственно [13].

Прочность пленки также может быть охарактеризована в испытании на прокол. В этом случае оценивают сопротивление пленки сжимающей силе, что осуществляется путем фиксации образца горизонтально с помощью специального полого приспособления с последующим приложением силы перпендикулярно образцу. Это происходит при нажатии прокалывающего зонда на поверхность образца до тех пор, пока он не сломается, не треснет или не исчезнет сила, противодействующая движению зонда. По результатам также получают кривую зависимости напряжения от деформации, что позволяет рассчитать удлинение при проколе и энергию прокола [10].

Для характеристики гибкости могут использоваться испытания на сгибание и складывание. Сущность теста на сгибание оправки, изначально предусмотренного стандартом ASTM D522/D522M-17 для измерения гибкости органических покрытий на подложках, заключается в сгибании образца вокруг восьмимиллиметровой цилиндрической оправки с последующим рассмотрением образца под микроскопом на предмет наличия трещин, что позволяет охарактеризовать гибкость качественно [10]. Тест на складывание же заключается в многократном складывании образца на 180° в одном и том же месте до момента разрыва или надрыва. Прочность при складывании (сгибании) в этом случае выражается как количество полных сгибаний [10, 13].

Адгезионные свойства

Адгезионные свойства являются ключевыми характеристиками адгезивных пластин, критически важными для обеспечения одной из основных их функций – фиксации калоприемников или уроприемников на коже в течение продолжительного времени.

Эти свойства определяются как способностью к формированию адгезионного соединения (клеякостью), так и способностью удерживать это соединение под действием деформаций различного рода (адгезионной и когезионной прочностью).

Клейкость (липкость) – это свойство, характеризующее способность материала образовывать прочное адгезионное соединение с субстратом при приложении к адгезиву небольшого внешнего давления в течение непродолжительного времени (несколько секунд). Именно начальная липкость адгезива обеспечивает саму возможность создания адгезионного соединения между поверхностью изделия и субстратом (кожей или слизистой оболочкой) [14].

Когезионная прочность понимается как внутренняя прочность адгезива и характеризуется в первую очередь как сопротивление адгезива тангенциальным (сдвиговым) нагрузкам (например, при движении тела или трении одежды). В связи с этим величина сопротивления статическому сдвигу зачастую определяет долговечность адгезионного соединения.

Адгезионная прочность может быть косвенно охарактеризована сопротивлением при отслаивании – усилием, необходимым для разрыва адгезионного соединения при отслаивании адгезива от субстрата. Ввиду того, что удаление адгезива с поверхности кожи должно происходить легко, не оставляя следов липкого слоя, не причиняя боль и не повреждая кожу, величина сопротивления отслаиванию является наиболее важным параметром в разработке и контроле качества адгезивных пластин [14, 15].

Испытания всех вышеуказанных адгезионных характеристик пластин предусмотрены стандартом JIS T 9233:1997 «Testing methods for ostomy aids» за авторством Комитета по промышленным стандартам Японии [16]. Российский национальный стандарт ГОСТ Р 58237-2022, а также ГОСТ Р ИСО 12505-2-2019 «Адгезивные пластины калоприемников и уроприемников. Методы испытаний. Часть 2» в настоящее время включают в себя испытание адгезивных пластин только на адгезионную прочность; при этом в соответствии со стандартом для описания пластин допускается определять их прочие адгезионные свойства, такие как липкость и сопротивление статическому сдвигу [17]. Подробно методы испытаний адгезионной прочности, а также методы, подходящие для определения липкости и сопротивления статическому сдвигу, рассмотрены ниже.

Адгезионная прочность (peel test)

Как правило, для характеристики прочности адгезионного соединения используют величину усилия, необходимого для отслаивания адгезива от субстрата под углом 90° или 180°. Однако следует учитывать, что работа отслаивания включает в себя не только работу разрушения адгезионного соединения, но и работу, необходимую для растяжения и изгибания клеевого слоя и подложки, предшествующих разрушению. В связи с чем при большой толщине адгезива и жесткости подложки усилие отслаивания может существенно превышать истинную прочность адгезионного соединения [18].

В настоящее время для испытаний на сопротивление при отслаивании, как правило, используют оборудование и процедуры, описанные в промышленных стандартах для тонких самоклеящихся лент. К таковым относятся стандарты Американского общества испытаний и материалов [ASTM D3330/D3330M-04(2018), ASTM D6252/D6252M-98(2019)], Международной организации по стандартизации (ISO 29862:2018), Европейской ассоциации производителей клейкой ленты (AFERA 5001) и др.

Испытание заключается в закреплении образца адгезива на стальной испытательной пластине с приложением определенного да измерения силы отрыва образца адгезива от стальной испытательной пластины при отслаивании под заданным углом (180° или 90°) и с заданной скоростью [14, 15]. Схематично процесс изображен на рисунке 3.

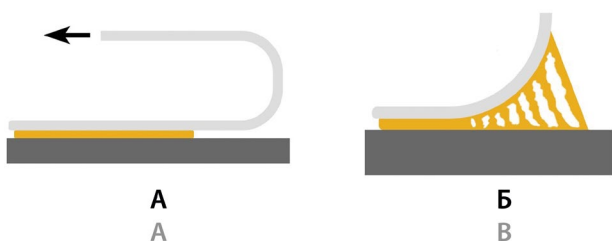


Рисунок 3. Отслаивание образцов:

А – под углом 180°; Б – под углом 90°

Figure 3. Peel adhesion test:

A – at 180°; B – at 90°

Тест на отслаивание под углом 180° от металлического субстрата предусмотрен в качестве стандартизированной процедуры испытаний адгезивных пластин стандартом JIS T 9233:1997¹, однако к настоящему моменту целесообразность его применения для этих изделий ставится под сомнение. В частности, это связано с высокими значениями силы адгезионного

¹ JIS T 9233:1997. Testing methods for ostomy aids. Available at: <https://kikakurui.com/t9/T9233-1997-01.html>. Accessed: 02.08.2024.

сцепления толстой адгезивной пластины со сталью, что на практике приводит к быстрому растяжению и разрыву образца и не позволяет получать хоть сколько-то реалистичные данные. В качестве альтернативы был предложен модифицированный метод, в котором субстрат представляет собой неклеящую гидрофобную пленку из фторуглеродного материала, которую отслаивают под углом 180° от закрепленного образца адгезивной пластины; при этом скорость отслаивания составляет не стандартные 300 мм/мин, как предусмотрено для самоклеящихся лент, а 30 мм/мин, что обеспечивает более стабильные результаты измерений [17]. Кроме того, этот способ позволяет исключить влияние жесткости подложки на величину адгезии отслаивания [16].

Данный метод испытания адгезионной прочности пластин в настоящее время предусмотрен стандартами ГОСТ Р 58237-2022 и ГОСТ Р ИСО 12505-2-2019².

Липкость

Классические методы испытания липкости сочетают в себе изучение процессов образования и разрыва адгезионного соединения. Они включают в себя: метод катящегося шара (rolling ball test), метод зонда (probe tack test) и петлевой метод (loop tack test), описанные в стандартах Американского общества испытаний и материалов. Эти методы успешно применяются для изучения липкости изделий медицинского назначения и лекарственных средств на основе ЧДА, таких как пластыри и трансдермальные патчи [15], в связи с чем также представляют интерес при разработке и контроле качества адгезивных пластин. Кроме того, метод катящегося шара и один из вариантов метода зонда, известный как метод Мицухаши, предлагаются в качестве официальных методов испытаний адгезивных пластин стандартом JIS T 9233:1997.

При использовании метода катящегося шара наблюдают движение шара из нержавеющей стали, катящегося вниз по наклонной дорожке, который останавливается за счет соприкосновения с обращенным вверх слоем адгезива в нижней части дорожки. Липкость выражается через расстояние, пройденное шаром, движущимся с заданным начальным импульсом, контролируемой высотой и углом наклона, до его полной остановки. Малая длина пробега приравнивается к высокому значению липкости, большая – к низкому [15].

Для проведения испытания может быть использовано устройство, представленное на рисунке 4.

² ГОСТ Р ИСО 12505-2-2019. Адгезивные пластины калоприемников и уроприемников. Методы испытаний. Часть 2. Устойчивость к эрозии и адгезивная прочность. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200166275>. Ссылка активна на 24.07.2024.

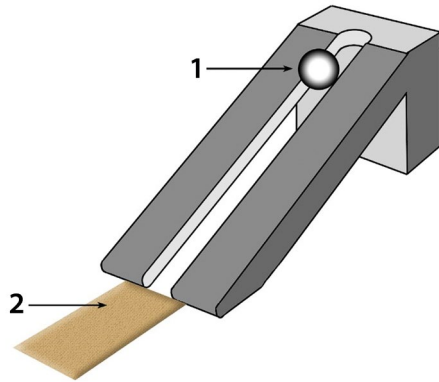


Рисунок 4. Устройство для измерения липкости методом катящегося шара:

1 – шарик из нержавеющей стали; 2 – образец

Figure 4. Rolling-ball device used to measure tack:

1 – stainless steel ball; 2 – sample

Подробные условия проведения теста приведены в стандарте ASTM D3121-17 «Standard Test Method for Tack of Pressure-Sensitive Adhesives by Rolling Ball»¹.

Метод предполагает изучение сравнительной липкости адгезивов и в первую очередь предназначен для контроля качества, поскольку демонстрирует хорошую воспроизводимость в рамках одной лаборатории и способность точно обнаруживать изменения от партии к партии, при постоянной толщине адгезивного слоя. Более всего он подходит для адгезивов с относительно невысокими значениями липкости, однако не рекомендуется данным стандартом для спецификации конечной продукции [18].

При использовании метода зондирования испытание проводится путем измерения усилия, необходимого для отрыва зонда от поверхности адгезива после приложения слабого давления. Метод позволяет количественно измерить липкость как максимальное значение силы, необходимой для разрыва адгезионного соединения после кратковременного контакта, а также рассчитать ряд других характеристик соединения, таких как максимальное номинальное напряжение (σ), максимальная номинальная деформация (ϵ_{\max}) и энергия сцепления (W_{adh}), определяемая как интеграл кривой напряжения – деформации (площадь под кривой) [15].

Для проведения испытания может быть использован анализатор текстуры, оснащенный плоским или сферическим зондом (рисунок 5).

Сущность петлевого метода заключается в определении усилия отслаивания предварительно замкнутой в петлю полоски адгезива от твердой по-

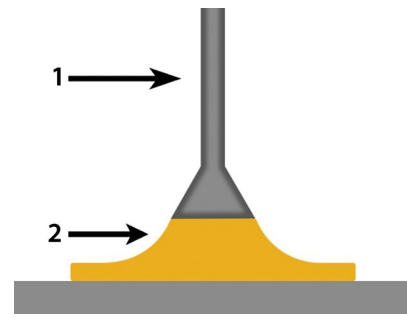


Рисунок 5. Устройство для тестирования липкости методом зонда:

1 – плоский зонд; 2 – образец

Figure 5. Probe tack device:

1 – flat probe; 2 – sample

верхности, с которой у петли сформирована сцепка при кратковременном контакте с небольшим давлением, как правило обеспечиваемым весом самого образца. Подробно методика испытания изложена в стандарте ASTM D6195-22 «Standard Test Methods for Loop Tack». Метод предназначен для тестирования клеевых масс и, согласно стандарту, подходит как для контроля качества, так и для исследования свойств адгезива² [15].

Определение сопротивления статическому сдвигу (shear resistance test)

При испытании адгезивов на сопротивление статическому сдвигу измеряют силу, необходимую для отрыва образца стандартной площади от стандартной плоской поверхности (металлической пластины) в направлении, параллельном поверхности, к которой она прикреплена. Это испытание позволяет количественно охарактеризовать усилие, необходимое для смещения образца на пластине, путем определения времени, необходимого для удаления образца стандартной площади с пластины при воздействии стандартной постоянной нагрузки. Необходимым условием использования результатов теста в качестве истинной меры внутренней прочности адгезива является когезионный характер разрушения адгезионного соединения [14].

Для проведения тестирования на сопротивление статическому сдвигу используется оборудование, схематически изображенное на рисунке 6.

Подробно условия и методика теста приводятся в стандартах ASTM D3654/D3654M-06(2019) «Standard Test Methods for Shear Adhesion of Pressure-Sensitive Tapes», ISO 29863:2018 «Self-adhesive tapes – Measurement of static shear adhesion» и ряде других.

¹ ASTM D3121-17. Standard Test Method for Tack of Pressure-Sensitive Adhesives by Rolling Ball. Available at: <https://store.astm.org/d3121-17.html>. Accessed: 02.08.2024.

² ASTM D6195-22. Standard Test Methods for Loop Tack. Available at: <https://store.astm.org/d6195-22.html>. Accessed: 02.08.2024.

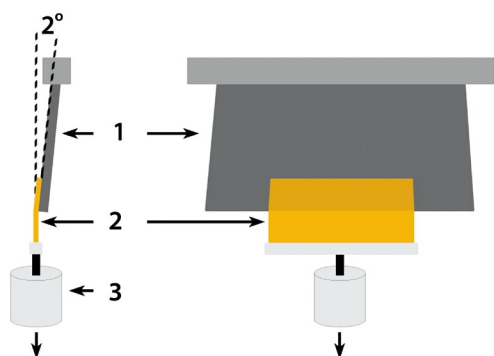


Рисунок 6. Устройство для определения величины сопротивления статическому сдвигу:

1 – испытательная пластина; 2 – образец; 3 – стандартная нагрузка

Figure 6. Shear test apparatus:

1 – test plate; 2 – sample; 3 – standard load

Определение биоадгезии и прогнозирование адгезии *in vivo*

Одной из главных задач при разработке адгезивных пластин становится оценка и прогнозирование их адгезии непосредственно к коже в процессе эксплуатации. В этом случае описанные в ряде работ [18, 19] стандартные тесты адгезионных характеристик, проведенные на коже добровольцев *in vivo*, хоть и позволяют получить наиболее релевантные количественные значения адгезии отслаивания или липкости, тем не менее не подходят для массовых лабораторных испытаний и контроля качества изделий в связи с высокой вариабельностью адгезии к коже в зависимости от пола и возраста, физиопатологического статуса организма, а также места аппликации [14]. Кроме того, в этом случае проблемой является низкая производительность измерений, а также присутствуют определенные риски, связанные с безопасностью тестирования. Альтернативой может быть использование кожи животных *ex vivo*, например кожи крыс при зондировании липкости, описанном в работе [20] для гидроколлоидных повязок. Такой подход можно считать оправданным для немногочисленных исследований адгезии на стадии разработки изделия, однако и в этом случае проблемы стандартизации кожи животных, а также производительности и этичности масштабирования данного метода испытаний остаются нерешенными.

Стандартные методы изучения адгезионных характеристик, основанные на взаимодействии адгезива с жестким металлическим субстратом, обладают рядом достоинств, таких как высокая производительность, хорошая воспроизводимость и относительная простота. Тем не менее результаты этих измерений на практике зачастую слабо коррелируют с адгезией ЧДА к коже, что связано с существенными отличиями поверхностных и механических свойств

кожи от металлических субстратов [14]. Так, чистая сухая кожа является субстратом с меньшими значениями свободной поверхностной энергии (поверхностного натяжения), чем стандартная стальная пластина, в связи с чем она хуже смачивается адгезивом при контакте, что приводит к меньшей начальной липкости [21]. В связи с этим рядом исследователей были предложены модификации стандартных методов испытаний, предполагающие замену высокоэнергетических металлических субстратов на низкоэнергетические полимерные, такие как полиэтилен и политетрафторэтилен, при использовании которых значения адгезионных характеристик были близки к таковым для трупной кожи [21, 22]. В частности, этот подход использовали для разработки уже упомянутого стандартного метода тестирования адгезионной прочности адгезивных пластин.

Критическое поверхностное натяжение кожи не является постоянной величиной; согласно литературным данным, оно возрастает по мере увеличения относительной влажности и температуры кожи [22], что затрудняет использование вышеуказанных полимеров для моделирования влияния влажности на адгезию в экспериментах *in vitro*. Для этой цели в роли субстрата могут использоваться пластины, покрытые коллагеном с различным содержанием влаги [23].

Помимо поверхностной энергии, на адгезию к коже влияют такие ее параметры, как шероховатость, а также деформируемость (сопротивление) при растяжении и изгибе [14]. Так, предложенный в работе Lir и др. [24] модельный материал на основе шитого желатина, обладающий шероховатостью реальной живой кожи и сопоставимыми механическими свойствами, продемонстрировал в тестах на отслаивание меньшую величину адгезионной прочности, чем аналогичный материал с гладкой текстурой поверхности; при этом значения, полученные для шероховатого материала, были очень близки к результатам, полученным для кожи. Кроме того, Renvoise и др. изготовлен субстрат, модуль Юнга которого близок к значениям, типичным для кожи. При скорости отслаивания от 10 мм/мин до 400 мм/мин такой материал деформируется подобно коже, а также демонстрирует аналогичный режим разрушения и близкие значения силы отслаивания [25]. Вышеописанное делает упомянутые синтетические материалы перспективной заменой стандартных стальных субстратов при изучении адгезионных характеристик лекарственных препаратов и медицинских изделий, в том числе адгезивных пластин.

Моделирование адгезии на основании реологических свойств адгезивов

Важной особенностью параметров адгезии является возможность не только измерять их, но и с высокой степенью точности прогнозировать на основании реологических характеристик полимерных адгезивов.

Как правило, входящие в состав клеевого слоя эластомеры, подвергаясь деформации, могут продемонстрировать вязкоупругость – свойства одновременно жидкостей и твердых тел. Измеренные в эксперименте значения динамических напряжений и динамической деформации вязкоупругого тела, подвергаемого воздействию синусоидальных колебаний, позволяют рассчитать их отношение – величину, называемую комплексным модулем G (при деформации сдвига).

Комплексный модуль – это величина, действительной частью которой является модуль накопления (G'), характеризующий упругую составляющую отклика системы, а мнимой – соответствующий вязкой составляющей отклика системы модуль потерь (G''). Соотношение между модулями потерь и накопления (G''/G') дает величину, известную как тангенс угла потерь ($\tan \delta$), который является мерой количества энергии деформации, что рассеивается в виде тепла во время каждого цикла напряжения [14, 27].

На настоящий момент известны эмпирические критерии, позволяющие предсказать проявление липкости материалов исходя из их реологических характеристик. Наиболее широко известен критерий Дальквиста, согласно которому липкость возникает, когда модуль накопления для полимера, определяемый при частоте 1 Гц, менее 100 кПа [23]. Применяются и более сложные критерии липкости, в частности «окна вязкоупругости» Чанга [27].

Адгезия при сдвиге, как правило, наблюдается при несколько более высоких частотах, чем мгновенная липкость, и требует более высоких значений модуля накопления. При этом величина сопротивления статическому сдвигу связана с модулем плато кривой частотной зависимости модулей: чем длиннее плато высокой эластичности, тем выше сопротивление сдвигу.

Наконец, процесс разрушения адгезионного соединения при отрыве адгезива от субстрата происходит при высоких скоростях нагружения и требует от ЧДА высокой когезионной прочности, близкой к твердому телу. Поэтому высокими значениями прочности на отслаивание будут обладать те ЧДА, у которых модуль потерь преобладает при низких частотах ($G'' > G'$), а модуль упругости – при высоких ($G'' < G'$).

Таким образом, для типичного эластомерного ЧДА липкость проявляется при низких частотах напряжений в диапазоне от 0,005 до 0,05 рад/с, сопротивление сдвигу, как более высокоскоростной процесс, – в пределах от 0,05 до 0,5 рад/с, а адгезия отслаивания, которая является типичным высокоскоростным процессом, реализуется в диапазоне от 100 до 1000 рад/с [26].

Для определения комплексного модуля и других реологических характеристик вязкоупругих гидроколлоидных адгезивов при высокочастотных деформациях эффективным является метод динамического механического анализа (ДМА). Метод может

применяться в испытаниях различных материалов в соответствии с рядом стандартов, в частности ASTM D4065-20 «Standard Practice for Plastics: Dynamic Mechanical Properties: Determination and Report of Procedures».

Сущность метода DMA заключается в исследовании вязкоупругих свойств материалов в зависимости от времени, температуры или частоты при различных осциллирующих нагрузках. Это достигается за счет синусоидальной деформации образца с последующей фиксацией напряжения: при известном напряжении образец деформируется на определенное значение, которое зависит от его жесткости. Метод, таким образом, позволяет оценить жесткость и амортизацию испытуемого образца, для выражения чего используют величины модуля упругости и угла потерь соответственно.

В разработке и исследовании адгезивных пластин, помимо прогнозирования адгезионных характеристик клеевого слоя, метод DMA позволяет решать такие задачи, как определение интервала вязкоупругости полимеров, исследование характеристик полимерных смесей и влияния модифицирующих добавок, старение материалов, влияние содержания физически или химически связанной воды на свойства материалов, изменение свойств материалов под действием факторов внешней среды [18, 29].

Абсорбция адгезивных пластин

Способность поглощать влагу с поверхности кожи перистомальной области при длительном ношении является важнейшим свойством адгезивных пластин, способствующим выполнению одной из основных функций пластин – защиты перистомальной кожи, тем самым препятствуя мацерации кожи и развитию болезнетворных микроорганизмов [30]. Кроме того, способность гидроколлоидных компонентов пластины влияет на значения адгезии к коже: при поглощении влаги адгезия увеличивается, однако чрезмерное поглощение будет приводить к утрате адгезивом липкости.

Определение водопоглощения для адгезивных пластин предусмотрено нормативной документацией (ГОСТ Р 58237–2022 и ГОСТ Р ИСО 12505–1–2019), в соответствии с которой используется для оценки сорбционной способности клейкой (контактирующей с кожей) поверхности адгезивной пластины при помощи цилиндра с физиологическим раствором в условиях проведения испытаний в течение 6 часов. В основе испытания лежит методика определения водопоглощения раневыми повязками, предусмотренная европейским стандартом EN 13726-1-2002 «Primary Wound Dressing Test Methods. Aspects of Absorbency».

Методика проведения испытания имеет следующий порядок: круглые образцы адгезивных пластин с удаленным защитным покрытием фиксируются на

испытательных цилиндрах адгезивным слоем внутрь цилиндра. После взвешивания цилиндров с пластинами и добавления внутрь физиологического раствора цилиндры термостатируют при 37 °С в течение 6 часов. Затем, полностью удалив остатки жидкости, повторно взвешивают емкость с образцом.

Количество жидкости (K_v), поглощенное пластиной, рассчитывают по разности веса образца до и после контакта с жидкостью. Абсорбционную способность выражают как отношение количества поглощенной жидкости к площади образца пластины ($\text{мг}/\text{см}^2$). Схема проведения испытания на абсорбцию приведена на рисунке 7.

Устойчивость к эрозии

Поглощение адгезивными пластинами влаги тела, а также возможность контакта с выделениями из стомы приводит к их постепенной деформации и со временем к разрушению (эрозии), что влечет за собой утрату пластиной функциональности. В связи с этим одной из важнейших характеристик адгезивных пластин, требующих испытания при моделировании их использования, является устойчивость к эрозии – способность сохранять физическую форму под воздействием влаги и выделений из стомы.

Метод испытания на устойчивость пластин к эрозии, описанный в ГОСТ Р 58237–2022 и ГОСТ Р ИСО 12505-2–2019, подразумевает воздействие на зону вокруг центрального отверстия пластины диаметром 25 мм физиологическим раствором при перемеще-

вании, с выдержкой в течение 24 ч при 37 °С, с последующим измерением внутреннего диаметра отверстия и внешнего диаметра пластины. Результаты описывают следующим образом: внутренний диаметр (отверстия) после испытания более 25 мм – внешняя эрозия, менее 25 мм – внутреннее разбухание, совпадение внешнего диаметра пластины и края обесцвевшейся области – разрушившаяся граница. Следует, однако, отметить, что данное испытание учитывает влияние на целостность пластины только влаги и не моделирует воздействие агрессивных ферментов и химически активных растворенных веществ, которые также присутствуют в выделениях из стомы, что, в свою очередь, может давать результаты, существенно отличные от условий ношения пластины.

Для проведения испытания используется прибор, состоящий из испытательного стакана, куда помещают физиологический раствор, установочного диска, к которому прикрепляется образец пластины, и крышки, которая при помощи распорной трубки соединяется с диском, а затем полученной конструкцией (крышкой в сборе) закрывает стакан. Прибор и процедура испытания представлены на рисунке 8.

Паропроницаемость

Паропроницаемость – важная характеристика адгезивных систем, предназначенных для ношения на коже в течение длительного времени, так как способность пропускать пары воды прямо влияет на адгезию клеевого слоя к коже и, следовательно,

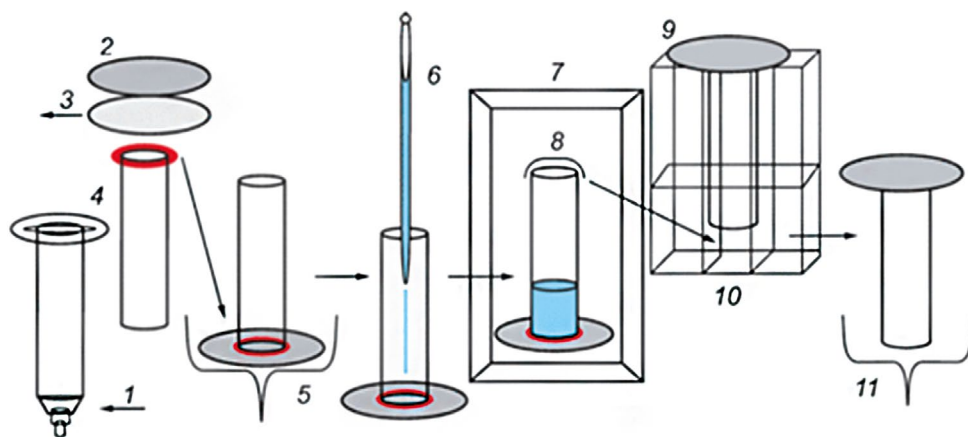


Рисунок 7. Схема проведения испытания на водопоглощение:

1 – место среза наконечника шприца; 2 – адгезивная пластина, 3 – защитное покрытие пластины; 4 – шприц или цилиндр с фиксирующим кольцом или фланцем; 5 – взвешивание цилиндра перед добавлением жидкости; 6 – добавление физиологического раствора в емкость; 7 – термостат; 8 – пленка, закрывающая цилиндр; 9 – опорожнение цилиндра; 10 – стойка для подвешивания цилиндра; 11 – взвешивание цилиндра после испытания

Figure 7. Scheme of the water absorption test:

1 – place of the syringe tip cut; 2 – adhesive plate; 3 – plate protective liner; 4 – syringe or cylinder with a fixing ring or flange; 5 – weighing of the cylinder before adding fluid; 6 – adding saline solution to the container; 7 – thermostat; 8 – film covering the cylinder; 9 – emptying the cylinder; 10 – stand for hanging the cylinder; 11 – weighing of the cylinder after the test

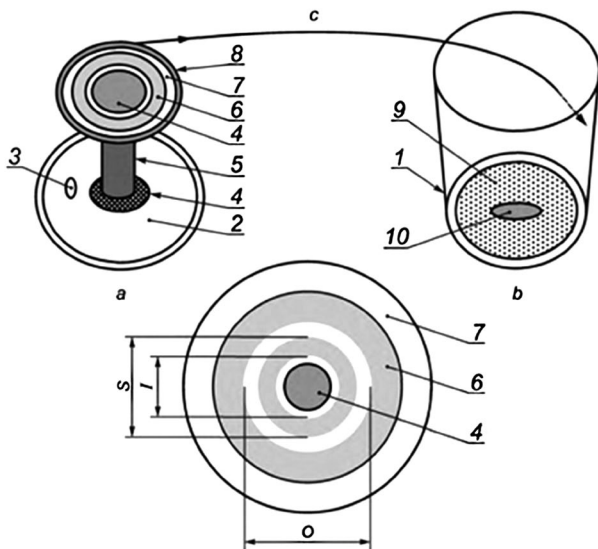


Рисунок 8. Прибор для проведения испытания на устойчивость к эрозии адгезивных пластин:

1 – испытательный стакан; 2 – крышка от стакана; 3 – вентиляционное отверстие; 4 – зажимы; 5 – фиксирующая распорная трубка; 6 – образец адгезивной пластины; 7 – водонепроницаемый пенопласт; 8 – установочная пластина (диск); 9 – изоляционный материал; 10 – магнитная мешалка; S – стартовое отверстие. I – внутренний диаметр; O – внешний диаметр; а – крышка в сборе; b – стакан; с – крышка в сборе в перевернутом положении

Figure 8. Device for testing the wet integrity of adhesive plates:

1 – test cup; 2 – cover; 3 – ventilation hole; 4 – clamps; 5 – fixing spacer tube; 6 – sample of an adhesive plate; 7 – waterproof plastic foam; 8 – mounting plate (disc); 9 – insulating material; 10 – magnetic stirrer. S – starting hole; I – internal diameter; O – outer diameter; a – cover assembly; b – cup; c – cover assembly in an inverted position

на долговечность клеевого соединения гидроколлоидных систем. Также от паропроницаемости изделия зависит, будет ли оно проявлять окклюзионные свойства по отношению к коже. Измерение паропроницаемости позволяет количественно определить количество воды, диффундирующей через пленку, на единицу площади, времени и градиента давления [31].

Существующая нормативная документация на методы испытаний адгезивных пластин не предусматривает тестирование паропроницаемости, однако проведение данного испытания как для пластины целиком, так и в отношении отдельно клеевого слоя пластины и подложки может быть полезным для понимания возможности сохранения изделием оптимального уровня влаги в перистомальной области. В связи с чем возможным представляется использование общих методов, применяемых для испытаний

широкого круга изделий и материалов, таких как гидроколлоидные раневые повязки, искусственная кожа, пластмассы и пленки и т. п.

Наиболее широко используемым методом измерения паропроницаемости является стандартный метод испытаний ASTM E96/E96M-24 «Standard Test Methods for Gravimetric Determination of Water Vapor Transmission Rate of Materials»¹, также известный как чашечный метод.

Метод основан на создании разницы в упругости паров воды по разные стороны от испытуемого образца и гравиметрическом определении количества паров воды, прошедших через единицу площади образца за единицу времени. Испытуемый образец располагают так, чтобы он герметично закрывал горлышко тестового стакана, внутри которого находится дистиллированная вода, которая создает определенное давление пара в зависимости от температуры. Герметично закрытый стакан помещают в герметичную камеру или эксикатор с силикагелем и хранят при постоянной температуре. Градиент парциального давления между обеими сторонами образца из-за разной относительной влажности создает движущую силу, которая способствует диффузии воды через образец, что приводит к уменьшению веса стакана. В условиях динамического равновесия потеря веса стакана постоянна, и по ней рассчитывается проницаемость образца при данной температуре [31].

Измерение pH поверхности

Обеспечение оптимального уровня pH поверхности адгезивных пластин играет важную роль в предотвращении перистомальных осложнений и осуществлении комфортного ношения калоприемников (уроприемников). Как чрезмерно высокие, так и чрезмерно низкие значения pH по сравнению с физиологическим pH кожи могут быть причиной болевых ощущений, раздражения кожи и развития дерматита [32]. В связи с этим испытание на pH поверхности пластины играет важную роль в разработке и контроле качества этих изделий.

В соответствии с ГОСТ Р 58237-2022 и ГОСТ Р ИСО 12505-1-2019 измерение значения pH клеевой поверхности адгезивной пластины, контактирующей с кожей, проводится в увлажненном состоянии с помощью стеклянного электродного pH-метра с плоским электродом путем прижимания электрода к поверхности пластины и фиксирования значения pH. Измерение производят после 4 часов контакта образца адгезивной пластины с физиологическим раствором при температуре 37 °C и не менее 1 часа при комнатной температуре.

¹ ASTM E96/E96M-24. Standard Test Methods for Gravimetric Determination of Water Vapor Transmission Rate of Materials. Available at: https://store.astm.org/e0096_e0096m-24.html. Accessed: 02.08.2024.

Медицинские свойства

Раздражающий и сенсibiliзирующий потенциал

Испытания раздражающего и сенсibiliзирующего потенциала адгезивных пластин могут быть проведены согласно ГОСТ ISO 10993-10-2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 10. Исследования раздражающего и сенсibiliзирующего действия». Испытания проводят *in vivo* (на животных и, в определенных обстоятельствах, на добровольцах).

Микробная чистота

Согласно ГОСТ Р 53498-2019 определение микробной чистоты проводят по ГОСТ ISO 11737-1 «Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 1. Оценка популяции микроорганизмов на продукции» для нестерильных медицинских изделий пластырного типа, кроме фиксирующих лейкопластырей, не контактирующих непосредственно с поврежденной поверхностью кожного покрова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе были проведены обзор и анализ методов испытаний свойств адгезивных пластин, предусмотренных нормативной документацией, таких как внешний вид, pH поверхности, абсорбционная способность пластин, устойчивость к эрозии и адгезионная прочность. Кроме того, описаны методы, не вошедшие в российские стандарты, но тем не менее представляющие интерес при разработке и исследовании технических и эксплуатационных характеристик адгезивных пластин, а также при контроле их качества, в том числе с точки зрения включения этих методов в соответствующие стандарты при условии унификации и адаптации под особенности адгезивных пластин.

Так, помимо регламентированного стандартом испытания на адгезионную прочность, для исследования адгезии пластин может применяться ряд методов, таких как испытание сопротивления статическому сдвигу (*shear test*) и методы определения мгновенной липкости, включая петлевой метод, метод катящегося шара и метод зонда. Кроме того, описаны возможности модификации стандартных методов изучения адгезии для повышения корреляции между результатами испытания и реальной адгезией к коже. Также показана возможность применения динамического механического анализа для прогнозирования адгезионных характеристик пластин на основании реологических свойств клевого слоя. Кроме того, описаны и охарактеризованы возможные методы изучения механических характеристик компонентов адгезивных пластин, методы определения паропроницаемости, а также ключевых медицинских характеристик изделий.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tsujinaka S., Tan K.-Y., Miyakura Y., Fukano R., Oshima M., Konishi F., Rikiyama T. Current management of intestinal stomas and their complications. *Journal of the Anus, Rectum and Colon*. 2020;4(1):25–33. DOI: 10.23922/jarc.2019-032.
2. Martin S.T., Vogel J.D. Intestinal stomas. Indications, management, and complications. *Advances in Surgery*. 2012;46(1):19–49. DOI: 10.1016/j.yasu.2012.04.005.
3. Berti-Hearn L., Elliott B. Urostomy care. A guide for home care clinicians. *Home Healthcare Now*. 2019;37(5):248–255. DOI: 10.1097/NHN.0000000000000792.
4. Naumenko L.L., Zhirnova L.V. Recommendations for the rational selection of stoma care products in the IPRA of disabled people with impaired excretory functions. *Mediko-socialnye problemy invalidnosti*. 2019;1:22–29. (In Russ.)
5. Hedegaard C.J., Ajslev T.A., Zeeberg R., Hansen A.S. Leakage and peristomal skin complications influences user comfort and confidence and are associated with reduced quality of life in people with a stoma. *World Council of Enterostomal Therapists Journal*. 2020;40(4):23–29. DOI: 10.33235/wcet.40.4.23-29.
6. Cramer K., Fattman G., Nguyen-DeMary T. Ostomy appliance with moldable adhesive. United States patent US 8708987B2. 2014 Apr. 29. Available at: <https://patents.google.com/patent/US8708987B2/en>. Accessed 02.08.2024.
7. Andersen B.V., Hansen M. To control bending in a skin plate for use in an ostomy appliance. United States patent US 8684983B2. 2014 Apr. 1. Available at: <https://patents.google.com/patent/US8684983B2/en>. Accessed 02.08.2024.
8. Chaumier D., Gadrat C. Relevance of a new flexible convex stoma appliance. *World Council of Enterostomal Therapists Journal*. 2017;37(3):26–31.
9. McNichol L., Cobb T., Depaifve Y., Quigley M., Smitka K., Gray M. Characteristics of convex skin barriers and clinical application. Results of an international consensus panel. *Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing*. 2021;48(6):524–532. DOI: 10.1097/won.0000000000000831.
10. Alaei S., Omidian H. Mucoadhesion and mechanical assessment of oral films. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;159:105727. DOI: 10.1016/j.ejps.2021.105727.
11. Schroeder I.Z., Franke P., Schaefer U.F., Lehr C.-M. Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2007;65(1):111–121. DOI: 10.1016/j.ejpb.2006.07.015.
12. Garcia M.A., Pinotti A., Martino M.N., Zaritzky N.E. Characterization of composite hydrocolloid films. *Carbohydrate polymers*. 2004;56(3):339–345. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.03.003.
13. Takeuchi Y., Ikeda N., Tahara K., Takeuchi H. Mechanical characteristics of orally disintegrating films: Comparison of folding endurance and tensile properties. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020;589:119876. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119876.
14. Cilurzo F., Gennari C.G.M., Minghetti P. Adhesive properties: a critical issue in transdermal patch development. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2012;9(1):33–45. DOI: 10.1517/17425247.2012.637107.
15. Minghetti P., Cilurzo F., Casiraghi A. Measuring adhesive performance in transdermal delivery systems. *American Journal of Drug Delivery*. 2004;2:193–206. DOI: 10.2165/00137696-200402030-00004.

16. Omura Y., Kenji O., Hocevar B.J. Development of methods for skin barrier peeling tests. *Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing*. 2006;33(5):510–517. DOI: 10.1097/00152192-200609000-00009.
17. Raynaud J.-P., Augès M., Liorzou L., Turlier V., Lauze C. Adhesiveness of a new testosterone-in-adhesive matrix patch after extreme conditions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;375(1–2):28–32. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2009.03.025.
18. Queen D., Martin G. P., Marriott C., Fairbrother I.E. Assessment of the potential of a new hydrocolloid dermatological patch (Actiderm) in the treatment of steroid-responsive dermatoses. *International Journal of Pharmaceutics*. 1988;44(1–3):25–30. DOI: 10.1016/0378-5173(88)90096-8.
19. Jin S. G., Yousaf A. M., Jang S. W., Son M.-W., Kim K. S., Kim D.-W., Li D. X., Kim J. O., Yong C. S., Choi H.-G. In vivo wound-healing effects of novel benzalkonium chloride-loaded hydrocolloid wound dressing. *Drug Development Research*. 2015;76(3):157–165. DOI: 10.1002/ddr.21253.
20. Minghetti P., Cilurzo F., Montanari L. Evaluation of adhesive properties of patches based on acrylic matrices. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1999;25(1):1–6. DOI: 10.1081/ddc-100102135.
21. Maillard-Salin D.G., Bécourt P., Couarraze G. A study of the adhesive–skin interface: correlation between adhesion and passage of a drug. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000;1:121–126. DOI: 10.1016/s0378-5173(00)00369-0.
22. Ginn M. E., Noyes C. M., Jungermann E. The contact angle of water on viable human skin. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1968;26(2):146–151. DOI: 10.1016/0021-9797(68)90306-8.
23. Satas D., editor. Handbook of Pressure Sensitive Adhesive Technology. Third edition. Warwick: Satas & Associates; 1999. 1017 p.
24. Lir I., Haber M., Dodiuk-Kenig H. Skin surface model material as a substrate for adhesion-to-skin testing. *Journal of Adhesion Science and Technology*. 2007;21(15):1497–1512. DOI: 10.1163/156856107782844783.
25. Renvoise J., Burlot D., Marin G., Derail C. Adherence performances of pressure sensitive adhesives on a model viscoelastic synthetic film: a tool for the understanding of adhesion on the human skin. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;368(1–2):83–88. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.09.056.
26. Ho K. Y., Dodou K. Rheological studies on pressure-sensitive silicone adhesives and drug-in-adhesive layers as a means to characterise adhesive performance. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007;333(1–2):24–33. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.09.043.
27. Chang E. P. Viscoelastic windows of pressure-sensitive adhesives. *The Journal of Adhesion*. 1991;34(1–4):189–200. DOI: 10.1080/00218469108026513.
28. Shaw M. T., MacKnight W. J. Introduction to polymer viscoelasticity. 3rd edition. Hoboken: John Wiley & Sons; 2005. 316 p. DOI: 10.1002/0471741833.
29. Menard K. P., Menard N. R. Dynamic mechanical analysis. Third edition. 3rd edition. Boca Raton: CRC Press; 2020. 280 p. DOI: 10.1201/9780429190308.
30. Le Ber F. Using a novel breathable silicone adhesive (Sil2 technology) in stoma appliances to improve peristomal skin health: answering the key questions. *British Journal of Nursing*. 2021;30(8):19. DOI: 10.12968/bjon.2021.30.sup8.19.
31. Cazón P., Morales-Sanchez E., Velazquez G., Vázquez M. Measurement of the water vapor permeability of chitosan films: A laboratory experiment on food packaging materials. *Journal of Chemical Education*. 2022;99(6):2403–2408. DOI: 10.1021/acs.jchemed.2c00449.
32. Steinhagen E., Colwell J., Cannon L. M. Intestinal stomas—postoperative stoma care and peristomal skin complications. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*. 2017;30(03):184–192. DOI: 10.1055/s-0037-1598159.



Разработка метода сравнительного анализа на основе потребительских свойств полимерных композиций на примере адгезивных пластин

М. А. Мандрик^{1,2}, С. А. Албагачиев¹✉, Л. А. Король^{1,2}, Е. А. Шеметова¹,
И. И. Краснюк¹, Г. В. Раменская¹, И. А. Садковский^{1,2}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ордена Трудового Красного Знамени Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева Российской академии наук (ИНХС РАН). 119991, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, д. 29

✉ **Контактное лицо:** Албагачиев Сабр Алиханович. **E-mail:** sabr.albaga4iev06@yandex.ru

ORCID: М. А. Мандрик – <https://orcid.org/0000-0002-3558-9615>;
С. А. Албагачиев – <https://orcid.org/0009-0003-5489-7001>;
Л. А. Король – <https://orcid.org/0000-0001-5919-1866>;
Е. А. Шеметова – <https://orcid.org/0009-0000-0754-0534>;
И. И. Краснюк – <https://orcid.org/0000-0003-4382-7377>;
Г. В. Раменская – <https://orcid.org/0000-0001-8779-3573>;
И. А. Садковский – <https://orcid.org/0000-0001-8375-9909>.

Статья поступила: 01.02.2025

Статья принята в печать: 27.05.2025

Статья опубликована: 28.05.2025

Резюме

Введение. Состав полимерных композиций, являющихся основой большинства лекарственных форм, предназначенных для аппликации на кожу, в том числе трансдермальных пластырей, помимо биофармацевтических свойств лекарственного препарата, определяет также потребительские свойства лекарственной формы. Потребительские свойства, в свою очередь, имеют важное значение для пациента, в том числе обуславливая его приверженность не только к терапии, но и конкретному производителю. Адгезивные пластины калоприемников (уроприемников), служащие для крепления стомных мешков и защиты кожи перистомальной области, характеризуются совокупностью потребительских свойств, определяющих их качество, являются хорошей моделью для изучения влияния потребительских свойств на предпочтения пациента.

Цель. Разработка методики сравнительного анализа полимерных композиций адгезивных пластин на основе их потребительских свойств.

Материалы и методы. Для достижения цели исследования применялся комплекс методов, включающий в себя библиографический, аналитический, сравнительный, опросный и структурно-функциональный анализы. Для определения весовых коэффициентов различных потребительских характеристик адгезивных пластин был проведен опрос экспертов.

Результаты и обсуждение. Определены основные потребительские свойства адгезивных пластин, к которым отнесены: отсутствие остатков адгезива на коже после удаления, легкость удаления, время ношения, гибкость, простота использования, устойчивость к влаге и выделениям, комфорт использования, прилипание, прочность сцепления с кожей, предотвращение подтеканий и отсутствие перистомальных осложнений. На основании экспертной оценки определены весовые коэффициенты для каждого потребительского свойства, предложена методика сравнительной оценки адгезивных пластин калоприемников (уроприемников), которая может быть использована для сравнительного анализа адгезивных пластин различных производителей.

Заключение. Разработанная методика сравнительной оценки адгезивных пластин может быть использована в качестве основы при разработке подобной методики оценки апплицируемых на кожу лекарственных форм на основе их потребительских свойств.

Ключевые слова: полимерные композиции, адгезивные пластины, сравнительный анализ, потребительские свойства

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

Вклад авторов. М. А. Мандрик – автор идеи, концепция работы, интерпретация результатов, написание текста статьи. С. А. Албагачиев – поиск и анализ литературы, интерпретация результатов, написание текста статьи. Л. А. Король, Е. А. Шеметова, И. И. Краснюк, Г. В. Раменская – дизайн исследования, консультирование, редактирование окончательной версии статьи. И. А. Садковский – концепция работы, поиск и анализ литературы, интерпретация результатов, написание текста статьи. Все авторы участвовали в критическом обсуждении результатов и утверждении окончательного текста статьи.

Для цитирования: Мандрик М. А., Албагачиев С. А., Король Л. А., Шеметова Е. А., Краснюк И. И., Раменская Г. В., Садковский И. А. Разработка метода сравнительного анализа на основе потребительских свойств полимерных композиций на примере адгезивных пластин. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(2):170–183. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2029>

Development of a method of comparative analysis based on consumer properties of polymer compositions illustrated by adhesive plates

Mark A. Mandrik^{1,2}, Sabr A. Albagachiev¹✉, Ludmila A. Korol¹, Elena A. Shemetova¹, Ivan I. Krasnyuk¹, Galina V. Ramenskaya¹, Ivan A. Sadkovskii^{1,2}

¹ I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

² A. V. Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis, RAS (TIPS RAS). 29, Leninsky prospekt, Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Sabr A. Albagachiev. **E-mail:** sabr.albaga4iev06@yandex.ru

ORCID: Mark A. Mandrik – <https://orcid.org/0000-0002-3558-9615>;
Sabr A. Albagachiev – <https://orcid.org/0009-0003-5489-7001>;
Ludmila A. Korol – <https://orcid.org/0000-0001-5919-1866>;
Elena A. Shemetova – <https://orcid.org/0009-0000-0754-0534>;
Ivan I. Krasnyuk – <https://orcid.org/0000-0003-4382-7377>;
Galina V. Ramenskaya – <https://orcid.org/0000-0001-8779-3573>;
Ivan A. Sadkovskii – <https://orcid.org/0000-0001-8375-9909>.

Received: 01.02.2025

Accepted: 27.05.2025

Published: 28.05.2025

Abstract

Introduction. Polymer compositions, which are the basis of most dosage forms intended for application to the skin, including transdermal patches, determine both the biopharmaceutical properties of the drug and the consumer properties of the dosage form. Consumer properties are important for the patient. They determine the patient's commitment not only to therapy, but also to a specific manufacturer. Adhesive plates of colostomy bags are used for fixing ostomy bags and protecting the skin of the peristomal area. They are characterized by a set of consumer properties that determine their quality and may be a good model for studying the influence of consumer properties on patient preferences.

Aim. Development of comparative analysis method of adhesive plates polymer compositions based on consumer properties.

Materials and methods. To achieve the research goal, a set of methods was used, including bibliographic, analytical, comparative, survey and structural-functional analysis. To determine the weighting coefficients of various consumer characteristics of adhesive plates, a survey of experts was conducted.

Results and discussion. The main consumer properties of adhesive plates of ostomy pouches have been determined, which include: no adhesive residue on the skin after removal, ease of removal, wearing time, flexibility, ease of use, resistance to moisture and secretions, comfort of use, adhesion, strength of adhesion to the skin, prevention of leakage and no peristomal complications. Based on expert evaluation, weighting coefficients for each consumer property were determined, and a methodology for comparative evaluation of adhesive plates of ostomy pouches was proposed. The methodology can be used for comparative analysis of adhesive plates from different manufacturers.

Conclusion. A methodology for the comparative evaluation of ostomy pouches was successfully developed. It can be used as a basis for developing a similar methodology for evaluating skin-applied dosage forms based on their consumer properties.

Keywords: polymer composition, adhesive plates; comparative analysis; consumer properties

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. Mark A. Mandrik – author of the idea, concept of the work, interpretation of the results, writing the text of the article. Sabr A. Albagachiev – literature search and analysis, interpretation of results, writing the text of the article. Ludmila A. Korol, Elena A. Shemetova, Ivan I. Krasnyuk, Galina V. Ramenskaya – study design, consulting, editing of the final version

of the article. Ivan A. Sadkovskii – concept of the work, literature search and analysis, interpretation of the results, writing the text of the article. All authors participated in the critical discussion of the results and approval of the final text of the article.

For citation: Mandrik M. A., Albagachiev S. A., Korol L. A., Shemetova E. A., Krasniuk I. I., Ramenskaya G. V., Sadkovsky I. A. Development of a method of comparative analysis based on consumer properties of polymer compositions illustrated by adhesive plates. *Drug development & registration*. 2025;14(2):170–183. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2029>

ВВЕДЕНИЕ

Состав полимерных композиций – носителей активных фармацевтических субстанций, как правило, включает в себя широкий перечень вспомогательных веществ, в том числе низкомолекулярных, и определяет не только биофармацевтические свойства лекарственного препарата, но и его физико-механические свойства.

Так, в случае пластырей, в том числе трансдермальных, полимерная матрица и функциональные наполнители определяют такие характеристики, как механическая прочность, эластичность, адгезия к коже, устойчивость к влаге и др. Эти характеристики не являются фармакопейными, однако проявляются при использовании данной лекарственной формы и в совокупности определяют ее качество, а значит, могут рассматриваться как потребительские свойства. Удобство нанесения, отсутствие следов после удаления и приятные тактильные ощущения, также являющиеся потребительскими свойствами трансдермальных пластырей, повышают доверие пациента к выбранному лекарственному препарату и обеспечивают высокий уровень приверженности пациента лечению.

Таким образом, совокупность потребительских свойств напрямую связана с удовлетворенностью пациентов и определяет состав и технологию производства полимерных композиций, предназначенных для аппликации на кожу. Кроме того, может служить основанием для сравнения лекарственных форм различных производителей.

Адгезивные пластины, предназначенные для герметичного и надежного крепления стомных мешков на коже передней брюшной стенки, а также для защиты кожи перистомальной области от выделений из стомы и сохранения физиологических функций кожи, являются ключевым элементом в обеспечении надлежащей работы калоприемника (уроприемника)¹ [1, 2].

¹ ГОСТ Р ИСО 12505-1-2019. Адгезивные пластины калоприемников и уроприемников. Размер, pH поверхности и абсорбция. Методы испытаний. Часть 1. Размер, pH поверхности и абсорбция. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200166274>. Ссылка активна на 06.11.2024.

При этом адгезивные пластины с позиции товара имеют ряд определяющих качество свойств, проявляющихся при использовании потребителем², что объединяет их с лекарственными препаратами, предназначенными для нанесения на кожу, так как именно правильно подобранные адгезивные пластины, обеспечивающие комфортное и надлежащее использование калоприемников (уроприемников), имеют решающее значение для здоровья, благополучия и общего качества жизни стомированных пациентов.

Это делает адгезивные пластины хорошей моделью для разработки методики сравнительного анализа форм, предназначенных для аппликации на кожу, на основе их потребительских свойств.

Целью данной работы является разработка методики сравнительного анализа полимерных композиций адгезивных пластин на основе их потребительских свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели был использован комплекс методов исследования: библиографический, аналитический, сравнительный, опросный и структурно-функциональный анализы.

Для определения основных потребительских свойств адгезионных пластин осуществлялся информационный поиск в базах данных РИНЦ, PubMed, Scopus, Google Scholar.

Поиск проводился по следующим ключевым словам и словосочетаниям: «адгезивные пластины для стомы/колостомы/уростомы/илеостомы»; «адгезивные пластины к калоприемнику/уроприемнику»; «сравнительный анализ медицинских изделий»; «потребительские свойства медицинских изделий/калоприемников/уроприемников», а также их аналогам на английском языке.

Для определения весовых коэффициентов потребительских свойств адгезивных пластин, отражающих значимость каждого показателя (свойства) для

² ГОСТ Р 51303-2013. Торговля. Термины и определения. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200108793>. Ссылка активна на 06.11.2024.

потребителя, был проведен опрос экспертов в форме интервью [3]. Интервью проводилось в соответствии с методом «Делфи», в результате которого было опрошено 11 специалистов в области разработки, производства и применения в клинической практике калоприемников (уроприемников) [4, 5]. Значимость показателя оценивалась по 10-бальной шкале (таблица 1).

Таблица 1. Критерии оценки значимости потребительских свойств

Table 1. Criteria for assessing the significance of consumer properties

| Оценка Appraisal | Значимость показателя (потребительского свойства) Significance of the indicator (consumer property) |
|---------------------|---|
| 10 | Значимость показателя оказывает решающее влияние на предпочтение потребителя Significance of the indicator has a decisive influence on consumer preference |
| 9 | Значимость показателя оказывает основное влияние на предпочтение потребителя Significance of the indicator has a major impact on consumer preference |
| 8 | Значимость показателя оказывает значительное влияние на предпочтение потребителя Significance of the indicator has a significant impact on consumer preference |
| 7 | Значимость показателя оказывает большое влияние на предпочтение потребителя Significance of the indicator has a great impact on consumer preference |
| 6 | Значимость показателя оказывает влияние на предпочтение потребителя выше среднего Significance of the indicator has an above-average impact on consumer preference |
| 5 | Значимость показателя оказывает среднее влияние на предпочтение потребителя Significance of the indicator has an average effect on consumer preference |
| 4 | Значимость показателя оказывает влияние на предпочтение потребителя ниже среднего Significance of the indicator has an impact on consumer preference below average |
| 3 | Значимость показателя оказывает незначительное влияние на предпочтение потребителя Significance of the indicator has a negligible effect on consumer preference |
| 2 | Значимость показателя практически не влияет на предпочтение потребителя Significance of the indicator has little or no effect on consumer preference |
| 1 | Значимость показателя не влияет на предпочтение потребителя Significance of the indicator does not affect consumer preference |

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные потребительские свойства адгезивных пластин

Гибкость

Под гибкостью, являющейся одной из важнейших потребительских характеристик адгезивных пластин, имеющей большое значение для пациентов [6], подразумевается способность пластины изгибаться и растягиваться под действием внешних сил, не разрушаясь. Так, при достаточной гибкости пластины пациент может заниматься повседневными делами, не испытывая дискомфорта, так как в этом случае пластина адаптируется к движениям тела, сохраняя плотный контакт с кожей перистомальной области в условиях неровности рельефа и не вызывая при этом неприятных ощущений. В свою очередь, именно обеспечение плотного прилегания к коже является одним из ключевых условий как длительного времени ношения, так и предотвращения подтекания выделений из стомы под пластину [7].

Гибкость адгезивной пластины зависит прежде всего от структурно-механических свойств входящих в ее состав материалов, а также от количественных соотношений между этими материалами, благодаря чему может регулироваться в относительно широких пределах на стадии разработки состава пластины. Толщина пластины – это еще один фактор, влияющий на гибкость: чем меньше толщина, тем выше гибкость, как правило, в связи с чем толщина пластин обычно уменьшается от центра к краям.

Основные параметры, которыми можно охарактеризовать гибкость пластины, включают в себя такие структурно-механические характеристики, как упругость [8, 9] и пластичность¹ [10].

Прилипание

Способность адгезивных пластин к прилипанию, то есть к формированию и поддержанию соединения при контакте с кожей в течение всего периода применения, или, иначе, адгезия к коже, является одним из ключевых потребительских требований, предъявляемых к адгезивным пластинам [11]. Помимо своей основной функции – удержания стомного мешка, этот фактор напрямую связан со временем ношения калоприемника и защитой перистомальной области от протеканий. Прилипание реализуется за счет межмолекулярного взаимодействия на межфазной границе между гидроколлоидным слоем пластины, обладающим достаточной собственной липкостью (или дополнительным клеевым слоем в случае отсутствия липкости у гидроколлоидной основы), с одной стороны,

¹ ГОСТ 18299-72. Материалы лакокрасочные. Метод определения предела прочности при растяжении, относительного удлинения при разрыве и модуля упругости. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200019439>. Ссылка активна на 06.11.2024.

и субстратом (кожей) – с другой [12]. При этом образование адгезионного соединения, а также прочность уже сформированного соединения обеспечиваются комплексом факторов, среди которых механические, химические, адсорбционные, электрические и диффузионные свойства адгезива и субстрата, а также факторы среды [13].

Адгезионные свойства пластин, содержащих чувствительные к давлению адгезивы, могут быть охарактеризованы как способностью к формированию адгезионного соединения (мгновенная липкость), так и способностью удерживать это соединение под действием деформирующих воздействий различного рода (адгезионная и когезионная прочность). Однако, если рассматривать влияние адгезионных характеристик пластин именно на способность прилипать к коже, то основным измеряемым показателем для характеристики изделия по этому параметру будет являться именно мгновенная липкость, характеризующая способность материала образовывать прочное адгезионное соединение с субстратом при приложении к адгезиву небольшого внешнего давления в течение непродолжительного времени (несколько секунд). Именно мгновенная липкость адгезива обеспечивает саму возможность контакта между поверхностью изделия и кожей или слизистой оболочкой [12].

Изучение мгновенной липкости проводится как для оценки принципиальной способности адгезивной пластины формировать адгезионное соединение, так и для оценки изменения адгезионных характеристик в процессе хранения и эксплуатации (например, при контакте с парами воды). Кроме того, контроль липкости особенно важен для обеспечения нетравматичности изделия, так как при слишком высоком значении этого параметра применение изделия может быть сопряжено с повреждениями кожи.

При этом мгновенная липкость может быть охарактеризована не только путем измерения силы, необходимой для разрыва соединения и расчета ряда других характеристик адгезионного сцепления, но и с помощью прогнозирования на основании реологических свойств адгезива, входящего в состав пластины.

Прочность сцепления с кожей

В отличие от способности к прилипанию, прочное сцепление пластины с кожей подразумевает не только способность формировать адгезионное соединение с кожей, но и удерживать его в процессе эксплуатации. Как и в случае с прилипанием, ключевую роль в обеспечении этого играют адгезионные свойства пластин. При этом для характеристики того, насколько прочным является сцепление адгезива с кожей в условиях ношения пластины, ключевыми являются такие адгезионные характеристики, как адгезионная прочность при отслаивании и когезионная прочность адгезива (сопротивление статическо-

му сдвигу), характеризующие способность удерживать это соединение под действием деформирующих сил.

Помимо адгезионных параметров, напрямую влияющих на прочность сцепления пластины с кожей, для характеристики этого свойства могут быть использованы косвенные факторы, связанные с воздействием условий среды, в которых находится пластина. В качестве такового можно рассматривать устойчивость к эрозии, как фактор, влияющий на способность контактирующего с кожей адгезивного слоя оставаться непрерывным и не уменьшать площадь контакта; кроме того, внимания заслуживают факторы, связанные с воздействием влаги на адгезионные характеристики пластины. В качестве таковых могут рассматриваться величина водопоглощения пластиной и паропроницаемость.

Отсутствие подтеканий

Подтекания, или, иначе, утечки выделений из стомы за пределы адгезивной пластины или под нее, являются серьезной проблемой для стомированных пациентов. Утечки из стомы оказывают негативное воздействие на повседневную жизнь пациентов. Показано, что большинство пациентов со стомой испытывают постоянную тревогу и опасения в связи с тем, что утечка может произойти, а произошедшее подтекание вызовет негативные эмоции у окружающих. Кроме психологического дискомфорта, подтекания могут стать причиной развития перистомальных кожных осложнений, таких как контактный дерматит [14].

При этом не соответствующие стоме характеристики внешнего вида и структуры пластины, геометрия предназначенного для стомы отверстия в пластине могут повлиять на герметичность резервуарной системы, а плохое прилегание к коже может привести к утечке выделений и раздражению [15].

Для понимания, насколько успешно пластина способна противостоять протеканиям, следует оценить частоту утечек, масштаб протекания и влияние утечек на качество жизни. Методом оценки этих параметров может быть ретроспективный анализ, основанный на данных опроса пользователей и медицинских работников, как это было сделано в исследовании *Ostomy Life Study 2019* [16]. Для оценки влияния утечек на качество жизни могут быть использованы специально разработанные опросники, например *Ostomy Leak Impact (OLI)* [17] или *Ostomy-Q* [18], разработанный для оценки влияния приспособлений для стомы на качество жизни.

Комфорт использования

Комфорт, как и простоту применения чего-либо, достаточно трудно охарактеризовать какими-либо объективными параметрами, так как оба эти понятия очень сильно зависят от субъективного восприятия людей. Говоря именно о комфорте использования

адгезивных пластин, можно лишь предположить, что за ощущение комфорта могут отвечать те параметры пластин, благодаря которым пластина как минимум не вызывает у пациентов негативных физических ощущений и эмоций или же помогает с ними справиться, позволяя жить полноценной жизнью. Однако для определения точных параметров пластин, обеспечивающих это, может потребоваться полноценное социологическое исследование среди пациентов, для которого могут быть использованы уже существующие инструменты оценки качества жизни, например такие, как анкета Stoma-QOL [19].

Устойчивость к влаге и выделениям (устойчивость к эрозии)

Устойчивостью к эрозии называется способность адгезивной пластины сохранять физическую форму под воздействием влаги¹.

Устойчивость к влаге и выделениям из стомы напрямую влияет на способность пластины не подвергаться эрозии, не терять адгезии к коже и благодаря этому обеспечивать защиту перистомальной области от агрессивного воздействия выделений.

Устойчивость к влаге и выделениям может быть охарактеризована такими параметрами, как устойчивость к эрозии и величина водопоглощения (абсорбции) [20].

Время ношения

Время (длительность) ношения адгезивной пластины является одним из основных потребительских свойств, используемых для сравнительной оценки различных стомных систем [21, 22]. Длительное время ношения считается более предпочтительным, так как, по имеющимся в настоящее время данным, частая смена адгезива, прилегающего к перистомальной коже, отшелушивает также клетки эпидермиса, из-за чего частая смена пластины может быть ассоциирована с перистомальными кожными осложнениями, такими как эритема, волдыри и кровотечения [23].

Время ношения пластины до возникновения необходимости ее замены сильно зависит от большинства остальных потребительских свойств: прочного адгезионного контакта с кожей, устойчивости к влаге и выделениям (за счет высокой абсорбционной емкости и стойкости материалов пластины к агрессивному кишечному отделяемому, замедляющих эрозию пластины), а также паропроницаемости. Немаловажную роль играет и социально-экономический аспект: так, по данным Канадского общества кишечных исследований, в Северной Америке из-за высо-

¹ ГОСТ Р ИСО 12505-2-2019. Адгезивные пластины калоприемников и уроприемников. Методы испытаний. Часть 2. Устойчивость к эрозии и адгезивная прочность. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200166275>. Ссылка активна на 06.11.2024.

кого финансового бремени и низкой степени социальной поддержки пациенты зачастую самовольно превышают срок ношения приспособлений для стомы, в связи с чем там широкое распространение получили пластины с повышенной стойкостью к эрозии и улучшенными показателями адгезии, благодаря чему их хватает на неделю и больше. В то время как в Европе, где более развита социальная поддержка со стороны государства, пациенты могут позволить себе менять пластины гораздо чаще, в среднем раз в 2–3 дня, а сами пластины зачастую не рассчитаны на долговременное ношение².

Время ношения может быть охарактеризовано временем, требуемым для полного отклеивания адгезива при свободном ношении пациентом в рамках клинического исследования [24].

Также для оценки этого показателя можно применять метод анкетирования, применяя опросники, подобные использованному в работе Ричбурга и коллег [25].

Простота использования

Простота использования является важным требованием для средств по уходу за стомой, которое довольно многие пациенты отмечают как важное для себя свойство [26]. Под простотой использования подразумевается, что адгезивная пластина и стомный мешок должны быть сконструированы таким образом, чтобы у пациентов не возникало существенных затруднений при замене пластины или мешка, а сам процесс не занимал много времени. Особенно важно это для определенных групп пациентов, могущих испытывать проблемы с самообслуживанием. Простота использования также повышает вероятность более быстрого обучения пациентов самостоятельному использованию средств по уходу за стомой.

Легкость удаления пластины

Легкость удаления пластины напрямую связана с отсутствием травматичности и возможностью быстрой замены изделия, в то время как несоответствие этому требованию может приводить к возникновению психологического дискомфорта, болевых ощущений и даже повреждению кожи перистомальной области [27].

Для легкого и безболезненного удаления пластины может потребоваться использование дополнительных аксессуаров, например специальных средств для удаления адгезивов [23]. Однако главным фактором, обеспечивающим легкость отслаивания, является оптимальное значение величины уже упомянутой адгезионной прочности: достаточно высокое, чтобы сохранять контакт пластины с кожей, в том числе в

² Appliance wear times. Available at: <https://badgut.org/information-centre/ostomies/appliance-wear-times/> Accessed: 06.11.2024.

условиях воздействия внешних сил, не вызывая боль или существенные повреждения кожи. Считается, что оптимальные значения силы отслаивания пластины от субстрата (человеческой кожи) находятся в интервале 0,8–1,2 Н [28].

Отсутствие остатков адгезива на коже после удаления пластины

Отсутствие остатков адгезива на коже после удаления адгезивной пластины выступает в качестве одного из критериев выбора устройств для стомы пациентами. Наличие у адгезивной пластины этого свойства служит важным фактором, позволяющим избежать загрязнения одежды и белья остатками адгезива, а также, что гораздо более важно, возникновение дополнительных неровностей на поверхности кожи и тем самым предотвратить ухудшение сцепления сменной пластины с кожей¹.

Свойство характеризуется показателями адгезии, а именно когезионной прочностью адгезива пластины (низкая когезионная прочность приводит к разрушению сплошного слоя адгезива и его неполному удалению с поверхности кожи).

Отсутствие перистомальных кожных осложнений

Помимо возникающего, как правило, из-за утечек контактного дерматита, существуют и другие перистомальные осложнения, обусловленные уже непосредственно негативным влиянием пластины на кожу. К ним относят механические повреждения, вызванные чрезмерно сильной адгезией пластины к коже или слишком частым отслаиванием адгезива, а в случае малой когезионной прочности адгезива они могут быть обусловлены трением при очистке кожи от остатков адгезива. В случае высокой чувствительности кожи к любому из входящих в состав пластины компонентов может развиваться иммунологическое осложнение – аллергическая реакция. Возможно и химическое повреждение кожи, например, в случае слишком большой разницы между pH поверхности пластины и pH кожи.

И наконец, перистомальные кожные осложнения могут возникнуть в виде инфекционного процесса, как правило грибковой инфекции, для которой среда под пластиной является крайне благоприятной из-за тепла человеческого тела и повышенной влажности, особенно если пластина не обеспечивает должного уровня абсорбции или плохо пропускает водяной пар [15].

Таким образом, рассматривая параметры, характеризующие способность пластины предотвращать

¹ It is difficult to make the adhesive stick to the skin when applying. Available at: <https://www.coloplast.co.uk/global/ostomy/ostomy-self-assessment-tools/troubleshooter/application-and-removal/poor-adhesion-when-applying/> Accessed: 06.11.2024.

перистомальные осложнения, необходимо обратить внимание на те из них, которые могут быть причиной описанных выше явлений. Это все адгезионные характеристики пластины: устойчивость к эрозии, величина водопоглощения, паропроницаемость, раздражающий и сенсibiliзирующий потенциал пластины, микробная чистота и pH поверхности (таблицы 2 и 3).

Экспертная оценка значимости потребительских свойств

Результаты опроса 11 экспертов в форме интервью представлены в таблице 4. Значимость показателя оценивалась баллами от 1 до 10.

Статистическая обработка данных оценок экспертов

Рассчитанные статистические значения, такие как среднее арифметическое (\bar{x}), стандартное отклонение выборки (S), дисперсия (S^2), стандартная ошибка среднего ($S\bar{x}$), погрешность среднего арифметического или полуширина доверительного интервала ($\Delta\bar{x}$), размах данных (Δx), относительное стандартное отклонение (RSD), а также значения весовых коэффициентов представлены в таблице 5.

Таблица 2. Основные потребительские свойства адгезивных пластин

Table 2. The main consumer properties of adhesive baseplates

| Основные потребительские свойства адгезивных пластин Main consumer properties of adhesive baseplates | Основные параметры, характеризующие потребительские свойства адгезивных пластин Main parameters characterizing consumer properties of adhesive baseplates |
|---|--|
| Гибкость Flexibility | Упругость Elasticity |
| | Пластичность Plasticity |
| Прилипание Adhesion | Мгновенная липкость Tack |
| Прочность сцепления с кожей Skin adhesion strength | Адгезионная прочность Adhesion strength |
| | Когезионная прочность Cohesive strength |
| | Устойчивость к эрозии Resistance to erosion |
| | Водопоглощение Water absorption value (absorption) |
| | Паропроницаемость Vapor permeability |

| Основные потребительские свойства адгезивных пластин Main consumer properties of adhesive baseplates | Основные параметры, характеризующие потребительские свойства адгезивных пластин Main parameters characterizing consumer properties of adhesive baseplates | Основные потребительские свойства адгезивных пластин Main consumer properties of adhesive baseplates | Основные параметры, характеризующие потребительские свойства адгезивных пластин Main parameters characterizing consumer properties of adhesive baseplates |
|---|--|---|--|
| Отсутствие подтеканий No leakage | Частота утечек Leakage frequency | Отсутствие перистомальных осложнений No peristomal complications | Мгновенная липкость Tack |
| | Масштаб утечек Scale of leakage | | Адгезионная прочность Adhesion strength |
| | Влияние утечек на качество жизни Impact of leakage on quality of life | | Когезионная прочность Cohesive strength |
| Комфорт использования Comfort of use | – | | Устойчивость к эрозии Resistance to erosion |
| Устойчивость к влаге и выделениям Resistant to moisture and excreta | Устойчивость к эрозии Resistance to erosion | | Водопоглощение Water absorption |
| | Водопоглощение Water absorption value (absorption) | | Паропроницаемость Vapor permeability |
| Время ношения Wearing time | Время ношения без потери функциональности Wear time without loss of functionality. | | Раздражающий потенциал пластины Irritation potential of the baseplate |
| Простота использования Ease of use | – | | Сенсибилизирующий потенциал пластины Sensitizing potential of the baseplate |
| Легкость удаления Easy removal | Адгезионная прочность Adhesion strength | | Микробная чистота Microbiological purity |
| Отсутствие остатков адгезива на коже после удаления No adhesive residue on the skin after removal | Когезионная прочность Cohesive strength | | pH поверхности pH of the surface |

Таблица 3. Некоторые параметры потребительских свойств и методы их испытаний

Table 3. Some parameters of consumer properties and methods of their testing

| Параметр Parametr | Методы испытаний Test methods | Стандарты Standards |
|--|--|---|
| Упругость Elasticity | Испытание на растяжение Tensile testing | ASTM D882-18 ¹ |
| Пластичность Plasticity | | |
| Мгновенная липкость Tack | Метод зонда Tensile testing | ASTM D2979-01 ² |
| | Метод катящегося шара Rolling Ball test | ASTM D3121-17 ³ |
| | Петлевой метод Loop Tack test | ASTM D6195-22 ⁴ |
| Адгезионная прочность Adhesion strength | Испытания на отслаивание под углом 180° или 90° Peel testing at 180° or 90° | ГОСТ Р ИСО 12505-2–2019 (идентичен ИСО 12505-2:2016) ⁵ GOST R ISO 12505-2–2019 (identical to ISO 12505-2:2016) ⁵ |
| | | ASTM D3330/D3330M-04 (2018) ⁶ |
| | | ASTM D6252/D6252M-98 (2019) ⁷ |
| | | ISO 29862:2018 8[36] |

| Параметр Parametr | Методы испытаний Test methods | Стандарты Standards |
|--|--|--|
| Когезионная прочность Cohesive strength | Испытание сопротивления статическому сдвигу Shear resistance test | ASTM D3654/D3654M-06(2019) ⁹ |
| | | ISO 29863:2018 ¹⁰ |
| Устойчивость к эрозии Wet integrity | Испытание на устойчивость к эрозии адгезивных пластин Wet integrity testing | ГОСТ Р ИСО 12505-2-2019 (идентичен ИСО 12505-2:2016) ⁵ GOST R ISO 12505-2-2019 (identical to ISO 12505-2:2016) ⁵ |
| Водопоглощение Water-absorbency | Испытание на абсорбцию адгезивных пластин Water-absorbency test | ГОСТ Р ИСО 12505-1-2019 (идентичен ИСО 12505-1:2014) ¹¹ GOST R ISO 12505-1-2019 (identical to ISO 12505-1:2014) ¹¹ |
| Паропроницаемость Vapor permeability | Чашечный метод Cup method | ASTM E96/E96M-24 ¹² |
| Раздражающий потенциал пластины Irritation potential of the baseplate | Испытания <i>in vivo</i> <i>In vivo tests</i> | ГОСТ ИСО 10993-10-2011 (идентичен ИСО 10993-10:2002F) ¹³ GOST ISO 10993-10-2011 (identical to ISO 10993-10:2002) ¹³ |
| Сенсибилизирующий потенциал пластины Sensitizing potential of the baseplate | | |
| Микробная чистота Microbiological purity | Оценка бионагрузки <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> bioburden assessment | ГОСТ ИСО 11737-1-2012 (идентичен ИСО 11737-1:1995) ¹⁴ GOST ISO 11737-1-2012 (identical to ISO 11737-1:1995) ¹⁴ |
| pH поверхности pH of the surface | Потенциометрическое определение pH Potentiometric pH determination | ГОСТ Р ИСО 12505-1-2019 (идентичен ИСО 12505-1:2014) ¹¹ GOST R ISO 12505-1-2019 (identical to ISO 12505-1:2014) ¹¹ |

Примечание. ¹ ASTM D882-18. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Available at: <https://store.astm.org/d0882-18.html>. Accessed: 06.11.2024.

² ASTM D2979-01. Standard Test Method for Pressure-32. Sensitive Tack of Adhesives Using an Inverted Probe Machine. Available at: <https://store.astm.org/d2979-01.html>. Accessed: 06.11.2024.

³ ASTM D3121-17. Standard Test Method for Tack of Pressure-Sensitive Adhesives by Rolling Ball. Available at: <https://store.astm.org/d3121-17.html>. Accessed: 06.11.2024.

⁴ ASTM D6195-22. Standard Test Methods for Loop Tack. Available at: <https://store.astm.org/d6195-22.html>. Accessed: 06.11.2024.

⁵ ГОСТ Р ИСО 12505-2-2019. Адгезивные пластины калоприемников и урприемников. Методы испытаний. Часть 2. Устойчивость к эрозии и адгезивная прочность. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200166275>. Ссылка активна на 06.11.2024.

⁶ ASTM D3330/D3330M-04. Standard Test Method for Peel Adhesion of Pressure-Sensitive Tape. Available at: https://store.astm.org/d3330_d3330m-04.html. Accessed: 06.11.2024.

⁷ ASTM D6252/D6252M-98(2019). Standard Test Method for Peel Adhesion of Pressure-Sensitive Label Stocks at a 90° Angle. Available at: https://store.astm.org/d6252_d6252m-98r19.html. Accessed: 06.11.2024.

⁸ ISO 29862:2018. Self-adhesive tapes – Determination of peel adhesion properties. 2018. Available at: <https://www.iso.org/standard/70311.html>. Accessed: 06.11.2024.

⁹ ASTM D3654/D3654M-06(2019). Standard Test Methods for Shear Adhesion of Pressure-Sensitive Tapes. Available at: https://store.astm.org/d3654_d3654m-06r19.html. Accessed: 06.11.2024.

¹⁰ ISO 29863:2018. Self adhesive tapes – Measurement of static shear adhesion. 2018. Available at: <https://www.iso.org/standard/70312.html>. Accessed: 06.11.2024.

¹¹ ГОСТ Р ИСО 12505-1-2019. Адгезивные пластины калоприемников и урприемников. Размер, pH поверхности и абсорбция. Методы испытаний. Часть 1. Размер, pH поверхности и абсорбция. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200166274>. Ссылка активна на 06.11.2024.

¹² ASTM E96/E96M-24. Standard Test Methods for Gravimetric Determination of Water Vapor Transmission Rate of Materials. Available at: https://store.astm.org/e0096_e0096m-24.html. Accessed: 06.11.2024.

¹³ ГОСТ ИСО 10993-10-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 10. Исследования раздражающего и сенсибилизирующего действия. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200097629>. Ссылка активна на 06.11.2024.

¹⁴ ГОСТ ИСО 11737-1-2012. Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 1. Оценка популяции микроорганизмов на продукции. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200097807>. Ссылка активна на 06.11.2024.

Note. ¹ ASTM D882-18. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Available at: <https://store.astm.org/d0882-18.html>. Accessed: 06.11.2024.

² ASTM D2979-01. Standard Test Method for Pressure-32. Sensitive Tack of Adhesives Using an Inverted Probe Machine. Available at: <https://store.astm.org/d2979-01.html>. Accessed: 06.11.2024.

³ ASTM D3121-17. Standard Test Method for Tack of Pressure-Sensitive Adhesives by Rolling Ball. Available at: <https://store.astm.org/d3121-17.html>. Accessed: 06.11.2024.

⁴ ASTM D6195-22. Standard Test Methods for Loop Tack. Available at: <https://store.astm.org/d6195-22.html>. Accessed: 06.11.2024.

⁵ GOST R ISO 12505-2-2019. Adhesive plates of ostomy and urostomy bags. Test methods. Part 2. Erosion resistance and adhesive strength. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200166275>. The link is active on 06.11.2024.

⁶ ASTM D3330/D3330M-04. Standard Test Method for Peel Adhesion of Pressure-Sensitive Tape. Available at: https://store.astm.org/d3330_d3330m-04.html. Accessed: 06.11.2024.

⁷ ASTM D6252/D6252M-98(2019). Standard Test Method for Peel Adhesion of Pressure-Sensitive Label Stocks at a 90° Angle. Available at: https://store.astm.org/d6252_d6252m-98r19.html. Accessed: 06.11.2024.

⁸ ISO 29862:2018. Self-adhesive tapes – Determination of peel adhesion properties. 2018. Available at: <https://www.iso.org/standard/70311.html>. Accessed: 06.11.2024.

⁹ ASTM D3654/D3654M-06(2019). Standard Test Methods for Shear Adhesion of Pressure-Sensitive Tapes. Available at: https://store.astm.org/d3654_d3654m-06r19.html. Accessed: 06.11.2024.

¹⁰ ISO 29863:2018. Self adhesive tapes – Measurement of static shear adhesion. 2018. Available at: <https://www.iso.org/standard/70312.html>. Accessed: 06.11.2024.

¹¹ GOST R ISO 12505-1-2019. Adhesive plates of ostomy and urostomy bags. Size, surface pH and absorption. Test methods. Part 1. Size, surface pH and absorption. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200166274>. The link is active on 06.11.2024.

¹² ASTM E96/E96M-24. Standard Test Methods for Gravimetric Determination of Water Vapor Transmission Rate of Materials. Available at: https://store.astm.org/e0096_e0096m-24.html. Accessed: 06.11.2024.

¹³ GOST ISO 10993-10–2011. Medical devices. Evaluation of the biological effects of medical devices. Part 10. Irritation and sensitization studies. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200097629>. The link is active on 06.11.2024.

¹⁴ GOST ISO 11737-1-2012. Sterilization of medical devices. Microbiological methods. Part 1. Evaluation of the microbial population on products. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200097807>. The link is active on 06.11.2024.

Таблица 4. Результаты оценки значимости потребительских свойств адгезивных пластин

Table 4. Results of interviewing experts on the importance of consumer properties of adhesive plates

| Свойство Property | Оценка Score | Эксперты Experts | | | | | | | | | | |
|--|-----------------|---------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Гибкость Flexibility | | 8 | 6 | 7 | 7 | 6 | 6 | 8 | 8 | 8 | 7 | 7 |
| Прилипание Adhesion | | 9 | 9 | 10 | 8 | 9 | 9 | 10 | 9 | 8 | 9 | 8 |
| Прочность сцепления с кожей Skin adhesion strength | | 9 | 10 | 9 | 9 | 9 | 8 | 10 | 10 | 9 | 10 | 9 |
| Отсутствие подтеканий No leakage | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Комфорт использования Comfort of use | | 8 | 9 | 9 | 9 | 8 | 8 | 9 | 8 | 9 | 8 | 8 |
| Устойчивость к влаге и выделениям Resistant to moisture and excreta | | 9 | 7 | 8 | 8 | 9 | 8 | 9 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Время ношения Wearing time | | 7 | 7 | 8 | 7 | 6 | 7 | 8 | 6 | 8 | 7 | 6 |
| Простота использования Ease of use | | 7 | 8 | 8 | 6 | 8 | 7 | 6 | 8 | 7 | 7 | 6 |
| Легкость удаления Ease of removal | | 8 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6 | 8 | 5 | 7 | 6 | 6 |
| Отсутствие остатков адгезива на коже после удаления No adhesive residue on the skin after removal | | 5 | 4 | 5 | 6 | 3 | 7 | 4 | 5 | 3 | 5 | 5 |
| Отсутствие перистомальных осложнений No peristomal complications | | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |

Таблица 5. Результаты статистической обработки данных

Table 5. Results of statistical data processing

| Потребительское свойство Consumer property | Метрологические характеристики Metrological characteristics | Весовой коэффициент Weight coefficient |
|--|---|---|
| Гибкость Flexibility | $\bar{x} = 7,09;$ $S = 0,83;$ $S^2 = 0,69;$ $S\bar{x} = 0,25;$ $\Delta\bar{x} = 0,56;$ $\Delta x = 2,00;$ $RSD = 0,12$ | 0,081 |
| Прилипание Adhesion | $\bar{x} = 8,91;$ $S = 0,70;$ $S^2 = 0,49;$ $S\bar{x} = 0,21;$ $\Delta\bar{x} = 0,47;$ $\Delta x = 2,00;$ $RSD = 0,08$ | 0,102 |
| Прочность сцепления с кожей Skin adhesion strength | $\bar{x} = 9,27;$ $S = 0,65;$ $S^2 = 0,42;$ $S\bar{x} = 0,20;$ $\Delta\bar{x} = 0,43;$ $\Delta x = 2,00;$ $RSD = 0,07$ | 0,106 |
| Отсутствие подтеканий No leakage | $\bar{x} = 10,00;$ $S = 0,00;$ $S^2 = 0,00;$ $S\bar{x} = 0,00;$ $\Delta\bar{x} = 0,00;$ $\Delta x = 0,00;$ $RSD = 0,00$ | 0,114 |
| Комфорт использования Comfort of use | $\bar{x} = 8,45;$ $S = 0,52;$ $S^2 = 0,27;$ $S\bar{x} = 0,16;$ $\Delta\bar{x} = 0,35;$ $\Delta x = 1,00;$ $RSD = 0,06$ | 0,097 |
| Устойчивость к влаге и выделениям Resistant to moisture and excreta | $\bar{x} = 8,18;$ $S = 0,60;$ $S^2 = 0,36;$ $S\bar{x} = 0,18;$ $\Delta\bar{x} = 0,41;$ $\Delta x = 2,00;$ $RSD = 0,07$ | 0,094 |
| Время ношения Wearing time | $\bar{x} = 7,00;$ $S = 0,77;$ $S^2 = 0,60;$ $S\bar{x} = 0,23;$ $\Delta\bar{x} = 0,52;$ $\Delta x = 2,00;$ $RSD = 0,11$ | 0,08 |
| Простота использования Ease of use | $\bar{x} = 7,09;$ $S = 0,83;$ $S^2 = 0,69;$ $S\bar{x} = 0,25;$ $\Delta\bar{x} = 0,56;$ $\Delta x = 2,00;$ $RSD = 0,12$ | 0,081 |

| Потребительское свойство Consumer property | Метрологические характеристики Metrological characteristics | Весовой коэффициент Weight coefficient |
|--|---|---|
| Легкость удаления Ease of removal | $\bar{x} = 6,55;$ $S = 0,93;$ $S^2 = 0,87;$ $S\bar{x} = 0,28;$ $\Delta\bar{x} = 0,63;$ $\Delta x = 3,00;$ $RSD = 0,14$ | 0,075 |
| Отсутствие остатков адгезива на коже после удаления No adhesive residue on the skin after removal | $\bar{x} = 4,73;$ $S = 1,19;$ $S^2 = 1,42;$ $S\bar{x} = 0,36;$ $\Delta\bar{x} = 0,80;$ $\Delta x = 4,00;$ $RSD = 0,25$ | 0,054 |
| Отсутствие перистомальных осложнений No peristomal complications | $\bar{x} = 10,00;$ $S = 0,00;$ $S^2 = 0,00;$ $S\bar{x} = 0,00;$ $\Delta\bar{x} = 0,00;$ $\Delta x = 0,00;$ $RSD = 0,00$ | 0,114 |

Степень согласованности мнений экспертов определяется коэффициентом вариации ответов: $V \leq 0,10$ – согласованность высокая; $V = 0,11-0,15$ – согласованность выше средней; $V = 0,16-0,25$ – согласованность средняя; $V = 0,26-0,35$ – согласованность ниже средней; $V > 0,35$ – согласованность ниже допустимой нормы. Разброс коэффициентов вариации при определении весовых коэффициентов потребительских свойств адгезивных пластин составил менее 0,25, что является статистически приемлемым. Также необходимо отметить, что согласованность мнений экспертов увеличивается в отношении потребительских свойств с наибольшим весовым коэффициентом, что дополнительно подтверждает принципиальную важность для пациента таких параметров, как «Отсутствие подтеканий» и «Отсутствие перистомальных осложнений».

На основании полученных данных была построена лепестковая диаграмма (рисунок 1), демонстрирующая влияние каждого потребительского свойства на выбор клиента.

На основании полученных в ходе экспертной оценки весовых коэффициентов для каждого из определенных потребительских свойств адгезивных пластин может быть проведен сравнительный анализ адгезивных пластин разных производителей, для чего необходимо проведение опроса пациентов и/или сестринского персонала с опытом использования данных адгезивных пластин. При этом каждое потребительское свойство адгезивных пластин может быть оценено респондентами по шкале от 1 до 5, где 1 – «полностью не удовлетворен(а)», а 5 – «полностью удовлетворен(а)».



Рисунок 1. Лепестковая диаграмма потребительских свойств

Figure 1. Radar chart of consumer properties

При этом, например, в случае сравнения двух адгезивных пластин таблица обсчета данных может быть представлена следующим образом (таблица 6).

На основании взвешенных оценок для адгезионных пластин разных производителей может быть построена лепестковая диаграмма сравнения.

Также на основе полученных ответов в ходе анкетирования может быть проведена корреляция между параметрами, характеризующими потребительские свойства адгезивных пластин, которые могут быть получены в результате экспериментального исследования, и предпочтениями потребителей.

Таблица 6. Пример таблицы сравнения адгезивных пластин

Table 6. An example of an adhesive plate comparison table

| Потребительские свойства адгезивных пластин Consumer properties of adhesive baseplates | Средняя оценка в баллах i_{cp} Average score in points i_{av} | | Весовые коэффициенты Weighted coefficients (WC) | Взвешенная оценка Weighted score | |
|---|---|--|--|--|--|
| | Продукт № 1 ($i_{cp,1}$) Product No. 1 ($i_{av,1}$) | Продукт № 2 ($i_{cp,2}$) Product No. 2 ($i_{av,2}$) | | Продукт № 1 $i_{cp,1}/WC$ Product No. 1 $i_{av,1}/WC$ | Продукт № 2 $i_{cp,2}/WC$ Product No. 2 $i_{av,2}/WC$ |
| Гибкость Flexibility | $i_{cp,1} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, где a – ответ респондента от 1 до 5; n – количество респондентов; $i_{av,1} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, where a – respondent's answer from 1 to 5; n – number of respondents | $i_{cp,2} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, где a – ответ респондента от 1 до 5; n – количество респондентов $i_{av,2} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, where a – respondent's answer from 1 to 5; n – number of respondents | 0,081 | $i_{cp,1}/0,081$ $i_{av,1}/0,081$ | $i_{cp,2}/0,081$ $i_{av,2}/0,081$ |
| Прилипание Adhesion | — | — | 0,102 | — | — |

| Потребительские свойства адгезивных пластин Consumer properties of adhesive baseplates | Средняя оценка в баллах i_{cp} Average score in points i_{av} | | Весовые коэффициенты Weighted coefficients (WC) | Взвешенная оценка Weighted score | |
|--|---|--|--|--|--|
| | Продукт № 1 ($i_{cp,1}$) Product No. 1 ($i_{av,1}$) | Продукт № 2 ($i_{cp,2}$) Product No. 2 ($i_{av,2}$) | | Продукт № 1 $i_{cp,1}/WC$ Product No. 1 $i_{av,1}/WC$ | Продукт № 2 $i_{cp,2}/WC$ Product No. 2 $i_{av,2}/WC$ |
| Гибкость Flexibility | $i_{cp,1} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, где a – ответ респондента от 1 до 5; n – количество респондентов; $i_{av,1} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, where a – respondent's answer from 1 to 5; n – number of respondents | $i_{cp,2} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, где a – ответ респондента от 1 до 5; n – количество респондентов $i_{av,2} = (a_1 + a_2 + a_3 + a_n)/n$, where a – respondent's answer from 1 to 5; n – number of respondents | 0,081 | $i_{cp,1}/0,081$ $i_{av,1}/0,081$ | $i_{cp,2}/0,081$ $i_{av,2}/0,081$ |
| Прочность сцепления с кожей Skin adhesion strength | —" | —" | 0,106 | —" | —" |
| Отсутствие подтеканий No leakage | —" | —" | 0,115 | —" | —" |
| Комфорт использования Comfort of use | —" | —" | 0,097 | —" | —" |
| Устойчивость к влаге и выделениям Resistant to moisture and excreta | —" | —" | 0,094 | —" | —" |
| Время ношения Wearing time | —" | —" | 0,080 | —" | —" |
| Простота использования Ease of use | —" | —" | 0,081 | —" | —" |
| Легкость удаления Ease of removal | —" | —" | 0,075 | —" | —" |
| Отсутствие остатков адгезива на коже после удаления No adhesive residue on the skin after removal | —" | —" | 0,054 | —" | —" |
| Отсутствие перистомальных осложнений No peristomal complications | —" | —" | 0,115 | —" | —" |

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования определены основные потребительские свойства полимерных композиций адгезивных пластин, к которым отнесены: отсутствие остатков адгезива на коже после удаления, легкость удаления, время ношения, гибкость, простота использования, устойчивость к влаге и выделениям, комфорт использования, прилипание, прочность сцепления с кожей, предотвращение подтеканий и отсутствие перистомальных осложнений. На основании экспертной оценки определены весовые коэффициенты для каждого потребительского свойства, предложена методика сравнительной оценки уроприемников и калоприемников.

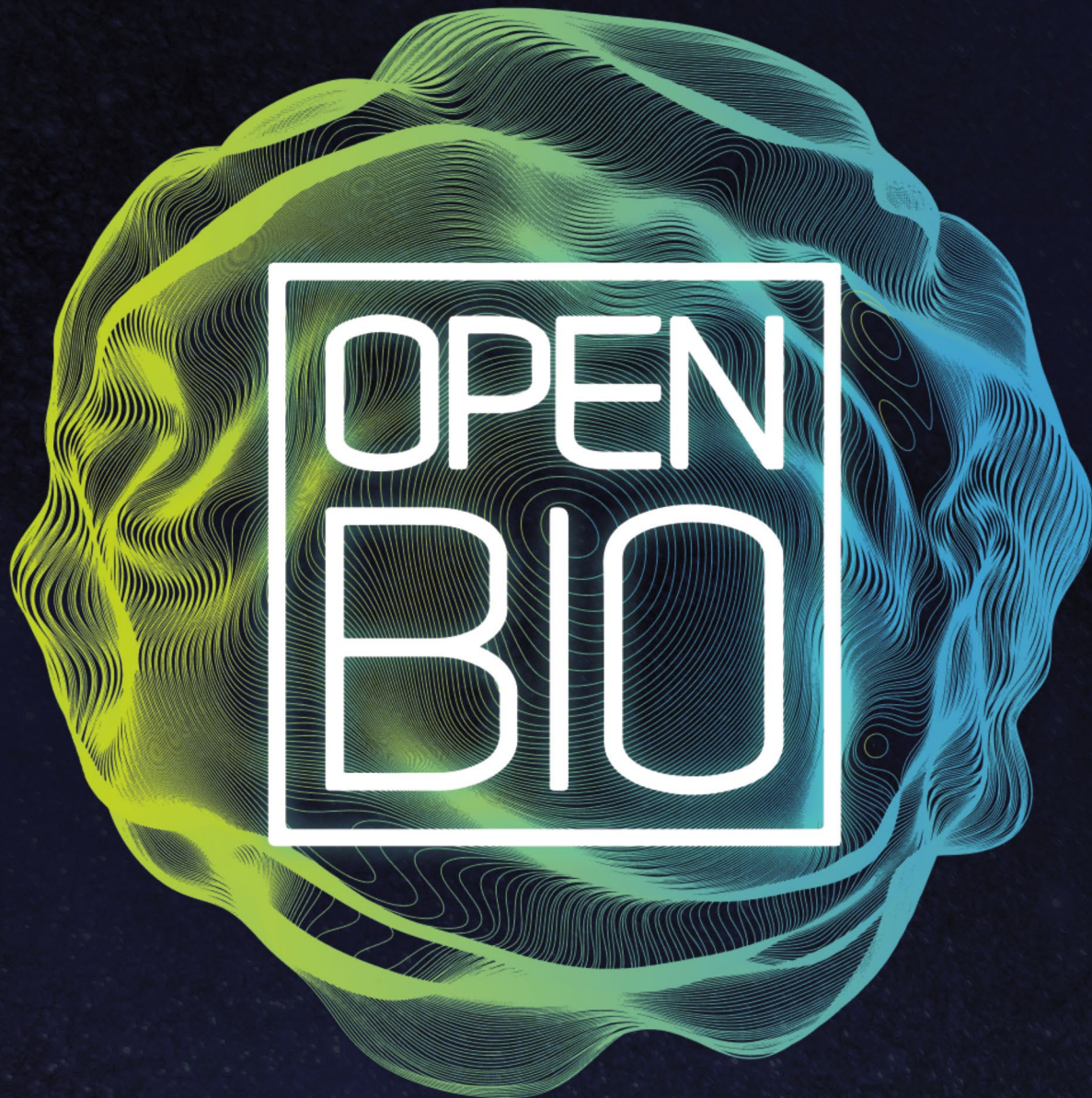
Разработанная методика может служить основой при разработке методик сравнительной оценки лекарственных препаратов-аналогов, предназначенных

для аппликации на кожу, в том числе трансдермальных пластырей, на основе их потребительских свойств.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Virgin-Elliston T., Nonboe P., Boisen E. B., Koblauch H. Evaluating the Performance and Perception of a Stoma Bag Full-Circle Filter in People with a Colostomy or an Ileostomy—Two Randomized Crossover Trials. *Healthcare*. 2023;11(3):369. DOI: 10.3390/healthcare11030369.
- Gilpin V., Magee N., Scott C., Pourshahidi L. K., Gill C. I. R., Simpson E. E. A., McCreadie K., Davis J. Evolution of Ostomy Pouch Design: Opportunities for Composite Technologies to Advance Patient Care. *Journal of Composites Science*. 2024;8(10):388. DOI: 10.3390/jcs8100388.
- Kotler P., McDougall G. H. G. *Marketing essentials*. Toronto: Prentice-Hall Canada Inc; 1984. 556 p.

4. Harold A. Linstone, Murray Turoff. The delphi method. Reading: Addison-Wesley; 1975. 620 p.
5. Nasa P., Jain R., Juneja D. Delphi methodology in healthcare research: How to decide its appropriateness. *World Journal of Methodology*. 2021;11(4):116–129. DOI: 10.5662/wjm.v11.i4.116.
6. Bonnichsen O. Elicitation of ostomy pouch preferences: a discrete-choice experiment. *The Patient: Patient-Centered Outcomes Research*. 2011;4(3):163–175. DOI: 10.2165/11586430-000000000-00000.
7. Chaumier D., Gadrat C. Relevance of a new flexible convex stoma appliance. *WCET Journal*. 2017;37(3):26–28.
8. Treloar L. R. G. The physics of rubber elasticity. Oxford: Clarendon Press, Oxford University Press; 1975. 324 p.
9. Augustus Edward Hough Love. A treatise on the mathematical theory of elasticity: Fourth edition. Cambridge: Cambridge: at the University Press; 1959. 662 p.
10. Jacob Lubliner. Plasticity theory. Mineola: Dover Publications Incorporated; 2013. 544 p.
11. Södergård B., Tredal I., Hemmingsson I., Leven M., Dorange A. C. Patient preference of ostomy pouching systems –focus group interviews with stoma care patients. *Value in Health*. 2014;17(295):A39.
12. Cilurzo F., Gennari C. G. M., Minghetti P. Adhesive properties: a critical issue in transdermal patch development. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2012;9(1):33–45. DOI: 10.1517/17425247.2012.637107.
13. Spencer T. S., Smith S. E., Conjeevaram S. Adhesive interactions between polymers and skin in transdermal delivery systems. *Abstracts of papers of the american chemical society*. 1990;200:75.
14. Hedegaard C., Ajslev T., Zeeberg R., Hansen A. S. Leakage and peristomal skin complications influences user comfort and confidence and are associated with reduced quality of life in people with a stoma. *WCET Journal*. 2020;40(4):23–29. DOI: 10.33235/wcet.40.4.23-29.
15. Doctor K., Colibaseanu D. T. Peristomal skin complications: causes, effects, and treatments. *Chronic Wound Care Management and Research*. 2016;4:1–6. DOI: 10.2147/CWC.MR.S93615.
16. Down G., Vestergaard M., Ajslev T. A., Boisen E. B., Nielsen L. F. Perception of leakage: data from the Ostomy Life Study 2019. *British Journal of Nursing*. 2021;30(22):4–12. DOI: 10.12968/bjon.2021.30.22.S4.
17. Nafees B., Størling Z. M., Hindsberger C., Lloyd A. The ostomy leak impact tool: development and validation of a new patient-reported tool to measure the burden of leakage in ostomy device users. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2018;16(1):231. DOI: 10.1186/s12955-018-1054-0.
18. Nafees B., Rasmussen M., Lloyd A. The Ostomy-Q: Development and Psychometric Validation of an Instrument to Evaluate Outcomes Associated with Ostomy Appliances. *Ostomy Wound Management*. 2017;63(1):12–22.
19. Prieto L., Thorsen H., Juul K. Development and validation of a quality of life questionnaire for patients with colostomy or ileostomy. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2005;3(1):62. DOI: 10.1186/1477-7525-3-62.
20. Le Ber F. Using a novel breathable silicone adhesive (Sil2™ technology) in stoma appliances to improve peristomal skin health: answering the key questions. *British Journal of Nursing*. 2020;29(16):16–21. DOI: 10.12968/bjon.2020.29.16.S16.
21. Berg K. Randomized cross-over comparison of adhesively-coupled colostomy pouching systems. *Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing*. 2005;32(35):S24. DOI: 10.1097/00152192-200505002-00080.
22. Sagap I., Loo G. H., Azman Z. A. M., Mazlan L., Gan S. Y., Eng H. S., Henry F. Randomised controlled trial to assess and compare the performance and safety of two-piece ostomy appliances. *British Journal of Nursing*. 2022;31(22):34–42. DOI: 10.12968/bjon.2022.31.22.S34.
23. Taroc A.-M. A guide for adhesive removal: Principles, practice, and products: Combining skill and knowledge ensures safe removal. *American Nurse Today*. 2017;12(10):24–27.
24. Hansen D. Skin adhesives for ostomy care applications. Water diffusion in polymer composites & its effect on adhesion. *PhD Dissertation, version of record*. Lyngby: Technical University of Denmark; 2020. 146 p.
25. Richbourg L., Fellows J., Arroyave W. D. Ostomy pouch wear time in the United States. *Journal of Wound, Ostomy & Continence Nursing*. 2008;35(5):504–508. DOI: 10.1097/01.WON.0000335962.75737.b3.
26. de Freitas Perella C. G. Consumer Preferences in the Portuguese Ostomy Care Market. Master's Thesis. 2021.
27. Denyer J. Reducing pain during the removal of adhesive and adherent products. *British Journal of Nursing*. 2011;20(8):30–35. DOI: 10.12968/bjon.2011.20.Sup8.S28.
28. Stroebach E., Hansen M., Loevdal A. L. V., Emme N. P. Ostomy base plate and methods of preventing contamination of the adhesive of the base plate. United States patent US 20230301817A1. 2023 Sep. 28.



ХII РОССИЙСКИЙ ФОРУМ БИОТЕХНОЛОГИЙ

23 - 26 СЕНТЯБРЯ 2025, наукоград КОЛЬЦОВО

БИЗНЕС- ФОРУМ

ДЛЯ БИЗНЕСА,
НАУКИ, ВЛАСТИ
И ИНФРАСТРУКТУРЫ

НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

ВИРУСОЛОГИЯ,
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ,
ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА,
БИОТЕХНОЛОГИЯ, БИОФИЗИКА,
БИОИНФОРМАТИКА

ОТРАСЛЕВАЯ ВЫСТАВКА

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ
И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ
КОМПАНИЙ

OPENBIO.RU





Изучение анатомо-диагностических признаков листьев артишока колючего, выращенного в условиях Кыргызской Республики

С. Ч. Чубакова¹✉, Н. Т. Фарманова², Н. В. Бобкова³, Т. А. Маматов¹

¹ Ошский государственный университет (ОшГУ). 723500, Киргизская Республика, г. Ош, ул. Ленина, д. 331

² Ташкентского фармацевтического института (ТашФарМИ). 100015, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. Айбек, д. 45

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). Институт фармации им. А. П. Нелюбина. 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ Контактное лицо: Чубакова Сымбат Чубаковна. E-mail: symbatcubakova@gmail.com

ORCID: С. Ч. Чубакова – <https://orcid.org/0009-0003-5236-5706>;
Н. Т. Фарманова – <https://orcid.org/0000-0002-0250-3379>;
Н. В. Бобкова – <https://orcid.org/0000-0003-1591-4019>;
Т. А. Маматов – <https://orcid.org/0009-0009-1429-4664>.

Статья поступила: 23.10.2024

Статья принята в печать: 28.05.2025

Статья опубликована: 29.05.2025

Резюме

Введение. Артишок колючий – растение из семейства астровых, известное с IV века до н. э. как пищевое и лечебное средство. Это растение ценили древние египтяне, греки и римляне, которые использовали его как в пищу, так и в качестве лекарства. Артишок по-прежнему играет важную роль в питании человека, особенно в Средиземноморском регионе. *Synara scolymus* L. демонстрирует широкий спектр фармакологической активности, его листья и цветки проявляют противовоспалительное, антиоксидантное, гепатопротекторное, желчегонное, антимикробное, гиполипидемическое свойства. Это снижает последующий риск развития таких состояний, как рак, диабет и сердечно-сосудистые заболевания. Поэтому данное растение потенциально может быть рассмотрено в качестве кандидата для разработки новых отечественных лекарственных препаратов. Характеристика лекарственного растительного сырья, включая морфолого-анатомические и фитохимические профили, является необходимой информацией для обеспечения качества сырья при разработке лекарств.

Цель. Данное исследование проведено с целью изучения макро- и микроморфологических признаков листьев артишока колючего для введения в медицинскую практику.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовались высушенные листья артишока посевного (колючего) (*Synara scolymus* L.), собранные в фазу цветения (июнь) в 2023 году в Ошской области Кыргызской Республики. Для обнаружения характерных внешних признаков листьев артишока колючего был проведен внешний осмотр аналитической пробы визуально (10X). Микроскопическое и гистохимическое исследование проводилось в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XV изд., ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения», с использованием микроскопа Leica DM1000 (Leica Microsystems CMS GmbH, Германия) с окуляром 10x/20 и объективами 10x/0,25, 40x/0,65, 100x/1,25. Вывод изображения на экран осуществлялся через программу Leica LAS v4.13 Software.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований установлены характерные морфолого-анатомические признаки листьев артишока колючего. *Макроскопические признаки:* листья продолговатой, широколанцетной формы, длиной 50–70 см и шириной 20–40 см, непарноперисторассеченные, край листа крупнородчатый; черешок мясистый, слабо выраженный, ребристый; жилкование перистое. На концах листовых пластинок имеются тонкие шипообразные выросты. Цвет верхней поверхности серовато-зеленый, нижней – серебристо-серый или беловолочный. Запах при растирании слабый, вкус водного извлечения резко горький. *Микроскопические признаки:* верхний эпидермис состоит из изодиаметрических и полигональных многоугольных клеток с прямыми стенками, над жилками эпидермальные клетки – удлинённые. Устьица верхнего эпидермиса овальные, нижнего – более округлые. Устьица окружены 4–5 эпидермальными клетками. Трихомы листа артишока представлены простыми и головчатыми волосками. Простые волоски многоклеточные, имеют однорядное основание, состоящее из 2–8 коротких, иногда расширенных клеток. Оканчиваются простые волоски длинной, тонкой, извилистой тонкостенной клеткой. Головчатые волоски имеют короткую многоклеточную двурядную ножку и округлую одноклеточную головку, иногда с заметным желтоватым маслянистым

содержимым. Поперечный срез главной жилки (без листовой пластинки) имеет полуокруглую форму со слегка вогнутой адаксиальной и выпукло-ребристой абаксиальной поверхностью. Проводящие пучки – коллатеральные, крупные – открытые, мелкие – закрытые. На эпидермисе жилки можно наблюдать простые и головчатые волоски.

Заключение. Впервые проведены исследования по изучению макро- и микроскопических признаков листьев артишока колючего, выращенного в условиях Кыргызской Республики, необходимые для установления подлинности и оценки качества сырья.

Ключевые слова: артишок колючий, макроскопический и микроскопический анализ, подлинность, листовая пластинка

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

Вклад авторов. С. Ч. Чубакова, Н. В. Бобкова, Н. Т. Фарманова – дизайн исследования, проведение экспериментов. Н. Т. Фарманова, Н. В. Бобкова – написание и редактирование статьи. В рецензировании и одобрении результатов участвовали Н. В. Бобкова, Н. Т. Фарманова, Т. А. Маматов. Все соавторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Чубакова С. Ч., Фарманова Н. Т., Бобкова Н. В., Маматов Т. А. Изучение анатомо-диагностических признаков листьев артишока колючего, выращенного в условиях Кыргызской Республики. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):185–192. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1954>

Study of anatomy-diagnostic features of leaves of *Cynara scolymus* L. grown under the conditions of the Kyrgyz Republic

Symbat C. Chubakova¹✉, Nodira T. Farmanova², Natalia V. Bobkova³, Tynchtykbek A. Mamatov¹

¹ Osh State University. 331, Lenin str., Osh, 723500, Kyrgyz Republic

² Tashkent Pharmaceutical Institute. 45, Aibek str., Tashkent, 100015, Republic of Uzbekistan

³ I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). A. P. Nelyubin Institute of Pharmacy. 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Symbat Ch. Chubakova. **E-mail:** symbatcubakova@gmail.com

ORCID: Symbat C. Chubakova – <https://orcid.org/0009-0003-5236-5706>;

Nodira T. Farmanova – <https://orcid.org/0000-0002-0250-3379>;

Natalia V. Bobkova – <https://orcid.org/0000-0003-1591-4019>;

Tynchtykbek A. Mamatov – <https://orcid.org/0009-0009-1429-4664>.

Received: 23.10.2024

Accepted: 28.05.2025

Published: 29.05.2025

Abstract

Introduction. *Cynara scolymus* shows potential benefits in various fields. Its nutritional value and health benefits make it a promising candidate for improving general well-being. *C. scolymus* exhibits anti-inflammatory, antioxidant, hepatoprotective, choleric, antimicrobial and lipid-lowering neuroprotective properties. The large amount of polyphenol found in *C. scolymus* has antioxidant activity, which allows it to neutralize free radicals, preventing cell damage. This reduces the subsequent risk of developing conditions such as cancer, diabetes and cardiovascular disease. Therefore, this plant could potentially be developed as a candidate for new domestic pharmaceuticals. Plant characteristics including microscopic, physicochemical properties and phytochemical profiles are essential information to ensure the quality of raw materials in drug development.

Aim. To study the macro and micromorphological characters of *C. scolymus* leaves for introduction into medical practice.

Materials and methods. Dried leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.), collected in the flowering phase (June) of 2023, in the Osh region of the Kyrgyz Republic, were used as the object of the study. To detect characteristic external features of artichoke prickly leaves, an external examination of the analytical sample was carried out visually (10×). Microscopic and histochemical examination was carried out in accordance with GF RF XV ed. OFS 1.5.3.0003 "Microscopic and microchemical analysis of medicinal plant raw materials and drugs of plant origin" on a microscope Leica DM1000 (Leica Microsystems CMS GmbH, Germany) with an eyepiece 10×/20 and lenses 10×/0.25, 40×/0.65, 100×/1.25. The images were displayed through the program "Leica LAS v4.13 Software".

Results and discussion. As a result of the research, characteristic morphological and anatomical features of artichoke leaves were established. Macroscopic features: leaves of oblong, broadly lanceolate shape, 50–70 cm long and 20–40 cm wide, unpaired, pinnately pinnately dissected, leaf margin coarsely ridged; petiole is fleshy, weakly expressed, ribbed; veining is pinnate. At the ends of leaf plates there are thin spike-like outgrowths. The color of the upper surface is grayish-green, the lower surface is silvery-gray or white-white. The odor when rubbed is weak, the taste of aqueous extract is sharply bitter. Microscopic features: upper epidermis consists of isodiametric and polygonal polygonal cells with straight walls, above veins epidermal cells are elongated. Stomata of the upper epidermis are oval, those of the lower epidermis are more rounded. Stomata are surrounded by 4–5 epidermal cells. Artichoke leaf trichomes are represented by simple and cephalic hairs. Simple hairs are multicellular, have a single row base consisting of 2–8 short, sometimes expanded cells. Simple setae end in a long, slender, sinuous thin-walled cell. Cephalic setae have a short multicellular bilobed pedicel and a rounded unicellular head, sometimes with a conspicuous yellowish oily content. The transverse section of the main vein (without leaf lamina) is semi-rounded with

a slightly concave adaxial and convexly ribbed abaxial surface. Conductive bundles are collateral, large ones open and small ones closed. Simple and cephalic hairs can be observed on the epidermis of the vein.

Conclusion. For the first time studies on macro- and microscopic features of leaves of prickly artichoke, grown in the conditions of the Kyrgyz Republic, necessary to establish the authenticity and quality assessment of raw materials have been carried out.

Keywords: *Cynara scolymus* L., macroscopic and microscopic analysis, authenticity, leaf plate

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. Symbat C. Chubakova, Natalia V. Bobkova, Nodira T. Farmanova – research design, conducting experiments. Nodira T. Farmanova, Natalia V. Bobkova – writing and editing of the article. Natalia V. Bobkova, Nodira T. Farmanova, Tynchtykbek A. Mamatov participated in reviewing and approving the results. All co-authors participated in the discussion of the results.

For citation: Chubakova S. C., Farmanova N. T., Bobkova N. V., Mamatov T. A. Study of anatomy-diagnostic features of leaves of *Cynara scolymus* L. grown under the conditions of the Kyrgyz Republic. *Drug development & registration*. 2025;14(2):185–192. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1954>

ВВЕДЕНИЕ

С быстрым ростом населения мира и истощением ресурсов растет потребность в более устойчивом и эффективном использовании природных ресурсов. Понимание правильной промышленной эксплуатации остается важным для содействия полной и адекватной переработке растительных культур. Артишок (*Cynara scolymus* L.) – древнее травянистое многолетнее растение, которое сегодня широко культивируется во всем мире. Ботаническое название происходит отчасти от традиции удобрения растения золой (лат. *cinis, cineris*), а отчасти от греческого *skolymos*, что означает «чертополох», из-за колючек, обнаруженных на прицветниках (они не являются листьями), которые окружают цветочные бутоны, образующие съедобную часть растения. Съедобными частями артишока являются крупные бутоны, которые собирают на ранних стадиях их развития, они составляют около 30–40 % его сырого веса, в зависимости от сорта и времени сбора урожая. Поскольку потребляется только центральная часть корзинки, соотношение съедобной фракции и общей биомассы, производимой растением, очень низкое и составляет менее 15–20 %. Это соотношение еще больше уменьшается, если учитывать также вклад в общую биомассу, представленный побегами, удаленными с поля обычными агротехническими процедурами.

Различные исследования продемонстрировали потенциал артишока как противовоспалительного, гиполлипидемического, противомикробного и нейропротекторного средства благодаря его фитохимическому составу [1–3]. Кроме того, в эксперименте был установлен высокий антиульцерогенный потенциал чешуек головок *C. scolymus* [4]. Водные экстракты из листьев *C. scolymus* оказывают антидиабетическое действие на крыс с диабетом, вызванным стрептозо-

тоцином [5]. Фармакологические исследования показали желчегонный, гепатопротекторный, антиоксидантный, мягкий мочегонный, антиацетемический и гипохолестеринемический эффект сухого экстракта артишока [6–7].

За последние годы в Средней Азии также наблюдается рост интереса к артишоку [8–9], старому растению с новым применением в функциональных продуктах питания.

Пищевые и фармацевтические свойства как бутонов, так и листьев артишока связаны с их особым химическим составом. В листьях и цветках артишока обнаружены апигенин-7-рутинозид и нарирутин [10], лютеолин-7-гликозид, лютеолин-7-рутинозид [11], хлорогеновая и кофейная кислоты [12, 13], сапонины (цинаросапонины В, цинаросапонины К) [14, 15], дубильные [16] и другие вещества. В связи с чем богатый химический состав и достаточно высокая урожайность делают этот вид потенциальным источником получения эффективного фитопрепарата.

Целью данного исследования является определение макро- и микроскопических признаков листьев артишока колючего (*Cynara scolymus* L.), культивируемого в Кыргызской Республике, как сырья для разработки традиционных лекарственных средств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали высушенные листья артишока колючего (*Cynara scolymus* L.), собранные в фазу цветения в 2023 году (июнь) в Ошской области Кыргызской Республики (рисунок 1). Сушку осуществляли в естественных условиях, в проветриваемых помещениях без доступа прямого солнечного света.

Для определения подлинности изучаемого сырья использовали методы макроскопического и микроскопического анализа. Для обнаружения характер-



Рисунок 1. Артишок колючий (*Cynara scolymus* L.), культивируемый в Кыргызской Республике

Figure 1. *Cynara scolymus* L. cultivated in the Kyrgyz Republic

ных внешних признаков листьев артишока колючего был проведен внешний осмотр аналитической пробы визуально (при необходимости использовали лупу, 10х). При этом обращали внимание и оценивали такие диагностические признаки, как форма листовой пластинки, характер жилкования листа, его край и размеры (длина, ширина), характер поверхности, цвет, запах и вкус водного извлечения. Микроскопическое и гистохимическое исследование проводилось в соответствии с Государственной фармакопеей (ГФ РФ) XV изд., ОФС 1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»¹, с использованием микроскопа Leica DM1000 (Leica Microsystems CMS GmbH, Германия) с окуляром 10х/20 и объективами 10х/0,25, 40х/0,65, 100х/1,25. Вывод изображения на экран осуществлялся через программу Leica LAS v4.13 Software.

Готовили микропрепараты:

- листовой пластинки (без крупных жилок) с поверхности. В качестве просветляющей жидкости использовали 2,5%-й раствор натрия гидроксида.
- поперечный срез главной жилки (ближе к основанию). Для размягчения отделенные от листовых пластинок жилки замачивали в смеси «этанол – глицерин – вода» (1 : 1 : 1) на 3 суток.

¹ГФ РФ XV изд. ОФС.1.5.3.0003 «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/mikroskopicheskiy-i-mikrokhimicheskiy-analiz-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya-i-lekarstvennykh-sred/> Ссылка активна на 23.10.2024.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучаемое сырье представляет собой листья продолговатой, широколанцетной формы, длиной 50–70 см и шириной 20–40 см, непарноперисторасчепленные, с зубчатыми или лопастными сегментами, край листа крупногородчатый; черешок мясистый, слабо выраженный, длиной 3–5 см, диаметром 1–1,5 см, ребристый, опушенный, с желобовидной бороздкой на поверхности; жилкование перистое, жилки с нижней стороны листа сильно выступающие, ребристые; поверхность листа сверху слабоопушенная, снизу – с густым беловойлочным опушением. На концах листовых пластинок имеются тонкие шипообразные выросты. Цвет верхней поверхности листа при дневном свете серовато-зеленый, поверхность жесткая, нижней – серебристо-серый или беловойлочный от обильного опушения. Запах при растирании слабый, вкус водного извлечения резко горький (рисунок 2).



Рисунок 2. Листья артишока колючего

Figure 2. Leaves of *Cynara scolymus*

В результате микроскопического исследования микропрепарата листа с поверхности было установлено, что верхний эпидермис состоит из изодiamетрических и многоугольных клеток с прямыми стенками (рисунки 3, 4), над жилками эпидермальные клетки – удлиненные. Устьица верхнего эпидермиса овальные, длиной около 30 мкм, нижнего – более округлые, длиной около 23 мкм. Устьица окружены 4–5 эпидер-

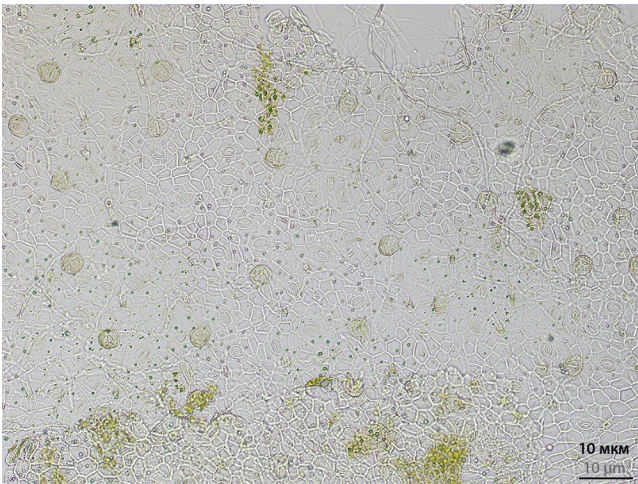


Рисунок 3. Микропрепарат листа с поверхности. Верхний эпидермис (объектив 10х)

Figure 3. Micro preparation of a leaf from the surface. Upper epidermis (lens 10x)

мальными клетками (аномоцитный тип) (рисунок 4). Встречаемость устьиц с верхней стороны листа составляет около 100 на 1 мм², с нижней – около 500 на 1 мм². Определение формы и очертания клеток нижнего эпидермиса вызывает трудности из-за сплошного обильного опушения (рисунки 5, 6). Трихомы листа артишока представлены простыми и головчатыми волосками, расположенными как на верхней, так и на нижней стороне. Простые волоски многоклеточные, имеют однорядное основание, состоящее из 2–8 коротких, иногда расширенных клеток. Оканчиваются простые волоски длинной, тонкой, извилистой тонкостенной клеткой. Встречаемость простых волос-

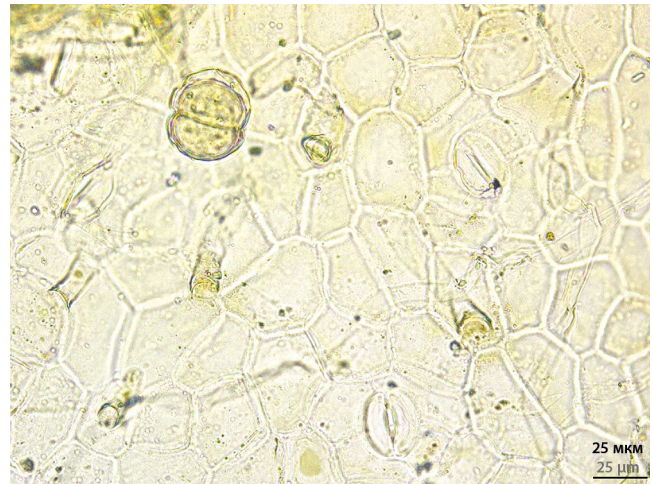


Рисунок 4. Микропрепарат листа с поверхности. Верхний эпидермис (объектив 40х, клетки эпидермиса, устьица, основания простых волосков, головчатый волосок)

Figure 4. Micro preparation of a leaf from the surface. Upper epidermis (lens 40x, epidermal cells, stomata, bases of simple setae, cephalic seta)

ков на верхнем эпидермисе составляет около 150 на 1 мм², с нижней стороны рассчитать данный показатель не представляется возможным из-за их плотного скопления. Головчатые (железистые) волоски имеют короткую многоклеточную двурядную ножку и округлую одноклеточную головку диаметром около 35 мкм, иногда с заметным желтоватым маслянистым содержанием. Встречаемость данных волосков на верхнем эпидермисе составляет около 30 на 1 мм², на нижнем – около 60 на 1 мм² (рисунки 5, 6).

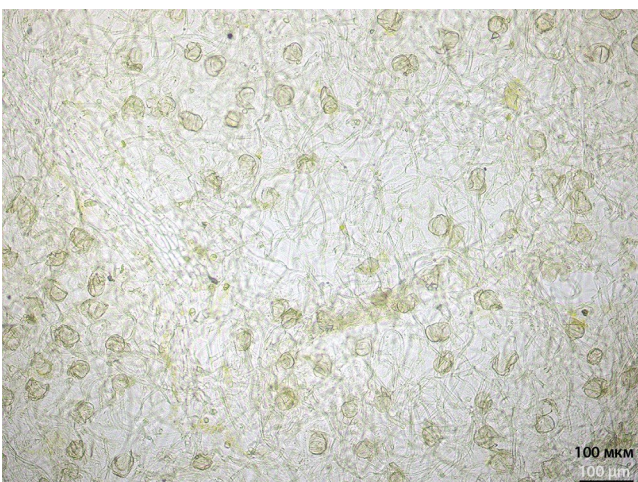


Рисунок 5. Микропрепарат листа с поверхности. Нижний эпидермис (объектив 10х, обилие простых и головчатых волосков)

Figure 5. Micro preparation of a leaf from the surface. Lower epidermis (lens 10x, abundance of simple and cephalic hairs)

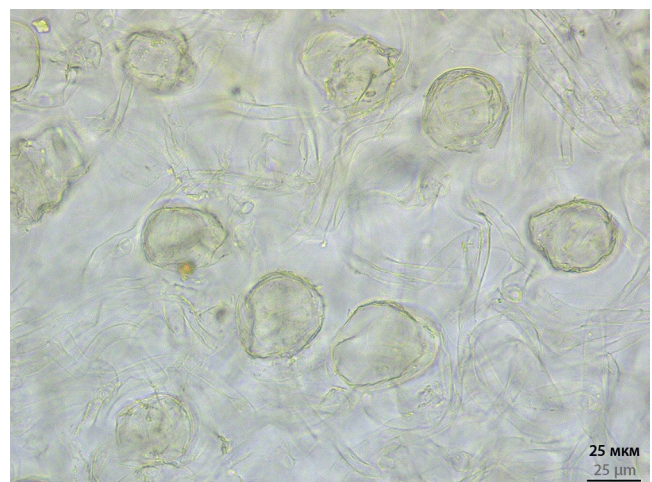


Рисунок 6. Микропрепарат листа с поверхности. Нижний эпидермис (объектив 40х, обилие простых и головчатых волосков)

Figure 6. Micro preparation of a leaf from the surface. Lower epidermis (lens 40x, abundance of simple and cephalic hairs)

Поперечный срез главной жилки (без листовой пластинки) имеет полу-округлую форму со слегка вогнутой адаксиальной (верхней) и выпукло-ребристой абаксиальной (нижней) поверхностью (рисунки 7, 8).

Проводящие пучки жилки распределены хаотично с адаксиально ориентированной ксилемой (рисунки 9, 10). Проводящие пучки – коллатеральные, крупные – открытые, мелкие – закрытые (рисунки 11, 12), размером 450–550 мкм и 70–100 мкм соответственно.



Рисунок 7. Поперечный срез главной жилки (лупа $\times 10$)

Figure 7. Transverse section of the main vein (magnifying glass $\times 10$)

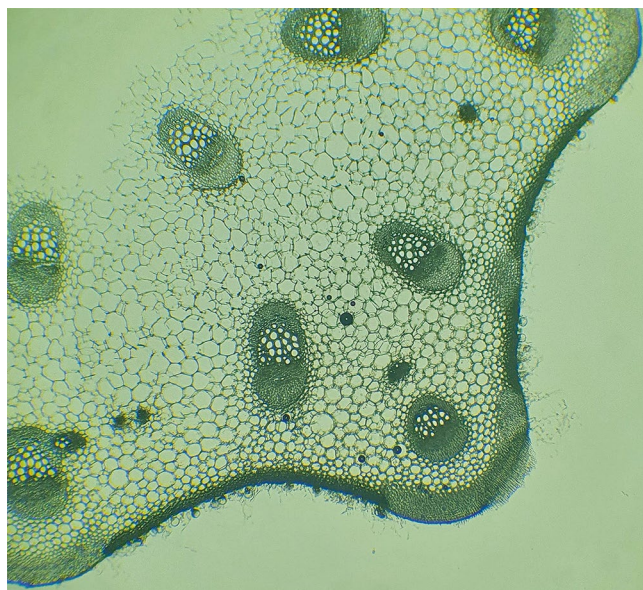


Рисунок 8. Поперечный срез главной жилки с нижней стороны. Проводящие пучки (объектив 4 \times)

Figure 8. Transverse section of the main vein from the lower side. Conducting bundles (4 \times lens)

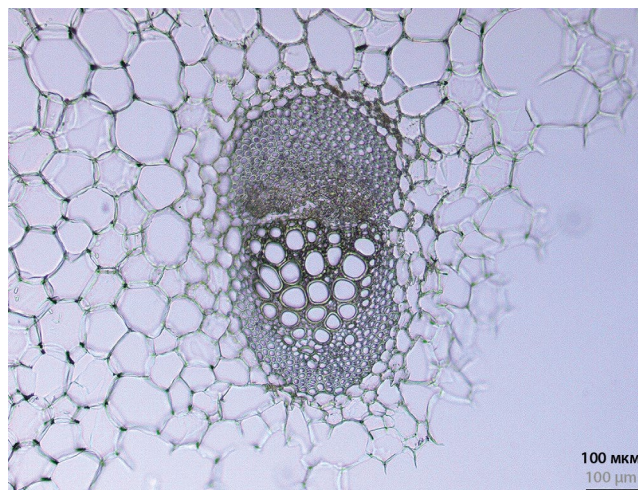


Рисунок 9. Поперечный срез главной жилки. Проводящий пучок (объектив 10 \times)

Figure 9. Transverse section of the main vein. Conducting bundle (10 \times lens)

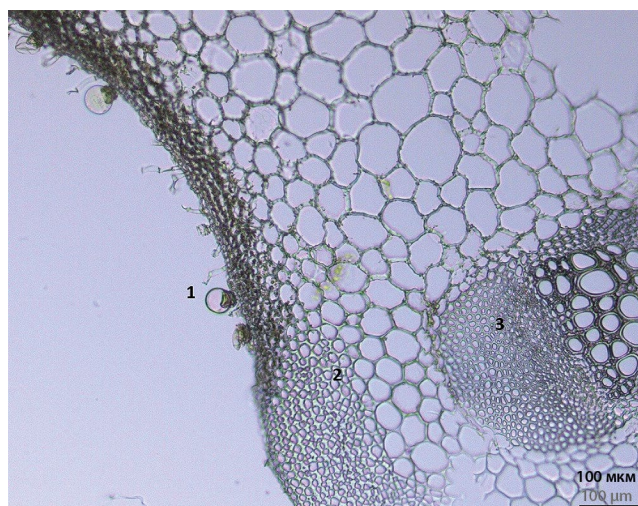


Рисунок 10. Поперечный срез главной жилки.

1 – волоски на эпидермисе; 2 – колленхима; 3 – проводящий пучок (объектив 10 \times)

Figure 10. Transverse section of the main vein.

1 – hairs on epidermis; 2 – collenchyma; 3 – conductive bundle (10 \times lens)

Все пучки имеют склерифицированную обкладку, которая полностью окружает крупный проводящий пучок. В мелких – локализуется со стороны флоэмы (см. рисунок 9). На эпидермисе жилки можно наблюдать простые и головчатые волоски (см. рисунок 10). Угловая колленхима наиболее развита в ребрах абаксиальной части жилки, однако некоторые ее участки располагаются субэпидермально над крупными проводящими пучками. В клетках паренхимы черешка, как и в мезофилле листовой пластинки, кристаллические и секреторные образования отсутствуют.

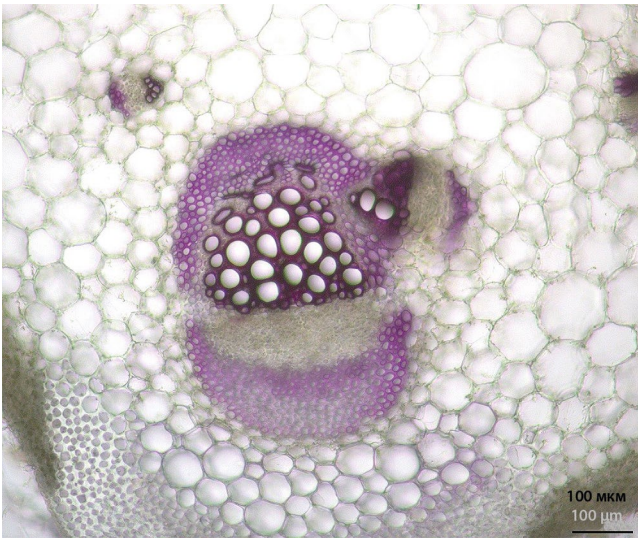


Рисунок 11. Поперечный срез главной жилки. Проводящие пучки. Окраска флороглюцином (объектив 10х)

Figure 11. Transverse section of the main vein. Conducting bundles. Floroglucin staining (10x lens)

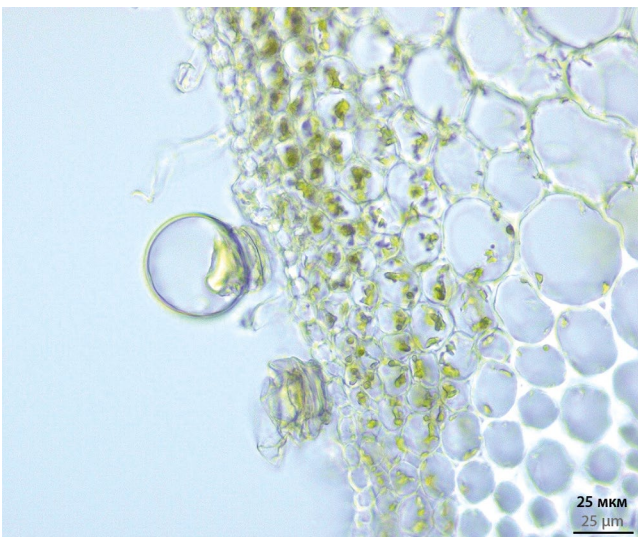


Рисунок 12. Поперечный срез главной жилки. Эпидермис с волосками. Угловая колленхима (объектив 40х)

Figure 12. Transverse section of the main vein. Epidermis with setae. Angular collenchyma (lens 40x)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведены необходимые для установления подлинности и оценки качества сырья исследования по изучению макро- и микроскопических признаков листьев артишока колючего, выращенного в условиях Кыргызской Республики. *Макроскопические признаки:* листья продолговатой, широколанцетной формы, длиной 50–70 см и шириной 20–40 см, непарноперисторассеченные, край листа крупнорядчатый; черешок мясистый, слабо выражен-

ный, ребристый; жилкование перистое. На концах листовых пластинок имеются тонкие шипообразные выросты. Цвет верхней поверхности серовато-зеленый, нижней – серебристо-серый или беловоилочный. Запах при растирании слабый, вкус водного извлечения резко горький. *Микроскопические признаки:* верхний эпидермис состоит из изодиаметрических и полигональных многоугольных клеток с прямыми стенками, над жилками эпидермальные клетки – удлиненные. Устьица верхнего эпидермиса овальные, нижнего – более округлые. Устьица окружены 4–5 эпидермальными клетками. Трихомы листа артишока представлены простыми и головчатыми волосками. Простые волоски многоклеточные, имеют однорядное основание, состоящее из 2–8 коротких, иногда расширенных клеток. Оканчиваются простые волоски длинной, тонкой, извилистой тонкостенной клеткой. Головчатые волоски имеют короткую многоклеточную двурядную ножку и округлую одноклеточную головку, иногда с заметным желтоватым маслянистым содержимым. Поперечный срез главной жилки (без листовой пластинки) имеет полуокруглую форму со слегка вогнутой адаксиальной и выпукло-ребристой абаксиальной поверхностью. Проводящие пучки – коллатеральные, крупные – открытые, мелкие – закрытые. На эпидермисе жилки можно наблюдать простые и головчатые волоски.

Полученные данные рекомендуются для составления проекта соответствующей нормативной документации в раздел «Внешние признаки и микроскопия».

ЛИТЕРАТУРА

1. Porro C., Benameur T., Cianciulli A., Vacca M., Chiarini M., De Angelis M., Panaro M. A. Functional and Therapeutic Potential of *Cynara scolymus* in Health Benefits. *Nutrients*. 2024;17;16(6):872. DOI: 10.3390/nu16060872.
2. Colombo R., Moretto G., Pellicorino V., Papetti A. Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.) By-Products in Food Applications: *Functional and Biological Properties*. *Foods*. 2024;13(10):1427. DOI: 10.3390/foods13101427.
3. Ben Salem M., Affes H., Athmouni K., Ksouda K., Dhoubi R., Sahnoun Z., Hammami S., Zeghal K. M. Chemicals Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Cynara scolymus* Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017;2017:4951937. DOI: 10.1155/2017/4951937.
4. Nassar M. I., Mohamed T. K., Elshamy A. I., El-Toumy S. A., Abdel Lateef A. M., Farrag A.-R. H. Chemical constituents and anti-ulcerogenic potential of the scales of *Cynara scolymus* (artichoke) heads. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013;15;93(10):2494–2501. DOI: 10.1002/jsfa.6065.
5. Ahmed O. M., Abdel Fattah A. A., Abdul-Hamid M., Abdel-Aziz A. M., Sakr H. I., Damanhory A. A., Abdel-Kawi S. H., Ghaboura N., Awad M. M. Y. Antidiabetic and Liver Histological and Ultrastructural Effects of *Cynara*

- Scolymus* Leaf and Flower Head Hydroethanolic Extracts in Nicotinamide/Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2023;4223026. DOI: 10.1155/2023/4223026.
6. Громова О. А., Торшин И. Ю. Хофитол – стандартизированный экстракт артишока. Биохимический состав и фармакологические эффекты. *Трудный пациент*. 2009;7(4–5):24–31.
 7. Saenz Rodriguez T., García Giménez D., de la Puerta Vázquez R. Choleric activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats. *Phytomedicine*. 2002;9(8):687–693. DOI: 10.1078/094471102321621278.
 8. Миррахимова Т. А., Олимов Н. К. Изучение ассортимента гепатопротекторных лекарственных средств, зарегистрированных в Республике Узбекистан. *Фармацевтический вестник Узбекистана*. 2020;1:26–28.
 9. Чубакова С. Ч., Фарманова Н. Т. Изучение полисахаридного состава артишока колючего (*Cynara scolymus* L.). *Фармация*. 2024;2:100–101.
 10. Zhu X., Zhang H., Lo R. Phenolic Compounds from the Leaf Extract of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(24)7272–7278. DOI: 10.1021/jf0490192.
 11. Mutalib A., Nasser A. G. Phitochemical study of *Cynara scolymus* L. cultivated in Iraq. *Iraqi pharmjournal*. 2012;21(1):6–13.
 12. Лунева И. Л. Фармакогностическое изучение артишока колючего (*Cynara scolymus* L.), интродуцированного на Кавказских Минеральных Водах. Дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск; 2009. 23 с. Доступно по: <https://medical-diss.com/farmakologiya/farmakognosticheskoe-izuchenie-artishoka-kolyuchego-cynara-scolymus-l-introdutsirovannogo-na-kavkazskih-mineralnyh-vodah-1>. Ссылка активна на 23.10.2024.
 13. Fatex E. et al. Effect of soil fertilizing methods on chlorogenic acid contents of Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Global journal of biodiversity science and Management*. 2013;3(2):130–137.
 14. Musaji P., Grankai D., Nagy M., Buděšínský M., Ubik K. Monodesmosidic saponins in *Cynara cardunculus* L. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2001;50(6):277–279.
 15. Musaji P., Bukovský M., Grankai D., Nagy M. Anticomplement activity of saponins from *Cynara cardunculus* L. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2003;52(6):306–309.
 16. Sallam S. M. A. Nutritiv value assessment of the alternative feed resources by gas production and rumen fermentation *in vitro*. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 2005;1(2):200–209.
 - Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Cynara scolymus* Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017;2017:4951937. DOI: 10.1155/2017/4951937.
 4. Nassar M. I., Mohamed T. K., Elshamy A. I., El-Toumy S. A., Abdel Lateef A. M., Farrag A.-R. H. Chemical constituents and anti-ulcerogenic potential of the scales of *Cynara scolymus* (artichoke) heads. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013;15;93(10):2494–2501. DOI: 10.1002/jsfa.6065.
 5. Ahmed O. M., Abdel Fattah A. A., Abdul-Hamid M., Abdel-Aziz A. M., Sakr H. I., Damanhory A. A., Abdel-Kawi S. H., Ghaboura N., Awad M. M. Y. Antidiabetic and Liver Histological and Ultrastructural Effects of *Cynara Scolymus* Leaf and Flower Head Hydroethanolic Extracts in Nicotinamide/Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2023;4223026. DOI: 10.1155/2023/4223026.
 6. Gromova O. A., Torshin I. Yu. Hofitol – a standardized extract of cynara. Biochemical composition and pharmacological effects. *Difficult Patient*. 2009;7(4–5):24–31. (In Russ.)
 7. Saenz Rodriguez T., García Giménez D., de la Puerta Vázquez R. Choleric activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats. *Phytomedicine*. 2002;9(8):687–693. DOI: 10.1078/094471102321621278.
 8. Mirрахимова Т. А., Олимов Н. Q. Study of the assortment of hepatoprotective medicines registered in the Republic of Uzbekistan. *Pharmaceutical Bulletin of Uzbekistan*. 2020;1:26–28. (In Russ.)
 9. Chubakova S. C., Farmanova N. T. Study of the polysaccharide composition of artichoke prickly (*Cynara scolymus* L.). *Pharmacia*. 2024;2:100–101. (In Russ.)
 10. Zhu X., Zhang H., Lo R. Phenolic Compounds from the Leaf Extract of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(24)7272–7278. DOI: 10.1021/jf0490192.
 11. Mutalib A., Nasser A. G. Phitochemical study of *Cynara scolymus* L. cultivated in Iraq. *Iraqi pharmjournal*. 2012;21(1):6–13.
 12. Luneva I. L. Pharmacognostic study of artichoke prickly (*Cynara scolymus* L.), introduced in the Caucasian Mineral Waters. [Dissertation.] Pyatigorsk; 2009. 23 p. Available at: <https://medical-diss.com/farmakologiya/farmakognosticheskoe-izuchenie-artishoka-kolyuchego-cynara-scolymus-l-introdutsirovannogo-na-kavkazskih-mineralnyh-vodah-1>. Accessed: 23.10.2024. (In Russ.)
 13. Fatex E. et al. Effect of soil fertilizing methods on chlorogenic acid contents of Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Global journal of biodiversity science and Management*. 2013;3(2):130–137.
 14. Musaji P., Grankai D., Nagy M., Buděšínský M., Ubik K. Monodesmosidic saponins in *Cynara cardunculus* L. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2001;50(6):277–279.
 15. Musaji P., Bukovský M., Grankai D., Nagy M. Anticomplement activity of saponins from *Cynara cardunculus* L. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2003;52(6):306–309.
 16. Sallam S. M. A. Nutritiv value assessment of the alternative feed resources by gas production and rumen fermentation *in vitro*. *Journal of Agricultural and Biological Science*. 2005;1(2):200–209.

REFERENCES

1. Porro C., Benameur T., Cianciulli A., Vacca M., Chiarini M., De Angelis M., Panaro M. A. Functional and Therapeutic Potential of *Cynara scolymus* in Health Benefits. *Nutrients*. 2024;17;16(6):872. DOI: 10.3390/nu16060872.
2. Colombo R., Moretto G., Pellicorio V., Papetti A. Globe Artichoke (*Cynara scolymus* L.) By-Products in Food Applications: *Functional and Biological Properties*. *Foods*. 2024;13(10):1427. DOI: 10.3390/foods13101427.
3. Ben Salem M., Affes H., Athmouni K., Ksouda K., Dhoubi R., Sahnoun Z., Hammami S., Zeghal K. M. Chemicals

Оригинальная статья / Research article



УДК 615.03; 543.51 + 543.54

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1916>

Изучение экскреции нового производного 4,5-дигидроизоксазол-5-карбоксамид

И. И. Яичков^{1,2}✉, М. К. Корсаков², Н. Н. Вольхин¹, В. Е. Зайкова^{1,2}, О. Э. Лазарянц^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России). 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет им. К. Д. Ушинского». Центр трансфера фармацевтических технологий им. М. В. Дорогова. 150000, Россия, г. Ярославль, ул. Республиканская, д. 108/1

✉ Контактное лицо: Яичков Илья Игоревич. E-mail: iyaichkov@yuspu.org

ORCID: И. И. Яичков – <https://orcid.org/0000-0002-0066-7388>;

М. К. Корсаков – <https://orcid.org/0000-0003-0913-2571>;

Н. Н. Вольхин – <https://orcid.org/0000-0002-4275-9037>;

В. Е. Зайкова – <https://orcid.org/0009-0008-9431-1980>;

О. Э. Лазарянц – <https://orcid.org/0009-0002-1249-3669>.

Статья поступила: 27.08.2024

Статья принята в печать: 12.03.2025

Статья опубликована: 14.03.2025

Резюме

Введение. Новый селективный ингибитор PAR-2-рецепторов, 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R004), находится на стадии доклинического исследования. Изучение экскреции R004 и его метаболитов ранее не проводилось.

Цель. Изучение экскреции R004 и его метаболитов с мочой и калом после однократного перорального и внутрибрюшинного введения субстанции.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 2 группах крыс линии Wistar по 6 особей. Первой группе субстанция R004 вводилась перорально в дозировке 10 мг/кг, второй группе – внутрибрюшинно в дозировке 10 мг/кг. Забор биоматериала проводился с помощью метаболических клеток. Пробы мочи отбирались до введения препарата и в промежутки 0–4, 4–8, 8–12, 12–24, 24–48, 48–72, 72–96, 96–120 ч после введения. Пробы фекалий отбирались до введения препарата и в промежутки 0–12, 12–24, 24–48, 48–72, 72–96, 96–120 ч. Анализ образцов проводился с помощью ВЭЖХ-МС/МС.

Результаты и обсуждение. Аналитический диапазон методики определения R004 и 4-метокси-3-(трифторметил)-анилина (M2) в моче составил 5–2000 нг/мл, а 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновой кислоты (M1) – 100–40 000 нг/мл. В фекалиях концентрации R004 измеряли в диапазоне 0,5–500,0 мкг/г, M1 – 4–4000 нг/г, M2 – 40–40 000 нг/г. Основная часть лекарственного средства и метаболитов выводится в течение 48 ч после введения. Полная элиминация достигается спустя 96 ч. R004 экскретируется в неизменном виде только с фекалиями: 94,83 ± 0,78 % при пероральном введении и 57,63 ± 0,66 % при внутрибрюшинном введении (M + m). Метаболит M1 выводится преимущественно ренальным путем, метаболит M2 – преимущественно через кишечник.

Заключение. Биоаналитические методики определения R004, M1 и M2 в моче и кале были успешно валидированы. Большая часть R004 экскретируется в неизменном виде энтеральным путем. M1 выводится преимущественно с мочой, M2 – с фекалиями.

Ключевые слова: ингибитор PAR-2-рецепторов, ВЭЖХ-МС/МС, валидация, фармакокинетика, экскреция, моча, фекалии, крысы

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

Вклад авторов. И. И. Яичков проводил разработку и валидацию биоаналитических методик, анализ образцов животных. М. К. Корсаков отвечал за формулирование целей и задач, организационную часть исследования. Н. Н. Вольхин, В. Е. Зайкова, О. Э. Лазарянц отвечали за работу с лабораторными животными.

© Яичков И. И., Корсаков М. К., Вольхин Н. Н., Зайкова В. Е., Лазарянц О. Э., 2025

© Yaichkov I. I., Korsakov M. K., Volkhin N. N., Zaykova V. E., Lasaraynz O. E., 2025

Финансирование. Статья подготовлена в рамках государственного задания Ярославского государственного педагогического университета им. К. Д. Ушинского на 2024 год от Минпросвещения РФ по теме «Разработка нового лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний на основе ингибитора моноаминоксидазы» (номер реестровой записи 720000Ф.99.1.БН62АА12000).

Для цитирования: Яичков И. И., Корсаков М. К., Вольхин Н. Н., Зайкова В. Е., Лазарянц О. Э. Изучение экскреции нового производного 4,5-дигидроизоксазол-5-карбоксамиды. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(2):193–203. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1916>

The excretion study of a new derivative of 4,5-dihydroisoxazole-5-carboxamide

Ilya I. Yaichkov^{1,2}✉, Mikhail K. Korsakov², Nikita N. Volkhin^{1,2}, Valeria E. Zaykova^{1,2}, Olga E. Lasaraynz^{1,2}

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Yaroslavl State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 5, Revolutsionnaya str., Yaroslavl, 150000, Russia

² Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky. M. V. Dorogov Pharmaceutical Technology Transfer Center. 108/1, Respublikanskaya str., Yaroslavl, 150000, Russia

✉ **Corresponding author:** Ilya I. Yaichkov. **E-mail:** i.yaichkov@yspu.org

ORCID: Ilya I. Yaichkov – <https://orcid.org/0000-0002-0066-7388>;
Mikhail K. Korsakov – <https://orcid.org/0000-0003-0913-2571>;
Nikita N. Volkhin – <https://orcid.org/0000-0002-4275-9037>;
Valeria E. Zaykova – <https://orcid.org/0009-0008-9431-1980>;
Olga E. Lasaraynz – <https://orcid.org/0009-0002-1249-3669>.

Received: 27.08.2024

Accepted: 12.03.2025

Published: 14.03.2025

Abstract

Introduction. The new selective inhibitor of PAR-2 receptors, 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide (R004), is at the stage of preclinical trial. The excretion of R004 and its metabolites has not been studied before.

Aim. Investigation of excretion of R004 and its metabolites in urine and feces after a single oral and intraperitoneal administration of substance.

Materials and methods. The study was carried out on 2 groups of 6 Wistar rats. The R004 substance was administered orally to the first group at a dosage of 10 mg/kg, to the second group intraperitoneally at a dosage of 10 mg/kg. Biomaterial sampling was carried out with using metabolic cages. Urine was collected before administration of the drug and in the intervals of 0–4, 4–8, 8–12, 12–24, 24–48, 48–72, 72–96, 96–120 h after administration. Feces were collected before administration of the drug and in the intervals of 0–12, 12–24, 24–48, 48–72, 72–96, 96–120 h. The samples were analyzed using HPLC-MS/MS.

Results and discussion. The analytical range of the urine quantification method for R004 and 4-methoxy-3-(trifluoromethyl)aniline (M2) was 5–2000 ng/ml, and 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxylic acid (M1) – 100–40 000 ng/ml. In feces concentrations of R004 were measured in the range of 0.5–500.0 µg/g, M1 – 4–4000 ng/g, M2 – 40–40 000 ng/g. The main part of the drug and metabolites was excreted within 48 h after administration. Complete elimination was achieved after 96 h. R004 is excreted unchanged only with feces: 94.83 ± 0.78 % after oral administration and 67.04 ± 0.59 % after intraperitoneal administration (*M + m*). The metabolite M1 is mainly excreted by renal route, the metabolite M2 is mainly excreted through intestine.

Conclusion. Bioanalytical methods for determination of R004, M1 and M2 in urine and feces have been successfully validated. Most part of the R004 is eliminated unchanged by enteric route. M1 is excreted mainly in urine, M2 – mainly in feces.

Keywords: PAR-2 receptor inhibitor, HPLC-MS/MS, validation, pharmacokinetics, excretion, urine, feces, rats

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. Ilya I. Yaichkov carried out the development and validation of bioanalytical methods, analysis of animal samples. Mikhail K. Korsakov carried out formulation of aims and objectives, the organizational part of the study. Nikita N. Volkhin, Valeria E. Zaykova, Olga E. Lasaraynz carried out the experiment on laboratory animals.

Funding. The article was prepared within the framework of the State assignment of the Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky for 2024 from the Ministry of Education of the Russian Federation on the topic "Development of a new drug for the treatment of neurodegenerative diseases based on a monoamine oxidase inhibitor" (registry entry number 720000Ф.99.1.БН62АА12000).

For citation: Yaichkov I. I., Korsakov M. K., Volkhin N. N., Zaykova V. E., Lasaraynz O. E. The excretion study of a new derivative of 4,5-dihydroisoxazole-5-carboxamide. *Drug development & registration.* 2025;14(2):193–203. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1916>

ВВЕДЕНИЕ

Новое фармакологически активное соединение 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R004) (рисунок 1) находится на стадии доклинического исследования. Данная молекула является низкомолекулярным селективным ингибитором PAR-2-рецепторов и предназначена для терапии ревматоидного артрита. Фармакологическая активность R004 показана на модели формальдегидиндуцированного отека на крысах [1]. Его противовоспалительный эффект выше, чем у других производных 4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамидов и диклофенака натрия [1].

В ходе биотрансформации изучаемого соединения образуется два продукта гидролиза: 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновая кислота (M1) и 4-метокси-3-(трифторметил)анилин (M2) [2] (рисунок 1). Данные метаболиты, а также действующее вещество обладают линейной фармакокинетикой при пероральном введении крысам в диапазоне доз 10–40 мг/кг [3].

Изучение ренальной и внеренальной экскреции R004 ранее не проводилось. Исследование проб мочи при этом обязательно для расчета количества лекарственного средства (ЛС) и его метаболитов, выведенных через почки. При оценке внеренального пути возможно ограничиться анализом образцов кала, как в работах М. Р. М. Letertre с соавторами [4], S. Šturm с соавторами [5], С. Ма с соавторами [6], J. Qiu с соавторами [7], С. Н. Song с соавторами [8]. Для данных целей необходимо адаптировать биоаналитическую методику, использованную для определения R004, M1 и M2 в пробах плазмы животных [3]. Наиболее часто изучение экскреции проводят на том же виде животного, что и изучение системной экспозиции и распределения [6–8]. Поэтому данная работа будет выполнена на крысах.

В ходе исследования биотрансформации, которое проводилось с помощью внутрибрюшинной инъекции суспензии R004, в пробах фекалий крыс идентифицировано действующее вещество в неизменном виде. В моче данный анализ обнаружен не был [2]. Установлено также наличие энтерогепатической рециркуляции R004 [3]. При пероральном введении невозможно отличить выведенное с фекалиями в неизменном виде ЛС от невсосавшегося ЛС. Поэтому дополнительно будет проведено изучение экскреции R004 после внутрибрюшинной инъекции. Также это поможет дифференцировать экскретировавшиеся метаболиты от метаболитов, образовавшихся в ходе гидролиза при пресистемной элиминации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Аналитическое оборудование и стандартные образцы

Измерение концентраций R004 и его метаболитов осуществляли на хромато-масс-спектрометре, состоящем из жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, Германия) и tandemного масс-спектрометрического детектора QTRAP 5500 (AB Sciex Pte. Ltd., Сингапур); программное обеспечение Analyst 1.6.2 (AB SCIEX, США). Интегрирование хроматограмм проводилось с помощью программного пакета MultiQuant 3.0.5 (AB SCIEX, США).

В качестве стандартных образцов аналитов использовали субстанции 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (99,2%), 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновой кислоты (99,3%) (оба – ЦТФТ им. М. В. Дорогова ЯГПУ им. К. Д. Ушинского, Россия), 4-метокси-3-(трифторметил)анилина (99,0%, Alfa Aesar, США).

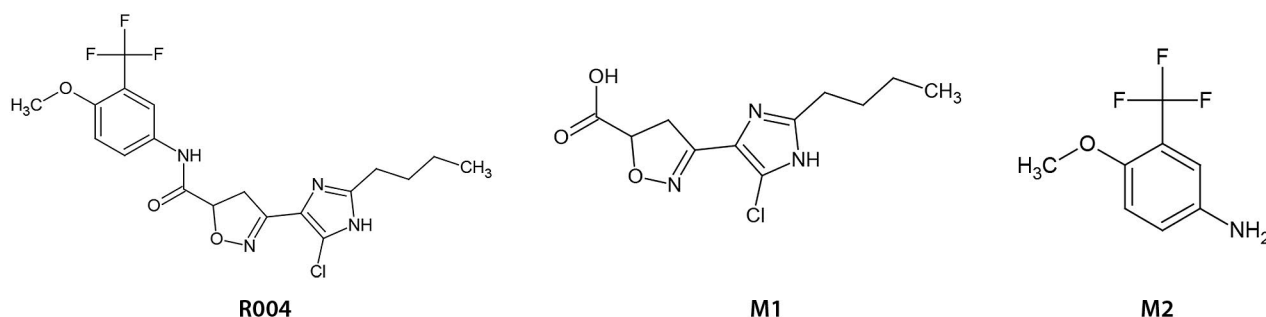


Рисунок 1. Структурные формулы 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R004) и его основных метаболитов 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновой кислоты (M1) и 4-метокси-3-(трифторметил)анилина (M2)

Figure 1. The structure of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide and its metabolites 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxylic acid (M1) and 4-methoxy-3-(trifluoromethyl)aniline (M2)

Раствор внутренних стандартов (ВС) готовился с применением субстанций 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[3,4-диметилфенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R002) (98,5%, ЦТФТ им. М. В. Дорогова ЯГПУ им. К. Д. Ушинского, Россия) и 4-хлоранилина (4CA) (рисунок 2).

Подготовка проб

Калибровочные образцы и образцы контроля качества (КК) мочи готовились путем добавления 10 мкл рабочего раствора аналитов в диметилсульфоксиде (х.ч., АО «ЭКОС-1», Россия) к 190 мкл холостого образца. Затем к смеси добавляли 40 мкл 250 мМ раствора ацетата аммония (HPLC-grade, High Purity Laboratory Chemicals Pvt. Ltd., Индия) с pH = 4,0 для предотвращения гидролиза R004 [2]. Концентрации градуировочных (K1–K8) проб, образцов КК нижнего (LQC), среднего (MQC) и верхнего (HQC) уровней концентраций и образцов для теста разведения (Dil) приведены в таблице 1. Пробоподготовку осуществляли путем разведения 25 мкл стабилизированной мочи 200 мкл ацетонитрильного раствора R002 и 4CA. Концентрация обоих ВС составляла 40 нг/мл. Далее смесь перемешивали на вортексе и центрифугировали 5 мин при 10 000 об/мин.

К холостым образцам фекалий крыс добавлялся ацетонитрил в соотношении 1:3 (масса/объем) и 1 шарик из нержавеющей стали ($d = 5$ мм). Смесь гомогенизировалась в течение 1 мин на гомогенизаторе Homogenizer Bioprep-6 (Allsheng, Китай) и центрифугировалась 5 мин при 3000 об/мин. К 190 мкл супернатанта добавляли 10 мкл комбинированного рабочего раствора R004, M1 и M2. Дополнительных мер по стабилизации образцов не требовалось [2]. Для пробоподготовки 50 мкл центрифугированного гомогената смешивали с 300 мкл ацетонитрильного раствора ВС, перемешивали и центрифугировали 5 мин при 10 000 об/мин.

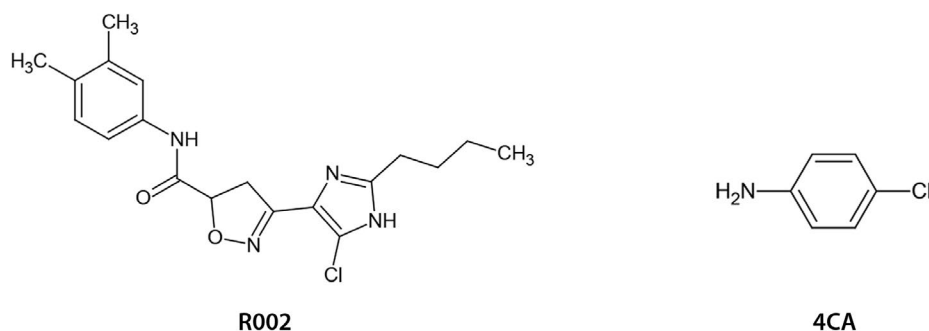


Рисунок 2. Структурные формулы внутренних стандартов 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[3,4-диметилфенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R002) и 4-хлоранилина (4CA)

Figure 2. Structural of internal standards of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[3,4-dimethylphenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide (R002) and 4-chloroaniline (4CA)

Таблица 1. Концентрации 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид и его метаболитов в калибровочных образцах и образцах контроля качества мочи и фекалий

Table 1. Concentrations of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazol-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide and its metabolites in calibration and quality control samples of urine and feces

| Образец Sample | Моча Urine | | | Фекалии Feces | | |
|-------------------|---|--------|------|---|------|--------|
| | Концентрация, нг/мл Concentration, ng/ml | | | Концентрация, нг/г Concentration, ng/g | | |
| | R004 | M1 | M2 | R004 | M1 | M2 |
| K1 (LLOQ) | 5 | 100 | 5 | 500 | 4 | 40 |
| K2 | 25 | 500 | 25 | 2500 | 20 | 200 |
| K3 | 100 | 2000 | 100 | 12 500 | 100 | 1000 |
| K4 | 250 | 5000 | 250 | 50 000 | 400 | 4000 |
| K5 | 500 | 10 000 | 500 | 125 000 | 1000 | 10 000 |
| K6 | 1000 | 20 000 | 1000 | 250 000 | 2000 | 20 000 |
| K7 | 1500 | 30 000 | 1500 | 375 000 | 3000 | 30 000 |
| K8 | 2000 | 40 000 | 2000 | 500 000 | 4000 | 40 000 |
| LQC | 15 | 300 | 15 | 1500 | 12 | 120 |
| MQC | 750 | 15 000 | 750 | 187 500 | 1500 | 15 000 |
| HQC | 1750 | 35 000 | 1750 | 437 500 | 3500 | 35 000 |
| Dil | 3500 | 70 000 | 3500 | 875 000 | 7000 | 70 000 |

Условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования

Для хроматографического разделения использовались колонка ZORBAX Eclipse Plus C18 (150 × 3,0 мм, 3,5 мкм) с предколонкой ZORBAX Eclipse Plus C18 (12,5 × 2,1 мм, 5,0 мкм). Подвижная фаза состояла из

0,2%-го раствора муравьиной кислоты (eluent additive for LC-MS, Scharlab, Китай) в воде и ацетонитрила (Optima™ LC/MS Grade, Fisher Chemicals, Бельгия). Для элюирования применялась градиентная программа, предназначенная для анализа R004, M1 и M2 в плазме крыс и кроликов [3]. Масс-спектрометрическое детектирование также проводили в режиме MRM (полярность – положительная) (таблица 2). Для понижения чувствительности определения R004 в фекалиях и M1 в моче регулировалась энергия соударения (CE) (таблица 2)

Таблица 2. Параметры масс-спектрометрического детектирования

Table 2. Parameters of mass spectrometric detection

| Вещества Compounds | SRM-переход SRM-transition | | | | Тип SRM-перехода Type of SRM-transition |
|-----------------------|-------------------------------|-----|------------------|------------------|---|
| | Q1 | Q3 | CE, eV CE, eV | | |
| | | | Моча Urine | Фекалии Feces | |
| R004 | 445 | 425 | 30 | 50 | Количественный Quantitative |
| | 445 | 200 | 40 | 85 | Контрольный Control |
| M1 | 272 | 200 | 47 | 25 | Количественный Quantitative |
| | 272 | 144 | 50 | 40 | Контрольный Control |
| M2 | 192 | 108 | 35 | 35 | Количественный Quantitative |
| | 192 | 123 | 25 | 25 | Контрольный Control |
| R002 | 375 | 226 | 30 | 30 | BC для R004 IS for R004 |
| 4CA | 128 | 93 | 30 | 30 | BC для M1 и M2 IS for M1 and M2 |

Примечание. Количественные SRM-переходы использовались для количественных расчетов; контрольные SRM-переходы использовались для подтверждения корректности идентификации.

Note. Quantitative SRM-transitions were used for quantitative calculations; control SRM transitions were used to confirm the correctness of identification.

Валидация биоаналитической методики

Валидация биоаналитических методик определения аналитов в моче и фекалиях крыс осуществлялась в полном объеме согласно требованиям Решения Совета ЕЭК от 3 ноября 2016 г. № 85 (приложе-

ние б) для хроматографических методов¹. Дополнительно изучалась воспроизводимость при повторном введении аналитической серии².

Дизайн исследования экскреции

Изучение экскреции R004 выполнено на 2 группах крыс линии Wistar по 6 особей. В каждую группу входило по 3 самца и 3 самки. Первой группе животных массой 260 ± 4 г (*M + m*) субстанция вводилась перорально. Второй группе крыс массой 244 ± 2 г (*M + m*) проводилась внутрибрюшинная инъекция изучаемого ЛС. Дозировка для обоих способов введения составила 10 мг/кг. Отбор проб экскретов осуществляли с помощью метаболических клеток в следующие временные промежутки:

- Образцы мочи: до введения препарата и в промежутки 0–4, 4–8, 8–12, 12–24, 24–48, 48–72, 72–96, 96–120 ч после введения.
- Образцы кала: до введения препарата и в промежутки 0–12, 12–24, 24–48, 48–72, 72–96, 96–1120 ч.

К пробам мочи сразу после окончания периода отбора добавлялся 250 мМ раствор ацетата аммония (рН = 4,0), фекалии гомогенизировались с ацетонитрилом в соотношении 1:3 (масса:объем). Образцы хранили в морозильной камере при температуре не выше -70 °C.

Статистические расчеты

Статистическая обработка данных проводилась с применением программного обеспечения StatSoft STATISTICA 10.0.1011 и Microsoft Excel 2016. Результаты в таблицах и тексте представлены в виде среднего арифметического со стандартной ошибкой среднего ($M \pm m$).

При расчете кумулятивной экскреции (M_e) и суммарной доли элиминированного действующего вещества и метаболитов выполнялся пересчет массы M1 и M2 на массу R004. При этом учитывалась доля продуктов гидролиза в исходной молекуле. Для M1 она составила 254 Да ($C_{11}H_{13}ClN_3O_2$), для M2 – 190 Да ($C_8H_7F_3NO$). Для расчетов использовали формулы:

$$m(R004)_{M1} = n(M1) \cdot 254 \text{ мкг/мкмоль,}$$

$$m(R004)_{M2} = n(M2) \cdot 190 \text{ мкг/мкмоль,}$$

¹ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207405/ Ссылка активна на 16.07.2024.

² ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m10-bioanalytical-method-validation-step-5_en.pdf. Accessed: 16.07.2024.

где $m(R004)_{M1/M2}$ – масса R004, элиминированная в виде M1/M2 (мкг); $n(M1/M2)$ – количество вещества M1/M2, экскретировавшегося с мочой или калом (мкмоль).

При расчете скорости экскреции (V_E) пересчет не проводился:

$$V_E = m(A)/T,$$

где $m(A)$ – масса анализа, экскретированная в период отбора (мкг); T – продолжительность периода отбора (ч).

Для проверки достоверности полученных результатов у каждого животного рассчитывалось соотношение суммарного количества вещества M1 ($n(M1)$) и M2 ($n(M2)$) по формуле:

$$R(M) = \frac{n(M1)_{urine} + n(M1)_{feces}}{n(M2)_{urine} + n(M2)_{feces}} \cdot 100\%,$$

где $R(M)$ – соотношение количества вещества метаболитов; $n(M1/M2)_{urine}$ – количество вещества M1/M2, элиминировавшегося с мочой; $n(M1/M2)_{feces}$ – количество вещества M1/M2, элиминировавшегося с фекалиями.

Среднее значение данного соотношения должно лежать в диапазоне 85–115 %. Это соответствует максимальной величине относительной погрешности (δ) ± 15 %, допустимой при оценке правильности биоаналитической методики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе валидации биоаналитических методик для определения R004, M1 и M2 в моче и фекалиях были подтверждены их селективность, линейность градуировочной зависимости, правильность и прецизионность, отсутствие влияния разведения пробы холостым образцом и матричных эффектов на их метрологические характеристики (таблица 3). Так, площади пиков R004, M1 и M2 в холостых пробах не превышали 20 % от площади пиков анализов в пробах с концентрацией на уровне нижнего предела количественного определения (LLOQ), а площади пиков BC не превышали 5 % от площади пиков LLOQ-проб. Величина относительной погрешности при внутрисерийных и межсерийных испытаниях находилась в допустимом диапазоне ± 15 % (± 20 % для LLOQ-образцов), а величина относительного стандартного отклонения (RSD) была менее 15 % (20 % для LLOQ-образцов)^{1,2}. Перенос R004 в холостые образцы мочи не

превышал 12,51 % от площади пика образцов LLOQ, R002 – 0,16 %, а перенос M1 и M2 не наблюдался. При анализе фекалий перенос анализов отсутствовал.

Доказана стабильность R004, M1 и M2 в течение 24 ч хранения при комнатной температуре (STS), 3 циклов замораживания/размораживания (FTS), 28 дней хранения в морозильной камере при температуре не выше -70 °C (LTS) в пробах мочи и фекалий (таблица 4). Также была подтверждена стабильность приготовленных образцов экскретов в автосемплере хроматографа в течение 48 ч (ASS) (таблица 4) и воспроизводимость результатов при повторном введении серии спустя 48 ч (см. таблицу 3).

После успешной валидации было проведено фармакокинетическое исследование на крысах (таблица 5). Установлено, что большая часть лекарственного средства выводится в неизменном виде с калом в первые 48 ч (см. рисунок 2). Доля экскреции в виде R004 при введении внутривентриально составляет $57,63 \pm 0,66$ %, а при введении перорально достигает $94,83 \pm 0,78$ % ($M \pm m$) (таблица 5). Такое различие вызвано тем, что при пероральном приеме биодоступность меньше, чем при внутривентриальной инъекции. Поэтому меньшее количество действующего вещества проникает в системный кровоток и подвергается ферментативному гидролизу. В пробах мочи R004 не обнаружен.

M1 выводится преимущественно через почки (таблица 5). Большая часть кумулятивной экскреции данного метаболита достигается в промежуток 4–12 ч после введения (рисунок 3). Самая высокая скорость ренальной экскреции наблюдается в первые 4 ч эксперимента при обоих способах (см. рисунок 2). После 48 ч концентрация M1 в большинстве проб мочи крыс ниже LLOQ методики.

Метаболит M2, как и действующее вещество, выводится преимущественно с калом. В моче обнаружены следовые количества M2: его доля составляет 0,01–0,02 % от общего количества R004 (таблица 5). После перорального введения у большинства животных M2 начинает экскретироваться спустя 24 ч, после внутривентриальной инъекции – спустя 12 ч. Основная часть M_E данного соединения достигается в течение 24–48 ч (см. рисунок 2). Наибольшая V_E M2 наблюдается в период 12–24 ч.

Соотношение суммарного количества вещества экскретировавшихся метаболитов M1 и M2 составило $103,94 \pm 3,83$ % при пероральном и $98,24 \pm 1,16$ % при внутривентриальном введении ($M \pm m$). Это укладывается в допустимый промежуток 85,0–115,0 %, что указывает на правильность измерений и отсутствие других основных путей выведения метаболитов.

Таким образом, основная часть R004 как в неизменном виде, так и в виде метаболитов элиминировается в первые 24–48 ч при обоих способах введения (рисунок 4). Спустя 72–96 ч выводятся остаточные количества изучаемых соединений. В период 96–120 ч содержание анализов в пробах находилось ниже LLOQ разработанных методик.

¹ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207405/ Ссылка активна на 16.07.2024.

² ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m10-bioanalytical-method-validation-step-5_en.pdf. Accessed: 16.07.2024.

Таблица 3. Результаты валидации методики определения 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид и его метаболитов в фекалиях и моче крыс

Table 3. Validation results of method of determination of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide and its metabolites in feces and urine of rats

| Параметр Parameter | Моча Urine | | | | | | Фекалии Feces | | | | | | |
|---|------------------------------|--------|--|--------|------------------------------|--------|------------------------------|--------|----------------------------|--------|--------------------------------------|--------|------|
| | R004 | | M1 | | M2 | | R004 | | M1 | | M2 | | |
| Аналитический диапазон Analytical range | 5–2000 нг/мл 5–2000 ng/ml | | 100–40 000 нг/мл 100– 40 000 ng/ml | | 5–2000 нг/мл 5–2000 ng/ml | | 0,5–500 мкг/г 5–2000 µg/g | | 4–4000 нг/г 4–4000 ng/g | | 40–40 000 нг/г 40– 40 000 ng/g | | |
| Селективность (% от площади пика образца LLOQ) Selectivity (% of peak area of the LLOQ sample) | R004 | BC IS | M1 | BC IS | M2 | BC IS | R004 | BC IS | M1 | BC IS | M2 | BC IS | |
| | 11,52 | 0,12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,24 | 0,14 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Правильность и прецизионность Accuracy and precision | δ, % | RSD, % | δ, % | RSD, % | δ, % | RSD, % | δ, % | RSD, % | δ, % | RSD, % | δ, % | RSD, % | |
| Серия 1 (n = 6*) Batch 1 (n = 6*) | LLOQ | 1,10 | 5,72 | 2,47 | 5,10 | –4,00 | 8,38 | –1,00 | 6,85 | 3,58 | 6,39 | 5,63 | 3,40 |
| | LQC | –3,61 | 6,93 | –4,99 | 8,24 | 1,34 | 6,08 | –0,33 | 5,81 | 3,03 | 5,35 | 3,34 | 7,31 |
| | MQC | –3,85 | 3,94 | –3,01 | 6,33 | –2,70 | 1,97 | –2,16 | 7,96 | 6,33 | 1,93 | 3,11 | 5,96 |
| | HQC | –1,92 | 3,00 | 0,74 | 4,58 | –2,53 | 4,94 | –0,55 | 3,36 | 1,64 | 4,91 | 2,76 | 2,86 |
| Серия 2 (n = 6*) Batch 2 (n = 6*) | LLOQ | 0,90 | 7,19 | 7,73 | 3,99 | 1,03 | 5,49 | –2,33 | 9,81 | 4,46 | 4,83 | 5,58 | 3,60 |
| | LQC | 0,73 | 5,70 | 2,39 | 8,89 | 0,21 | 4,42 | –3,22 | 5,43 | 3,00 | 4,06 | 4,41 | 4,28 |
| | MQC | 4,66 | 2,99 | –4,88 | 6,02 | 3,89 | 2,46 | 2,41 | 5,44 | 3,94 | 4,59 | 2,75 | 2,87 |
| | HQC | 2,59 | 3,58 | –0,52 | 3,82 | 2,90 | 3,06 | 1,10 | 3,36 | 0,09 | 3,30 | 1,80 | 2,78 |
| Серия 3 (n = 6*) Batch 3 (n = 6*) | LLOQ | 1,10 | 6,34 | –0,34 | 4,44 | 2,57 | 5,41 | –3,00 | 9,38 | 5,04 | 3,71 | 6,52 | 2,06 |
| | LQC | 3,09 | 3,09 | 4,41 | 6,54 | 3,51 | 4,59 | –1,33 | 5,04 | 1,79 | 5,97 | 2,33 | 6,48 |
| | MQC | 2,49 | 3,54 | 3,16 | 6,21 | 5,19 | 4,27 | 1,40 | 6,48 | 4,76 | 5,10 | 2,39 | 7,34 |
| | HQC | 1,57 | 4,12 | 2,98 | 2,52 | 3,51 | 4,31 | 0,33 | 2,72 | 1,02 | 3,13 | 2,44 | 3,41 |
| Межсерийная (n = 18*) Inter-batch (n = 18*) | LLOQ | 1,03 | 6,05 | 3,28 | 5,40 | –0,13 | 6,75 | –1,50 | 8,82 | 4,61 | 4,57 | 5,71 | 3,04 |
| | LQC | 0,07 | 5,82 | 0,60 | 8,51 | 1,69 | 4,97 | –2,36 | 5,11 | 2,90 | 5,10 | 4,87 | 5,04 |
| | MQC | 1,10 | 4,92 | –1,58 | 6,84 | 2,12 | 4,55 | –0,02 | 7,00 | 5,87 | 3,50 | 2,76 | 5,31 |
| | HQC | 0,75 | 3,92 | 1,07 | 3,80 | 1,29 | 4,77 | 0,40 | 3,24 | 0,43 | 3,78 | 2,52 | 2,94 |
| Воспроизводимость при повторном введении серии (48 ч) Reinjection reproducibility (48 ч) | LLOQ | –1,20 | 4,57 | 0,34 | 2,45 | 2,17 | 5,10 | –1,67 | 9,22 | 0,63 | 8,77 | 4,51 | 2,70 |
| | LQC | 2,61 | 2,97 | 2,60 | 5,95 | 1,83 | 3,83 | 0,56 | 5,26 | 2,19 | 4,94 | 0,01 | 5,34 |
| | MQC | 1,94 | 4,17 | –0,25 | 4,85 | 3,47 | 3,74 | –1,30 | 8,23 | 5,51 | 3,06 | 1,77 | 3,69 |
| | HQC | 3,38 | 3,02 | 1,88 | 2,49 | 2,20 | 4,12 | –0,05 | 2,64 | 0,89 | 3,12 | 1,39 | 2,99 |
| Эффект разведения (n = 6) Dilution integrity (n = 6) | X2 | 0,24 | 5,13 | –0,30 | 2,43 | 1,86 | 2,75 | 5,31 | 2,78 | 5,27 | 1,68 | 4,40 | 1,73 |
| Эффект матрицы (RSD NMF, %) Matrix effect (RSD NMF, %) | LQC | 6,58 | | 5,01 | | 2,83 | | 8,26 | | 3,75 | | 6,54 | |
| | HQC | 6,18 | | 6,61 | | 3,17 | | 5,67 | | 5,51 | | 6,19 | |

Примечание. * Количество проб на каждом уровне концентраций.

Note. * The number of samples at each concentration level.

Таблица 4. Результаты изучения стабильности 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид и его метаболитов в фекалиях и моче крыс

Table 4. Results of stability study of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide and its metabolites in feces and urine of rats

| Параметр Parameter | Температурный режим Temperature condition | Уровень концентрации Concentration level | % от номинального значения % of the nominal value | | | | | |
|-----------------------|--|---|--|-------|-------|------------------|------|------|
| | | | Моча Urine | | | Фекалии Feces | | |
| | | | R004 | M1 | M2 | R004 | M1 | M2 |
| STS (n = 6*) | Комнатная температура Room temperature | LQC | 0,34 | -0,64 | -1,47 | -0,44 | 2,63 | 2,89 |
| | | HQC | 0,46 | 0,74 | -1,36 | 1,44 | 2,25 | 2,68 |
| FTS (n = 6*) | Комнатная температура / не выше -70 °C Room temperature / no higher than -70 °C | LQC | 0,69 | -4,94 | -0,10 | 6,11 | 4,61 | 4,76 |
| | | HQC | 0,93 | 1,70 | -0,62 | 2,72 | 3,74 | 3,20 |
| ASS (n = 6*) | Не выше -4 °C (автосемплер) Not higher than -4 °C (auto-sampler) | LQC | 1,12 | -2,84 | -1,68 | 0,67 | 2,50 | 1,21 |
| | | HQC | 0,82 | 1,46 | -0,99 | 0,94 | 1,82 | 2,54 |
| LTS (n = 6*) | Не выше -70 °C No higher than -70 °C | LQC | 0,37 | -1,99 | 0,19 | 1,11 | 3,42 | 1,78 |
| | | HQC | 0,90 | 0,80 | -0,61 | -1,44 | 2,24 | 0,81 |

Примечание. * Количество проб на каждом уровне концентраций.

Note. * The number of samples at each concentration level.

Таблица 5. Результаты изучения экскреции 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид после перорального и внутрибрюшинного введения

Table 5. The results of excretion study of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide after oral and intraperitoneal administration

| Аналит Analyte | Путь выведения Route of excretion | Путь введения Route of administration | | | |
|--|--|--|--------|------------------------------------|--------|
| | | Пероральный Oral | | Внутрибрюшинный Intraperitoneal | |
| | | M ± m, % | RSD, % | M ± m, % | RSD, % |
| R004 | Моча Urine | 0 | - | 0 | - |
| | Фекалии Feces | 94,83 ± 0,78 | 2,00 | 57,63 ± 0,66 | 2,79 |
| | Суммарно, моча и кал Total, urine and feces | 94,83 ± 0,78 | 2,00 | 57,63 ± 0,66 | 2,79 |
| M1 | Моча Urine | 2,73 ± 0,46 | 41,27 | 23,82 ± 0,30 | 3,05 |
| | Кал Feces | 0,28 ± 0,08 | 73,23 | 0,22 ± 0,04 | 43,30 |
| | Суммарно, моча и кал Total, urine and feces | 3,01 ± 0,46 | 37,80 | 24,04 ± 0,30 | 3,03 |
| M2 | Моча Urine | 0,01 ± 0,00 | 72,38 | 0,02 ± 0,00 | 27,22 |
| | Кал Feces | 2,16 ± 0,31 | 35,67 | 18,31 ± 0,38 | 5,09 |
| | Суммарно, моча и кал Total, urine and feces | 2,16 ± 0,32 | 35,76 | 18,33 ± 0,38 | 5,10 |
| Метаболиты, суммарно Metabolites, total | Суммарно, моча и кал Total, urine and feces | 5,17 ± 0,78 | 36,69 | 42,37 ± 0,66 | 3,80 |
| | n(M1)/n(M2) | 103,94 ± 3,83 | 9,02 | 98,24 ± 1,16 | 2,90 |

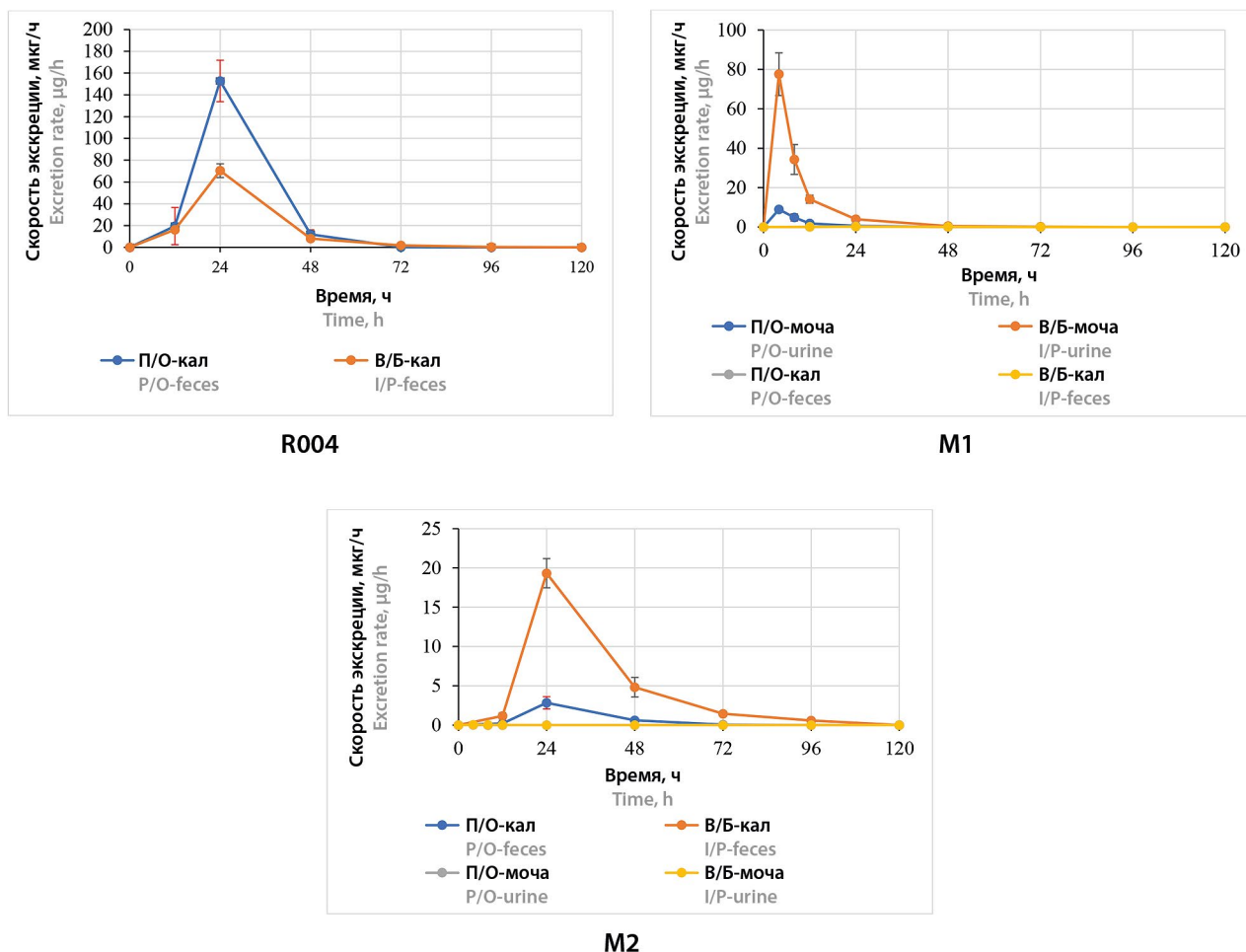


Рисунок 3. Скорость экскреции (со стандартной ошибкой среднего) 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид и его метаболитов после перорального и внутрибрюшинного введения субстанции.

Примечание. П/О – пероральное введение; В/Б – внутрибрюшинное введение

Figure 3. Rate of excretion (with standard error of mean) of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide and its metabolites after oral and intraperitoneal administration of the substance.

Note. P/O – oral administration; I/P – intraperitoneal administration

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биоаналитические методики количественного определения 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид и его метаболитов 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновой кислоты и 4-метокси-3-(трифторметил)анилина в моче и фекалиях были успешно валидированы. Установлено, что большая часть лекарственного препарата в неизменном виде, а также в виде М2 экскретируется с калом. Метаболит М1 выводится преимущественно ренальным путем. Основная часть кумулятивной экскреции изучаемых соединений достигается через 48 ч после

введения. Полная элиминация R004 наступает спустя 96 ч эксперимента. Более низкая доля выведения R004 в виде метаболитов при пероральном введении субстанции вызвана меньшей биодоступностью по сравнению с внутрибрюшинной инъекцией.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Korsakov M.K., Fedorov V.N., Smirnov N.A., Shetnev A.A., Leonova O.V., Volkhin N.N., Andreyev A.I. Screening of anti-inflammatory activity of 4,5-dihydroisoxazol-5-carboxamide (PAR-2 inhibitors) based on formaldehyde oedema model among white lab rats. *Research Results in Pharmacology*. 2023;9(4):105–111. DOI: 10.18413/rrpharmacology.9.10061.

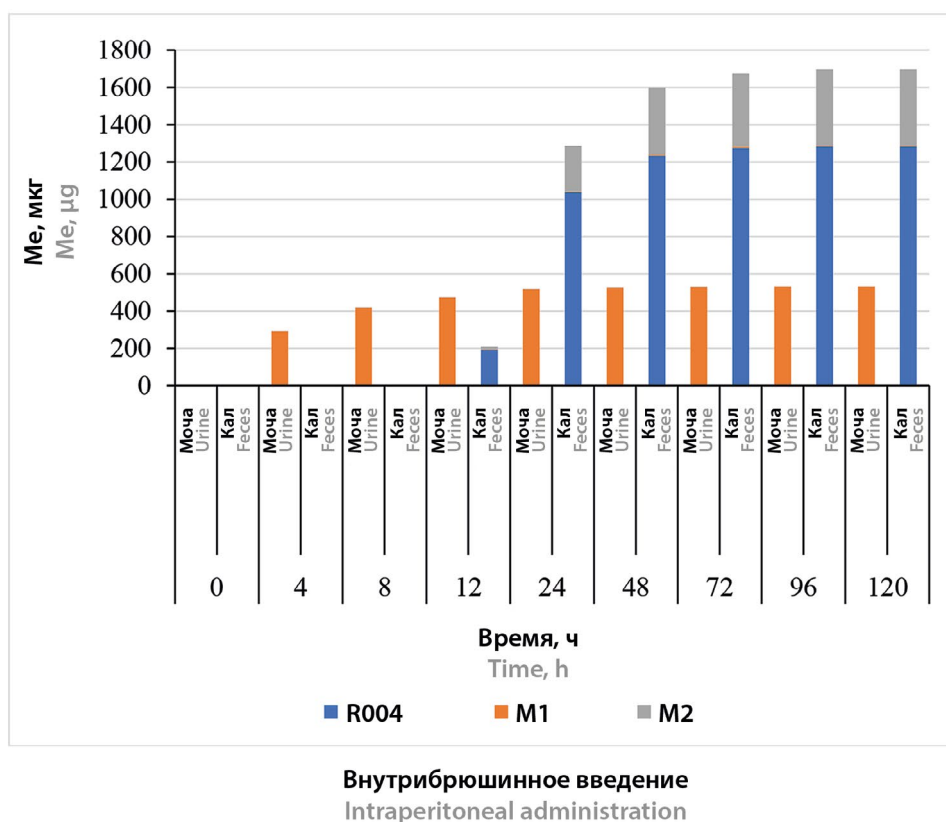
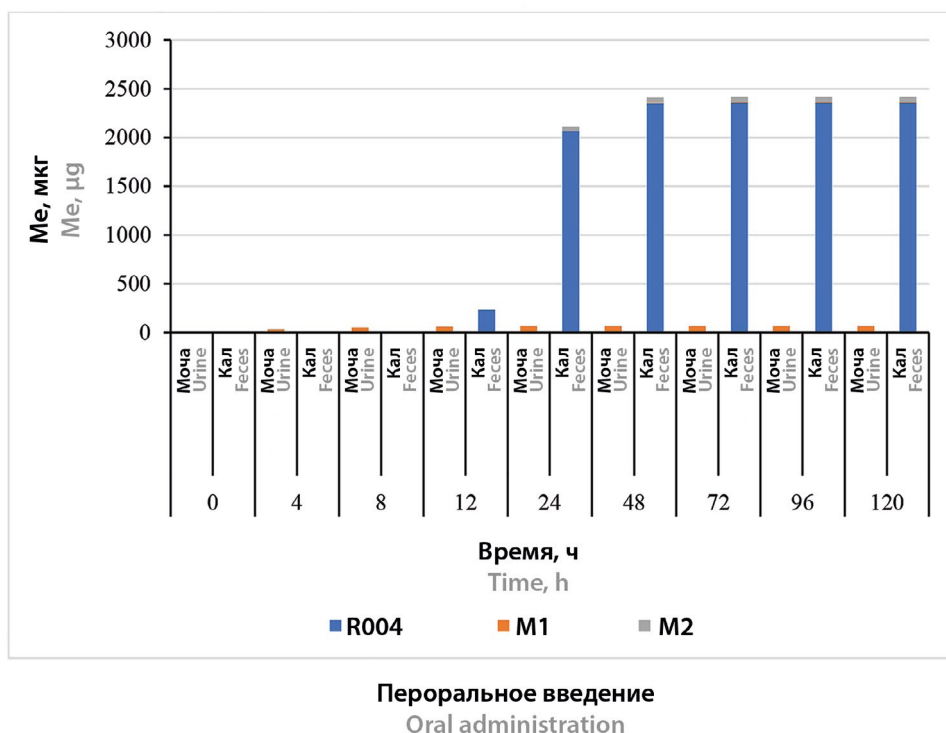


Рисунок 4. Кумулятивная экскреция 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамиды после перорального (П/О) и внутрибрюшинного (В/Б) введения субстанции

Figure 4. Cumulative excretion 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl)phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide after oral (П/О) and intraperitoneal (В/Б) administration of the substance

2. Khokhlov A. L., Yaichkov I. I., Alexeev M. A., Korsakov M. K., Shetnev A. A., Ivanovskiy S. A., Volkhin N. N., Petukhov S. S., Vasilyeva E. A. Identification and synthesis of metabolites of the new 4,5-dihydroisoxazol-5-carboxamide derivative. *Research Results in Pharmacology*. 2024;10(2):83–95. DOI: 10.18413/rrpharmacology.10.482.
3. Yaichkov I. I., Korsakov M. K., Volkhin N. N., Petukhov S. S., Tyushina A. N., Zaykova V. E., Lasaraynz O. E. Pharmacokinetic study of a new 4,5-dihydroisoxazole-5-carboxamide derivative in rats. *Drug development & registration*. 2024;13(4):238–250. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1876.
4. Letertre M. P. M., Munjoma N., Wolfer K., Pechlivanis A., McDonald J. A. K., Hardwick R. N., Cherrington N. J., Coen M., Nicholson J. K., Hoyles L., Swann J. R., Wilson I. D. A Two-Way Interaction between Methotrexate and the Gut Microbiota of Male Sprague–Dawley Rats. *Journal of Proteome Research*. 2020;19(8):3326–3339. DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00230.
5. Šturm S., Škibin A., Pogačnik M., Cerkvenik-Flajs V. Determination of free and total bisphenol A in the urine and feces of orally and subcutaneously dosed sheep by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2020;55(7):655–668. DOI: 10.1080/03601234.2020.1759329.
6. Ma C., Li D., Dang R., Gu Y., Li A., Zhao Y., Qi F., Liu J. Metabolism, pharmacokinetics, and bioavailability of yuanhuacine in rat using LC-MS. *Biomedical Chromatography*. 2023;37(2):e5540. DOI: 10.1002/bmc.5540.
7. Qiu J., Zhu M., Wang Y., Chen B., Bai R., Chen F., Li Y., Zhou Y., Zhang L. Pharmacokinetic and excretion study of eight active constituents in rat by LC-MS/MS after oral administration of the *Toddalia asiatica* extract. *Analytical Biochemistry*. 2022;640:114407. DOI: 10.1016/j.ab.2021.114407.
8. Song C. H., Kim K., Kang E., Jeong B., Lee M.-S., Jung J., Kim T. H., Shin S., Shin B. S. Determination of pharmacokinetics and tissue distribution of a novel lutetium-labeled PSMA-targeted ligand, ¹⁷⁷Lu-DOTA-PSMA-GUL, in rats by using LC–MS/MS. *Scientific Reports*. 2022;12(1):15452. DOI: 10.1038/s41598-022-19700-9.



Анализ особенностей планирования исследований биоэквивалентности с адаптивным дизайном для лекарственных препаратов, аналогов эндогенных соединений адеметионина

Н. Н. Ерёменко^{1,2}✉

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ Контактное лицо: Ерёменко Наталья Николаевна. E-mail: Eremenkon2014@gmail.com

ORCID: Н. Н. Ерёменко – <https://orcid.org/0000-0003-2385-7114>.

Статья поступила: 31.01.2025

Статья принята в печать: 14.03.2025

Статья опубликована: 14.03.2025

Резюме

Введение. Адаптивный дизайн клинических исследований биоэквивалентности представляет собой более гибкий подход, позволяющий вносить изменения в протоколы в ходе исследования на основании накопленных данных. Для лекарственных препаратов – аналогов эндогенных соединений, к которым относится адеметионин, это может быть рациональным выбором, учитывая присутствие их эндогенных концентраций, возможные физиологические колебания и гомеостатические механизмы. Поскольку адеметионин включен в клинические рекомендации МЗ РФ по лечению различных заболеваний печени, большой интерес вызывает разработка воспроизведенных препаратов, что требует тщательного планирования клинических исследований.

Цель. Анализ разрешенных протоколов клинических исследований биоэквивалентности с адаптивным дизайном для ЛП – аналога эндогенного соединения адеметионина, таблеток, покрытых кишечнорастворимой оболочкой.

Материалы и методы. В базе данных разрешенных клинических исследований ГРЛС МЗ РФ был проведен поиск протоколов по ключевым словам «адаптивный дизайн», «биоэквивалентность» за период с 2023 по 2024 год.

Результаты и обсуждение. В статье проводится анализ 9 протоколов биоэквивалентности с адаптивным дизайном по Potvin C лекарственных препаратов – аналогов эндогенного соединения адеметионина, таблеток, покрытых кишечнорастворимой оболочкой. Первичными конечными точками являлись фармакокинетические параметры C_{max} и AUC_{0-t} . В качестве оцениваемого аналита изучался адеметионин. В 77,8 % протоколов планировалась оценка эндогенного фона адеметионина с последующей коррекцией фармакокинетических показателей. В изучаемых протоколах расчет размера выборки не проводился, так как значение коэффициента внутрииндивидуальной вариации (CV_{intra}) C_{max} и AUC_{0-t} адеметионина в литературе не описано.

Заключение. Результаты анализа показали, что для разработки воспроизведенных препаратов адеметионина рациональным является корректно спланированное исследование биоэквивалентности с выбором адаптивного дизайна (до момента публикации в специализированной литературе значений CV_{intra} адеметионина), с оценкой эндогенного фона. Учитывая модифицированную лекарственную форму, в клинической разработке данных препаратов необходимым является проведение исследований биоэквивалентности с приемом препаратов натощак и после приема пищи.

Ключевые слова: биоэквивалентность, эндогенные вещества, адаптивный дизайн, коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности, адеметионин

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Н. Н. Еременко – идея, планирование исследования, разработка дизайна исследования, сбор и систематизация данных литературы и данных руководящих документов и протоколов исследований, проведение сравнительного анализа, обобщение результатов исследования, формулировка выводов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

Соответствие принципам этики. Все анализируемые одобренные протоколы клинических исследований соответствовали принципам, установленным международными и национальными этическими стандартами. Каждый протокол клинического исследования был одобрен независимым этическим комитетом.

Для цитирования: Ерёменко Н. Н. Анализ особенностей планирования исследований биоэквивалентности с адаптивным дизайном для лекарственных препаратов, аналогов эндогенных соединений адеметииона. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(2):204–211. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2028>

Analysis of the features of planning bioequivalence studies with adaptive design for drug products analogous to endogenous compounds ademetonine

Natalia N. Eremenko^{1,2}✉

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 8/2, Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russia

² I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Natalia N. Eremenko. **E-mail:** Eremenkonn2014@gmail.com

ORCID: Natalia N. Eremenko – <https://orcid.org/0000-0003-2385-7114>.

Received: 31.01.2025

Accepted: 14.03.2025

Published: 14.03.2025

Abstract

Introduction. Adaptive design in clinical bioequivalence studies offers a more flexible approach, allowing for modifications to protocols during the trial based on accumulated data. This is particularly relevant for drugs that are analogs of endogenous compounds, such as ademetonine, due to the presence of endogenous concentrations, potential physiological fluctuations, and homeostatic mechanisms. Given that ademetonine is included in the clinical guidelines by the Ministry of Health of the Russian Federation for treating various liver diseases, there is significant interest in developing generic formulations, which necessitates careful planning of clinical studies.

Aim. The aim of this work is to analyze approved protocols for bioequivalence studies with adaptive designs for a drug product that is an analog of the endogenous compound ademetonine, specifically enteric-coated tablets.

Materials and methods. A search was conducted in the database of approved clinical trials by the State Register of Medicines of the Ministry of Health of the Russian Federation using keywords "adaptive design" and "bioequivalence" for the period from 2023 to 2024.

Results and discussion. The article analyzes nine bioequivalence protocols with adaptive designs related to Potvin C's methodology for drugs analogous to the endogenous compound ademetonine in enteric-coated tablet form. The primary endpoints were pharmacokinetic parameters C_{max} and AUC_{0-t} . Ademetonine was studied as the evaluated analyte. In 77.8 % of the protocols, there was a planned assessment of the endogenous background of ademetonine followed by adjustments to pharmacokinetic parameters. Sample size calculations were not performed in these protocols due to the lack of reported values for the coefficient of intra-individual variation (CV_{intra}) for C_{max} and AUC_{0-t} of ademetonine in literature.

Conclusion. The analysis results indicate that a well-planned bioequivalence study with an adaptive design (until CV_{intra} values for ademetonine are published in specialized literature) is rational for developing generic formulations of ademetonine, with an assessment of the endogenous background. Considering the modified dosage form, it is necessary to conduct bioequivalence studies with administration both fasting and after meals.

Keywords: bioequivalence, endogenous substances, adaptive design, coefficient of intra-individual variability, ademetonine

Conflict of interest. The author declare that he has no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Natalia N. Eremenko – idea generation, study planning, research design development, literature data collection and systematization, comparative analysis execution, summarizing research results, formulation of conclusions.

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal State Budgetary Institution "National Center for Expertise of Medical and Social Development" of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 056-00001-25-00 for applied scientific research (state registration number of research work 124022300127-0).

Compliance with the principles of ethics. All analyzed approved clinical trial protocols complied with the principles established by international and national ethical standards. Each clinical trial protocol was approved by an independent ethics committee.

For citation: Eremenko N. N. Analysis of the features of planning bioequivalence studies with adaptive design for drug products analogous to endogenous compounds ademetonine. *Drug development & registration.* 2025;14(2):204–211. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2028>

ВВЕДЕНИЕ

Адаптивный дизайн клинических исследований (КИ) представляет собой современный и гибкий подход, позволяющий вносить изменения в протоколы исследований на основе анализа накопленных данных (ICH E20: Adaptive Clinical Trials, 2024). Адаптивные дизайны все чаще используются в исследованиях биоэквивалентности (БЭ), они позволяют вносить изменения в исследование, изменять размер выборки на основе промежуточных результатов, что может быть особенно полезно в исследованиях с изучением лекарственных препаратов (ЛП) с высокой изменчивостью или неопределенностью в отношении индивидуальной вариабельности [1–5]. Данный дизайн КИ БЭ становится особенно актуальным для ЛП, являющихся аналогами эндогенных соединений, таких как адеметионин. С учетом наличия эндогенных концентраций, физиологических колебаний и гомеостатических механизмов адаптивный дизайн может быть рациональным выбором для разработки и изучения таких ЛП.

Адеметионин – это эндогенное соединение, ключевой донор метила в организме, участвующий в различных метаболических процессах, включая реакции метилирования ДНК, белков и липидов, а также в синтезе нейротрансмиттеров, фосфолипидов и глутатиона [6], что важно для функции печени и терапии ее патологий [7]. ЛП адеметионина включены в клинические рекомендации МЗ РФ по лечению различных заболеваний печени (клинические рекомендации МЗ РФ «Алкогольная болезнь печени», 2024; «Неалкогольная жировая болезнь печени», 2024; «Внутрипеченочный холестаз при беременности», 2024; «Лекарственные поражения печени (ЛПП) у взрослых», 2022).

При планировании исследований биоэквивалентности ЛП – аналогов эндогенных соединений необходимо учитывать эндогенные концентрации вещества с возможными физиологическими колебаниями, метаболические пути, насыщенность ферментов и обратимую взаимоконверсию, генетические полиморфизмы, циркадные ритмы и особые условия диеты [8]. По данным Corrillero Bravo A. et al. (2022) [9], у здоровых взрослых фоновые уровни адеметионина (S-аденозил-L-метионин, SAM) в плазме составляют около 120 ± 36 нМ. По данным S. H. Kirsch et al. (2009) [10] и J. Zhang et al. (2022) [11], фоновые уровни SAM в плазме крови здоровых людей составляют около 30–40 нг/мл. Известно, что на уровень SAM в плазме влияют такие факторы, как возраст, индекс массы тела и образ жизни, курение, веганская диета. Питательные вещества, участвующие в одноуглеродном метаболизме, такие как холин, метионин и S-аденозилгомоцистеин, тесно связаны с концентрацией SAM в плазме [11]. Генетические полиморфизмы, особенно в генах метионинаденозилтрансфера-

зы, также могут влиять на уровни SAM, известно, что в некоторых популяциях наблюдаются заметные гендерные эффекты [11].

Таким образом, разработка воспроизведенных ЛП адеметионина требует тщательного планирования КИ БЭ с учетом отнесения адеметионина к аналогам эндогенных соединений с обязательной оценкой эндогенного фона и с учетом разрабатываемой модифицированной лекарственной формы – таблеток, покрытых кишечнорастворимой оболочкой.

Цель исследования: проанализировать одобренные протоколы КИ БЭ с адаптивным дизайном для ЛП – аналога эндогенного соединения адеметионина на предмет особенностей планирования, в частности обоснованности выбора данного дизайна, оценки соответствия достаточности определения эндогенного фона и расчета размера выборки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был использован информационно-аналитический метод для поиска и оценки ряда исследований БЭ разрешенных КИ в базе данных ГРЛС МЗ РФ по следующим ключевым словам: «адаптивный дизайн»; «биоэквивалентность» – за период с 2023 по 2024 год. Из выбранных одобренных протоколов анализировали протоколы исследований БЭ с адаптивным дизайном для ЛП – аналога эндогенного соединения адеметионина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По запросу в базе данных ГРЛС МЗ РФ по поисковым словам «адаптивный дизайн», «адеметионин» было найдено 14 клинических исследований, из них 9 – исследования БЭ (по данным на декабрь 2024 г.) (таблица 1). Было проанализировано 9 (2 от 2023 г. и 7 от 2024 г.) протоколов БЭ с адаптивным дизайном ЛП адеметионина в лекарственных формах «таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, 400 мг и 500 мг».

Согласно правилам проведения исследований БЭ [Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза, утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г., № 85, Москва (2016)] до начала КИ БЭ необходимо с помощью теста сравнительной кинетики растворения (ТСКР) и количественного определения действующего вещества обосновать выбор серии референтного ЛП, планируемого к изучению в исследовании БЭ.

Согласно Фармакопее ЕАЭС (Фармакопея Евразийского экономического союза, 2020 г.; р.2.1.9.3.) и Европейской фармакопее (Европейская фармакопея 11.7; р.5.17.1.) для ЛП с отсроченным высвобождением, которыми и являются таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, необходимыми усло-

виями проведения ТСКР являются проведение исследования в не менее чем двух временных точках:

1) в ранней временной точке для исключения высвобождения в кислой среде – кислотная стадия, $pH = 1,2$ (менее 10 % растворенного вещества через 2 ч);

2) в одной точке для обеспечения высвобождения основного количества действующего вещества в нейтральной или близкой к нейтральной среде – буферная стадия, $pH = 6,8$ (в течение 45 мин). Помимо этого, рациональным и обоснованным, согласно мнению европейского регулятора – EMA (Clinical pharmacology and pharmacokinetics: questions and answers), является дополнительное исследование в кислой среде с $pH 4,5$ (2 ч) с последующим исследованием в буферной среде с $pH 6,8$ (в течение 45 мин).

Таким образом, перед проведением КИ БЭ, согласно изучаемым протоколам, серии референтного препарата и изучаемого препарата уже были выбраны и показали эквивалентный профиль растворения в исследованиях *in vitro* (или были начаты данные исследования).

Для ЛП МНН адеметионин референтным ЛП является Гептрал®, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, «Эббви С.р.Л.», Италия (по данным ГРЛС МЗ РФ). Таким образом, данная лекарственная форма модифицированного высвобождения (отсроченное высвобождение) не является новой, и при составлении программы клинической разработки ЛП адеметионина в лекарственной форме «таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» рациональным будет руководствоваться информацией ч. VI приложения 10 правил проведения исследований БЭ [Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза, утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г., № 85, Москва (2016)]. Для подтверждения БЭ ЛП с модифицированным высвобождением требуются:

а) исследование с однократным дозированием исследуемого и референтного ЛП, проводимое натощак;

б) исследование с однократным дозированием исследуемого и референтного ЛП, проводимое после приема очень жирной пищи;

в) исследование с многократным дозированием исследуемого и референтного ЛП. Проведение исследования с многократным дозированием требуется во всех случаях возникновения накопления (кумуляции).

Оценка влияния пищи. Исследуемая лекарственная форма (таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой) относится к формам с модифицированным высвобождением, поэтому, согласно нормативным требованиям ЕАЭС [Правила проведения

исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза, утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г., № 85, Москва (2016)], EMA [Investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1), European Medicines Agency, London (2013)], необходимо проведение минимум двух исследований БЭ: с приемом ЛП натощак и после еды.

В рассмотренных протоколах был выбран адаптивный дизайн, по методу Potvin C в 8 протоколах и по методу Potvin B в 1 протоколе [13], так как в литературных источниках данные о значении коэффициента внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}) для фармакокинетических (ФК) показателей максимальной концентрации (C_{max}) и площади под кривой «концентрация – время» (AUC) адеметионина отсутствовали. Методология адаптивного дизайна по Potvin C заключалась в том числе в необходимом расчете мощности исследования. Так, если мощность исследования составляла $\geq 80\%$, оценка БЭ проводилась на этапе 1 с использованием $\alpha = 0,05$, при подтверждении БЭ исследование прекращалось. Если мощность составляла $< 80\%$, оценка БЭ проводилась с использованием $\alpha = 0,0294$. Если критерии БЭ были выполнены, исследование останавливалось; если критерии БЭ не были выполнены, был бы произведен пересчет размера выборки на основе оценки дисперсии на этапе 1 с $\alpha = 0,0294$ и включение дополнительных добровольцев для продолжения этапа 2. После завершения этапа 2 БЭ должна оцениваться с использованием данных обоих этапов, 1 и 2, с $\alpha = 0,0294$. О необходимости проведения этапа 2 становится известно по результатам завершеного исследования на этапе 1. Методология адаптивного дизайна по Potvin B отличается от метода Potvin C тем, что оценка сопоставимости биодоступности препаратов по фармакокинетическим параметрам после этапа 1 проводится с использованием уровня $\alpha = 0,0294$.

Первичными конечными точками во всех проанализированных протоколах исследований были ФК-параметры C_{max} и AUC_{0-t} , что согласуется с литературными данными [14].

Популяция исследования. Как правило, исследования воспроизведенного ЛП с модифицированным высвобождением проводятся с участием здоровых добровольцев. В изучаемых протоколах КИ БЭ популяция исследования представляла собой здоровых добровольцев. Помимо стандартных критериев включения/невключения, дополнительным критерием не включения в исследование были «генетические нарушения, влияющие на метиониновый цикл и/или вызывающие гомоцистинурию и/или гипергомоцистеинемию (дефицит цистатионин-бета-синтазы, нарушение метаболизма витамина B_{12})».

Таблица 1. Сводная таблица количества проанализированных исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов – аналогов эндогенных соединений адеметионина
Table 1. Summary table of the number of drugs analyzed in bioequivalence studies – analogues of endogenous ademetionine compounds

| № п/п | CV _{intra} | | N для 1 фазы N for Phase 1 | Определение эндогенного фона Determination of Endogenous Background | | |
|---|--|---|-------------------------------|---|--|---|
| | C _{max} | AUC | | Количество точек забора крови Number of Blood Sampling Points | | Метод учета эндогенного фона Method of Accounting for Endogenous Background |
| | | | | До приема препарата Before Administration | После приема препарата After Administration | |
| 1. (2023) (Натощак, 400 мг) 1. (2023) (Fasting 400 mg) | 28 % (ссылки нет) 28 % (no reference) | 28 % (ссылки нет) 28 % (no reference) | 38 | -24 ч, -12 ч, -6 ч, 0 (4 точки) -24 h, -12 h, -6 h, 0 (4 points) | через 30 мин, 1 ч, 2 ч, 2 ч 30 мин, 3 ч, 3 ч 30 мин, 4 ч, 4 ч 30 мин, 5 ч, 5 ч 30 мин, 6 ч, 7 ч, 8 ч, 10 ч, 12 ч, 16 ч и 24 ч (17 образцов крови) Through 30 min, 1 h, 2 h, 2 h 30 min, 3 h, 3 h 30 min, 4 h, 4 h 30 min, 5 h, 5 h 30 min, 6 h, 7 h, 8 h, 10 h, 12 h, 16 h, and 24 h (17 blood samples) | Среднее значение концентрации (по четырем точкам) вычиталось из концентраций для каждой временной точки после приема исследуемых препаратов The average concentration (from 4 points) was subtracted from concentrations at each time point after administration |
| | | | | | | |
| 4. (2024) [Натощак, 1000 мг (2 таб. по 500 мг)] 4. (2024) [Fasting 1000 mg (2 tablets of 500 mg each)] | Нет данных No data | Нет данных No data | 28 | -12 ч, -2 ч, -0,5 ч (3 точки) -12 h, -2 h, -0.5 h (3 points) | через 1 ч, 2 ч, 2 ч 30 мин, 3 ч, 3 ч 30 мин, 4 ч, 4 ч 30 мин, 5 ч, 5 ч 30 мин, 6 ч, 6 ч 30 мин, 7 ч, 8 ч, 10 ч, 12 ч, 24 ч (16 образцов) Through 1 h, 2 h, 2 h 30 min, 3 h, 3 h 30 min, 4 h, 4 h 30 min, 5 h, 5 h 30 min, 6 h, 6 h 30 min, 7 h, 8 h, 10 h, 12 h, 24 h (16 samples) | Среднее значение концентраций (по трем точкам) вычиталось из концентраций для каждой временной точки после приема исследуемых препаратов The average concentration (from 3 points) was subtracted from concentrations at each time point after administration |

Окончание таблицы 1

| № п/п | CV _{intra} | | N для 1 фазы N for Phase 1 | Определение эндогенного фона Determination of Endogenous Background | | |
|--|---|-----------------------|-------------------------------|--|---|---|
| | C _{max} | AUC | | Количество точек забора крови Number of Blood Sampling Points | | Метод учета эндогенного фона Method of Accounting for Endogenous Background |
| | | | | До приема препарата Before Administration | После приема препарата After Administration | |
| 5. (2024) [Натошак, 1500 мг (3 таб. по 500 мг)] 5. (2024) [Fasting 1500 (2 tablets of 500 mg each)] | Нет данных No data | | 44 | | | |
| 6. (2024) (После приема пи- щи, 1500 мг (3 таб. по 500 мг) 6. (2024) (Postprandial 1500 mg (3 tablets of 500 mg each) | Нет данных No data | Нет данных No data | 44 | -2 ч, -1 ч, -0,5 ч (3 точки) -2 h, -1 h, -0.5 h (3 points) | через 1 ч, 2 ч, 3 ч, 3 ч 30 мин, 4 ч, 4 ч 30 мин, 5 ч, 6 ч, 7 ч, 8 ч, 9 ч, 10 ч, 11 ч, 12 ч, 14 ч, 24 ч (16 образцов крови). Through 1 h, 2 h, 3 h, 3 h 30 min, 4 h, 4 h 30 min, 5 h, 6 h, 7 h, 8 h, 9h, 10 h, 11 h, 12 h, 14 h, 24 h (16 samples). | Среднее значение концентраций (по трем точкам) вычиталось из концентраций для каждой временной точки после приема ис- следуемых препаратов The average concentration (from 3 points) was subtracted from concentrations at each time point after administration |
| 7. (2024) [Натошак, 800 мг (2 таб. по 400 мг)] 7. (2024) [Fasting 800 (2 tab- lets of 400 mg each)] | Нет данных No data | | 44 | | | |
| 8. (2024) [После приема пи- щи, 1000 мг (2 таб. по 500 мг)] 8. (2024) [Postprandial 1000 mg (2 tablets of 500 mg each)] | Нет данных No data | Нет данных No data | 44 | -10 ч, -2 ч, -1 ч (3 точки) -10 h, -2 h, -1 h (3 points) | через 1 ч, 2 ч, 2 ч 30 мин, 3 ч, 3 ч 30 мин, 4 ч, 4 ч 30 мин, 5 ч, 5 ч 30 мин, 6 ч, 6 ч 30 мин, 7 ч, 8 ч, 10 ч, 12 ч, 24 ч (16 образцов) Through 1 h, 2 h, 2 h 30 min, 3 h, 3 h 30 min, 4 h, 4 h 30 min, 5 h, 5 h 30 min, 6 h, 6 h 30 min, 7 h, 8 h, 10 h, 12 h, 24 h (16 samples) | |
| 9. (2024) (Натошак, 400 мг) 9. (2024) (Fasting 400 mg) | Предположение 20-29 % Assumption 20-29 % | Нет данных No data | 44 | - в точке 0 (1 точка) At point 0 (1 point) | через 1; 2; 3; 3; 5; 4; 4; 5; 5; 5; 6; 7; 8; 12; 14; 16, 24 ч (16 образцов) Through 1, 2, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 7, 8, 12, 14, 16, 24 h (16 samples) | Учет эндогенного фона не предусмотрен Accounting for endogenous background is not provided |

В качестве оцениваемого аналита во всех протоколах изучался адеметионин (S-аденозилметионин, SAM).

Согласно информации Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA), которое в 2021 году обновило руководство по БЭ по ФК конечным точкам¹, для ЛП – аналогов эндогенных соединений целесообразно определять исходные концентрации для каждого периода дозирования и выполнять коррекцию исходных данных в каждом периоде исследования. В 7 (77,8 %) из 9 анализируемых протоколов планировалась оценка эндогенного фона адеметионина с последующей коррекцией ФК-показателей. Для этого среднее значение концентрации, оцениваемое по трем или четырем точкам, вычиталось из концентраций для каждой временной точки после приема исследуемых препаратов. В 2 (22,2 %) из 9 протоколов оценка эндогенного фона не планировалась.

График отбора образцов крови для определения эндогенного уровня во всех протоколах отличался (см. таблицу 1), для определения эндогенного уровня в 7 (77,8 %) из 9 протоколов был предусмотрен отбор крови в среднем в трех точках до приема ЛП, при этом время значительно различалось.

График отбора образцов крови для оценки ФК-параметров различался незначительно (см. таблицу 1), длительность забора крови составила 24 ч. Всего планировалось отбирать в среднем 16 образцов крови (от 15 до 17 образцов) после приема препаратов на каждом из этапов исследования.

Расчет размера выборки. Во всех анализируемых протоколах расчет размера выборки не проводился, количество добровольцев различалось и составляло от 28 до 44 добровольцев (для 2 перекрестных исследований); 48 добровольцев (при выполнении четырехпериодного перекрестного исследования с 4 взаимодополняющими последовательностями 4 условий применения, при приеме натощак, а также после приема пищи с высоким содержанием жиров в определенное время до приема ЛП).

Обсуждение

Анализ протоколов КИ БЭ (2 в 2023 г. и 7 в 2024 г.) для ЛП адеметионина в лекарственной форме «таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, 400 мг и 500 мг» показал, что особенности проведения этих исследований заключаются в необходимости учета отнесения адеметионина к эндогенным веществам и особенностей изучения модифицированной лекарственной формы.

¹ Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA, United States Food and Drug Administration, New Hampshire, 2021. URL: <https://www.fda.gov/media/87219/download>.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты анализа показали, что для оценки сопоставимой биодоступности и БЭ воспроизведенных ЛП МНН адеметионина рациональным является корректно спланированное исследование БЭ с выбором адаптивного дизайна (до момента публикации в рецензируемых источниках литературы значений CV_{intra} ФК-параметров адеметионина), с оценкой эндогенного фона и корректировкой ФК-параметров. Учитывая модифицированную лекарственную форму (таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой), в клинической разработке данных ЛП необходимым является проведение исследований БЭ с приемом препаратов натощак и после приема пищи. Данные рекомендации могут быть использованы при разработке программы КИ воспроизведенных ЛП МНН адеметионина в модифицированной лекарственной форме.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lee J., Feng K., Xu M., Gong X., Sun W., Kim J., Zhang Z., Wang M., Fang L., Zhao L. Applications of Adaptive Designs in Generic Drug Development. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2021;110(1):32–35. DOI: 10.1002/CPT.2050.
2. Maurer W., Jones B., Chen Y. Controlling the type I error rate in two-stage sequential adaptive designs when testing for average bioequivalence. *Statistics in Medicine*. 2018;37(10):1587–1766. DOI: 10.1002/SIM.7614.
3. Hinds D., Sun W. An Adaptive Three-Arm Comparative Clinical Endpoint Bioequivalence Study Design With Unblinded Sample Size Re-Estimation and Optimized Allocation Ratio. *Pharmaceutical Statistics*. 2024;24(1):e2439. DOI: 10.1002/pst.2439.
4. Molins E., Labes D., Schütz H., Cobo E., Ocaña J. An iterative method to protect the type I error rate in bioequivalence studies under two-stage adaptive 2x2 crossover designs. *Biometrical Journal*. 2021;63:122–33. DOI: 10.1002/bimj.201900388.
5. Isogawa N., Grieve A., Ishii R., Maruo K. Performance Evaluation of Interim Analysis in Bioequivalence Studies. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2024;58(5):863–881. DOI: 10.1007/s43441-024-00664-z.
6. Francioso A., Fanelli S., d'Erme M., Lendaro E., Miraglia N., Fontana M., Cavallaro R. A., Mosca L. Pharmacokinetic properties of a novel formulation of S-adenosyl-L-methionine phytate. *Amino Acids*. 2021;53(10):1559–1568. DOI: 10.1007/S00726-021-03076-7.
7. Baden K. E. R., McClain H., Craig E., Gibson N., Draime J. A., Chen A. M. H. S-Adenosylmethionine (SAMe) for Liver Health: A Systematic Review. *Nutrients*. 2024;16(21):3668. DOI: 10.3390/nu16213668.
8. Marzo A., Rescigno A. Pharmacokinetics of endogenous substances: some problems and some solutions. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 1993;18(1):77–88. DOI: 10.1007/BF03220010.
9. Corriero Bravo A., Ligerio Aguilera M. N., Marziali N. R., Moritz L., Wingert V., Klotz K., Schumann A., Grünert S. C., Spiekerkoetter U., Berger U., Lederer A.-K., Huber R., Han-

- nibal L. Analysis of S-Adenosylmethionine and S-Adenosylhomocysteine: Method Optimisation and Profiling in Healthy Adults upon Short-Term Dietary Intervention. *Metabolites*. 2022;12(5):373. DOI: 10.3390/metabo12050373.
10. Kirsch S.H., Knapp J.-P., Geisel J., Herrmann W., Obeid R. Simultaneous quantification of S-adenosyl methionine and S-adenosyl homocysteine in human plasma by stable-isotope dilution ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2009;877(30):3865–3870. DOI: 10.1016/j.jchromb.2009.09.039.
 11. Zhang J., Liu H., Tang L., Lin H., Yao Y., Tong Y., Jin M., Wang K. Pharmacokinetics and food impact assessment of ademetionine enteric-coated tablet as an endogenous substance drug in healthy Chinese volunteers. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 2022;47(6):738–744. DOI: 10.1111/jcpt.13601.
 12. Potvin D., DiLiberti C. E., Hauck W. W., Parr A. F., Schuirman D. J., Smith R. A. Sequential design approaches for bioequivalence studies with crossover designs. *Pharmaceutical Statistics*. 2008;7(4):245–62. DOI: 10.1002/pst.294.
 13. Cameron B., Ferreira L., MacDonald I. D. Pharmacokinetic study of a novel oral formulation of S-adenosylmethionine (MSI-195) in healthy subjects: dose escalation, food effect and comparison to a commercial nutritional supplement product. *BMC Pharmacology and Toxicology*. 2020;21:88. DOI: 10.1186/s40360-020-00466-7.



биопром

6–7 ОКТЯБРЯ 2025
ГЕЛЕНДЖИК, РОССИЯ
«ГЕЛЕНДЖИК АРЕНА»

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ БИОПРОМ: ПРОМЫШЛЕННОСТЬ И ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА

Масштабная платформа для профессионального диалога разработчиков технологий, институтов развития, производителей, органов власти и деловых сообществ

В ФОКУСЕ БИОПРОМ'25

БИОТЕХМЕД

ИННОФУД

КОСМЕТИК
КОМПОНЕНТ

ЭКОБИО



Фармацевтика



Медицинские изделия
и оборудование



Медицинская
реабилитация



Персонализированная
медицина



Биотехнологии
для медицины



Геномная
медицина



Новые материалы
и технологии в медицине



IT в медицине



СРЕДИ СЕССИЙ ДЕЛОВОЙ ПРОГРАММЫ:

Инвестиции в биоэкономику
— инвестиции в будущее

Биомишени будущего:
приоритетные направления
для разработок в области
медицины и ориентиры
для промышленности

Биоэкономика в основе
счастливой жизни

**Полная версия деловой
программы уже доступна
на сайте**



WWW.BIOPROMFORUM.RU

Реклама 12+



Оценка психотропного действия нового производного хромонсодержащих аллилморфолинов на мышах линии BALB/c

М. М. Пучик^{1,2}, Д. Д. Шиц^{1,2}, Ю. И. Сысоев³✉, Н. М. Чернов¹,
И. А. Титович¹, С. В. Оковитый^{1,4}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, литера А

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ). Институт трансляционной биомедицины. 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук (ИФ РАН). 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой Российской академии наук (ИМЧ РАН). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 9

✉ Контактное лицо: Сысоев Юрий Игоревич. E-mail: susoyev92@mail.ru

ORCID: М. М. Пучик – <https://orcid.org/0000-0003-1281-4354>;
Д. Д. Шиц – <https://orcid.org/0009-0007-3804-0197>;
Ю. И. Сысоев – <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>;
Н. М. Чернов – <https://orcid.org/0000-0003-1278-8109>;
И. А. Титович – <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>;
С. В. Оковитый – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Статья поступила: 04.12.2024

Статья принята в печать: 09.04.2025

Статья опубликована: 11.04.2025

Резюме

Введение. Поиск эффективных подходов к лечению тревожных расстройств, в частности разработка и изучение препаратов с анксиолитическим действием, в настоящее время является одной из наиболее актуальных задач нейробиологических исследований. Исследование изменения поведения рыб *Danio rerio* под действием новой группы веществ – хромонсодержащих аллилморфолинов – выявило их способность оказывать дозозависимую седацию, а одно из соединений ряда – (Е)-4-[3-(6-хлор-4-оксо-4Н-хромен-3-ил)-4-циклогексилаллил]морфолин-4-ия хлорид (33а), помимо седативного, оказывало также противотревожное действие в низких концентрациях. *Danio rerio* является эволюционно гораздо более древним видом, чем человек, и поэтому структурные и функциональные различия между рецепторами могут быть весьма существенны, что делает необходимым проведение оценки фармакологического профиля новых соединений на трансляционной модели, имеющей больше генетических сходств с человеком, а именно на грызунах.

Цель. В проведенном исследовании было изучено влияние 33а на тревожное поведение, когнитивные функции и силу хвата мышей линий BALB/c при остром и хроническом введении.

Материалы и методы. Оценку фармакологической активности проводили с помощью тестов «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Черно-белая камера» (ЧБК), «Т-образный лабиринт», «Закапывание шариков», «Подвешивание за хвост» и «Сила хвата» на мышах линии BALB/c (по 15 особей в каждой группе) при остром введении 33а в дозах 1, 10 и 50 мг/кг и двухнедельном введении доз 1 и 10 мг/кг.

Результаты и обсуждение. При остром введении вещество в дозе 50 мг/кг уменьшало число закопанных шариков, а в дозе 10 мг/кг при хроническом введении снижало латентное время первого перехода из темной камеры в белую в тесте ЧБК, что можно рассматривать как проявления анксиолитического действия. Однако в классическом тесте ПКЛ не было каких-либо статистически значимых эффектов, свидетельствующих об анксиолитическом действии 33а. В исследовании не было выявлено негативного влияния изучаемого вещества на пространственную память и силу хвата мышей, что может свидетельствовать об отсутствии у него нейротоксического действия.

Заключение. Полученные результаты подтвердили способность соединения 33а оказывать дозозависимое угнетение локомоторной активности, однако этот эффект был продемонстрирован не во всех тестах. Дальнейшее расширение спектра используемых поведенческих тестов, а также использование экспериментальных моделей может позволить выявить специфическую активность соединения 33а, а также других хромонсодержащих производных аллилморфолина.

Ключевые слова: хромонсодержащие соединения, аллилморфолины, мыши, BALB/c, поведение

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

Вклад авторов. Ю. И. Сысоев, С. В. Оковитый – идея и планирование эксперимента. М. М. Пучик, Д. Д. Шиц – проведение экспериментов и обработка данных. М. М. Пучик – подготовка иллюстраций. М. М. Пучик, И. А. Титович, Ю. И. Сысоев, С. В. Оковитый – подготовка и редакция рукописи. Н. М. Чернов – синтез исследуемого вещества.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 23-75-01051.

Для цитирования: Пучик М. М., Шиц Д. Д., Сысоев Ю. И., Чернов Н. М., Титович И. А., Оковитый С. В. Оценка психотропного действия нового производного хромосодержащих аллилморфолинов на мышах линии BALB/c. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):213–224. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1993>

Evaluation of psychotropic effects of a novel chromone-containing allylmorpholine derivative in BALB/c mice

Maria M. Puchik^{1,2}, Daria D. Shitc^{1,2}, Yuriy I. Sysoev³✉, Nikita M. Chernov¹, Irina A. Titovich¹, Sergey V. Okovityi^{1,4}

¹ Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

² St Petersburg University, Saint Petersburg State University (SPbU). Institute of Translational Biomedicine. 7–9, Universitetskaya naberezhnaya, Saint-Petersburg, 199034, Russia

³ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. 6, naberezhnaya Makarova, Saint-Petersburg, 199034, Russia

⁴ N. P. Behtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences. 9, Akademika Pavlova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Yuriy I. Sysoev. **E-mail:** susoyev92@mail.ru

ORCID: Maria M. Puchik – <https://orcid.org/0000-0003-1281-4354>;

Daria D. Shitc – <https://orcid.org/0009-0007-3804-0197>;

Yuriy I. Sysoev – <https://orcid.org/0000-0003-4199-5318>;

Nikita M. Chernov – <https://orcid.org/0000-0003-1278-8109>;

Irina A. Titovich – <https://orcid.org/0000-0002-1343-4663>;

Sergey V. Okovityi – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Received: 04.12.2024

Accepted: 09.04.2025

Published: 11.04.2025

Abstract

Introduction. The search for effective approaches to the treatment of anxiety disorders, in particular, the development and study of drugs with anxiolytic action, is currently one of the most urgent tasks of neurobiological research. The study of behavioral changes in *Danio rerio* after exposure to a new group of substances – chromone-containing allylmorpholines – revealed their ability to exert dose-dependent sedation, and one of the compounds of the series – (E)-4-[3-(6-chloro-4-oxo-4H-chromene-3-yl)-4-cyclohexylallyl]morpholin-4-ium chloride (33a), in addition to sedative, also exerted anxiolytic action at low concentrations. *Danio rerio* is an evolutionary species much older than humans, and therefore the structural and functional differences between the receptors may be quite significant, making it necessary to evaluate the pharmacological profile of the new compounds in a translational model with more genetic similarities to humans, for example, in rodents.

Aim. The present study investigated the effects of 33a on anxiety behavior, cognitive functions, and grip strength of BALB/c mice after acute and chronic administration.

Materials and methods. Pharmacological activity was assessed using Open Field, Elevated Plus Maze, Light/Dark Box, T-maze, Marble burying, Tail suspension and Grip strength tests in BALB/c mice after acute administration of 33a at doses 1, 10 and 50 mg/kg, and two-week administration at doses 1 and 10 mg/kg.

Results and discussion. With acute administration, 33a at a dose of 50 mg/kg reduced the number of buried marbles, and at a dose of 10 mg/kg with chronic administration, it reduced the latency time of the first transition from a dark chamber to a white one in the Light/Dark Box test, which can be considered as manifestations of anxiolytic action. However, in the classical Elevated Plus Maze test, there were no statistically significant effects indicating the anxiolytic effect of 33a. The study did not reveal any negative effect of the studied substance on spatial memory and grip strength of mice, which may indicate the absence of its neurotoxic effect.

Conclusion. The results obtained confirmed the ability of compound 33a to exert dose-dependent inhibition of locomotor activity, however, this effect was not demonstrated in all tests. Further expansion of the range of used behavioral tests, as well as the use of experimental models may allow to reveal the specific activity of compound 33a, as well as other chromone-containing derivatives of allylmorpholine.

Keywords: chromone derivatives, allylmorpholines, mice, BALB/c, behavior

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. Yuriy I. Sysoev, Sergey V. Okovityi – experimental design and planning. Maria M. Puchik, Daria D. Shitc – experiment conduction and data analysis. Maria M. Puchik – visualization. Maria M. Puchik, Irina A. Titovich, Yuriy I. Sysoev, Sergey V. Okovityi – preparation and editing of manuscripts. Nikita M. Chernov – synthesis of the investigated substance.

Funding. The work was supported by Russian Science Foundation grant 23-75-01051.

For citation: Puchik M. M., Shitc D. D., Sysoev Yu. I., Chernov N. M., Titovich I. A., Okovityi S. V. Evaluation of psychotropic effects of a novel chromone-containing allylmorpholine derivative in BALB/c mice. *Drug development & registration*. 2025;14(2):213–224. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1993>

ВВЕДЕНИЕ

Хромонсодержащие производные аллилморфолина (ПАМ) – новая группа биологически активных соединений с предполагаемой психотропной активностью. При анализе фармакологического действия молекул данного ряда соединений с помощью метода Элмана была выявлена их способность к ингибированию ацетил- и бутирилхолинэстеразы, а также антагонистический эффект в отношении рецепторов N-метил-D-аспартата в исследовании «патч-кламп» [1].

В серии экспериментов на рыбах *Danio rerio* ПАМ продемонстрировали выраженный дозозависимый седативный эффект, а соединение 33a в малых дозах оказывало анксиолитическое действие в тестах «Новый аквариум» и «Черно-белая камера» [2], что значительно повысило интерес к изучению молекулы. В связи с этим возникла заинтересованность в дальнейшем изучении психотропной активности вещества на более высокоорганизованных тест-системах, эволюционно более близких к человеку [3], например грызунам.

Целью этой работы является изучение фармакологической активности молекулы 33a на мышах линии BALB/c при остром и хроническом введении в тестах «Открытое поле» (ОП), «Черно-белая камера» (ЧБК), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Т-образный лабиринт», «Подвешивание за хвост», «Сила хвата», «Закапывание шариков».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС от 22 сентября 2010 г., принципами Базельской декларации и требованиями Совета Евразийского экономического союза от 03.11.2016 г. № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств». Протокол эксперимента был утвержден биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава Рос-

сии. Были предприняты все меры для уменьшения числа используемых животных и минимизации их страданий.

Эксперименты были выполнены на 105 мышам-самцах линии BALB/c массой 20–22 г, полученных из Филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Россия) двумя партиями и прошедших карантин в течение 14 дней. Мыши получали корм «Полнорацционный комбикорм для лабораторных животных» (ООО «Лабораторкорм», Россия) и воду, соответствующую требованиям ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая». Доступ к корму и воде был обеспечен *ad libitum*.

Животным из острой экспериментальной серии исследуемое вещество вводили за 20 минут до начала тестирования, с рандомизацией методом случайных чисел на 4 группы по 15 особей: 1) контроль (0,1 мл физиологического раствора); 2) 33a (1 мг/кг); 3) 33a (10 мг/кг); 4) 33a (50 мг/кг). Животные из хронической серии были рандомизированы методом случайных чисел на 3 группы по 15 особей: 1) контроль (0,1 мл физиологического раствора); 2) 33a (1 мг/кг); 3) 33a (10 мг/кг). Все инъекции были сделаны в эквивалентных количествах.

Исследуемое вещество – (E)-4-[3-(6-хлор-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-4-циклогексилаллил]морфолин-4-ия хлорид (33a) – было синтезировано отделом синтеза СПХФУ по раннее опубликованной методике [1].

Оценку влияния изучаемого соединения на поведение животных проводили с использованием тестов «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) «Черно-белая камера» (ЧБК), «Т-образный лабиринт» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), «Сила хвата», «Подвешивание за хвост» и «Закапывание шариков». Запись экспериментов ОП, ЧБК, ПКЛ, «Т-образный лабиринт», «Подвешивание за хвост» осуществляли на протяжении 5 минут; «Закапывание шариков» – 30 минут.

Все эксперименты были выполнены в интервале с 12:00 до 19:00. В тесте ОП оценивали пройденную дистанцию, число пересеченных сегментов, среднюю скорость, время в центре, общее время замираний, число замираний, стоек, грумингов и заглядываний в

норки. Видеозапись поведения животных осуществляли с использованием системы видеорегистрации VideoMot2 3.0.1 (TSE Systems GmbH, Германия).

В тесте ПКЛ оценивали время, проводимое животными в центре, в открытых рукавах (ОР) лабиринта, число посещений ОР и ЗР, число грумингов, стоек, свисаний с ОР и выглядываний из ЗР.

В тесте ЧБК анализировали время в светлой/темной камере, число переходов, число стоек, число грумингов, выглядываний и латентное время первого выхода в светлую камеру. Посадку животного осуществляли в светлую камеру, спиной к темной камере.

В тесте «Закапывание шариков» оценивали число закопанных шариков.

В тесте «Т-образный лабиринт» анализировали число переходов, стоек, грумингов и рассчитывали ко-

эффициент спонтанных альтераций (KS) (количество последовательных чередований выбора разных рукавов / количество всех выборов).

Установка «Подвешивание за хвост» была использована для расчета количества эпизодов иммобильности, их продолжительности и оценки латентного времени до первого эпизода иммобильности. Мышей подвешивали за ¼ хвоста клейкой лентой.

В тесте «Сила хвата» анализировали силу хвата животных при хроническом введении З3а, для каждого животного проводили три измерения.

Помимо этого, для мышей из хронической экспериментальной серии проводили еженедельный мониторинг массы тела.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программного обеспечения GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Soft-

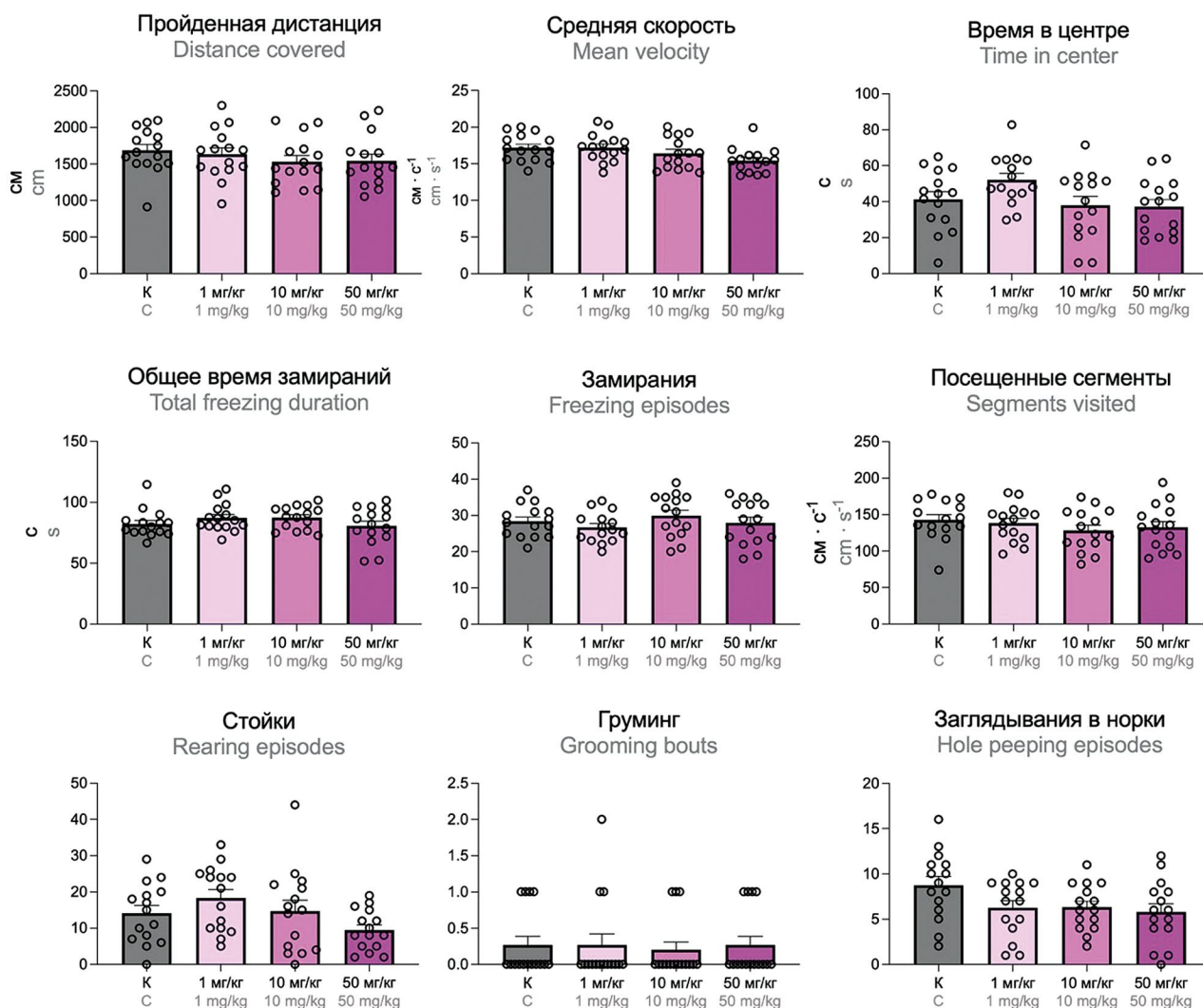


Рисунок 1. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Открытое поле» в остром эксперименте.

К – контроль (физиологический раствор)

Figure 1. Mice behaviour as assessed in the Open Field test in acute administration.

С – control (0.9 % saline solution)

ware, США). Осуществляли проверку нормальности распределения количественных признаков с использованием W-критерия Шапиро – Уилка. При нормальном распределении количественных признаков значимость различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с post-hoc-тестом по Даннетту; при ненормальном распределении – с помощью непараметрического критерия Краскела – Уоллиса с post-hoc-тестом по Данну. Числовые данные, приведенные на рисунках, представлены в виде: среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При введении указанного диапазона доз как в остром, так и в хроническом экспериментах отмечалась дозозависимая седация и прослеживалась тенденция к анксиолитическому действию при использовании низких доз.

Так, при остром введении вещества в указанных концентрациях в тесте ОП (рисунок 1) не было выявлено статистически значимых изменений в сравнении с контрольной группой, тогда как в хронической серии при дозе 1 мг/кг увеличивалось количество стоек ($p < 0,05$) (рисунок 2), а также отмечалась активация локомоторной активности, о чем свидетельствует увеличение пройденной дистанции, средней скорости и количества пересеченных квадратов (без статистической значимости).

В остром эксперименте в тесте ПКЛ исследуемый препарат в дозе 50 мг/кг (рисунок 3) значительно снижал число стоек и выглядываний из ЗР ($p < 0,01$), заходов в ЗР ($p < 0,05$). Помимо этого, введение аналогичной дозы сопровождалось угнетением локомоторной активности, о чем свидетельствовало уменьшение числа пересеченных квадратов ($p < 0,01$). Доза 1 мг/кг увеличивала количество актов груминга ($p < 0,05$). При хроническом введении ЗЗа (рисунок 4) паттерны по-

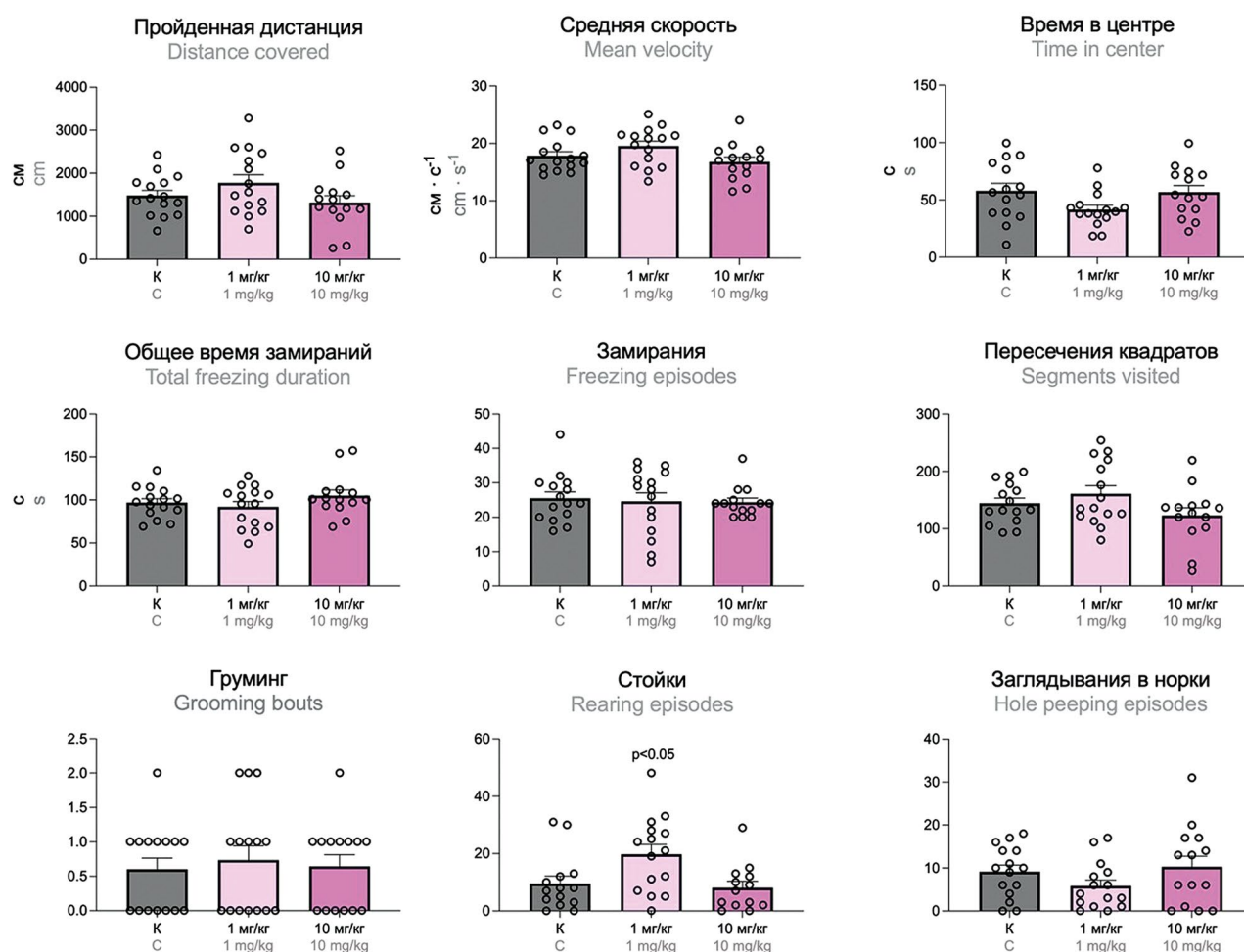


Рисунок 2. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Открытое поле» в хроническом эксперименте.

К – контроль (физиологический раствор)

Figure 2. Mice behaviour as assessed in the Open Field test in chronic administration.

С – control (0.9 % saline solution)

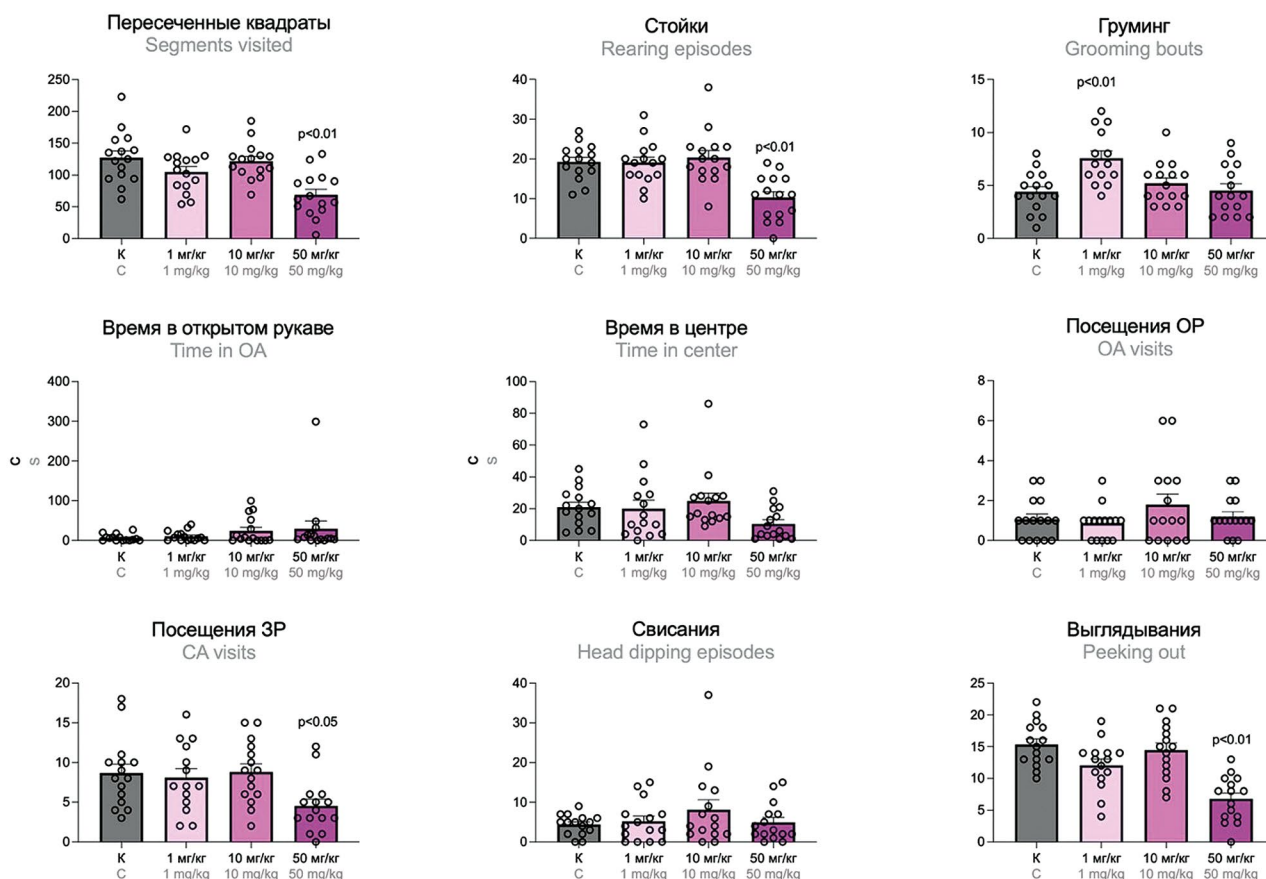


Рисунок 3. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в остром эксперименте.

ЗР – закрытые рукава; ОП – открытые рукава; К – контроль (физиологический раствор)

Figure 3. Mice behaviour as assessed in the Elevated Plus Maze test in acute administration.

CA – closed arms; OA – open arms; C – control (0.9 % saline solution)

ведения в данном тесте не отличались от таковых у контрольной группы.

По результатам теста ЧБК (рисунок 5) было выявлено, что острое введение дозы 50 мг/кг сопровождалось уменьшением числа выглядываний ($p < 0,05$). При 2-недельном введении доз 1 и 10 мг/кг (рисунок 6) снижалось латентное время первого перехода из темной камеры в светлую ($p < 0,05$). Кроме того, как при хроническом, так и при остром введении 33a в дозе 1 мг/кг наблюдалось некоторое увеличение числа переходов и стоек, однако эти эффекты не имели статистической значимости.

Важно отметить, что как при остром, так и при хроническом введении в тесте «Т-образный лабиринт» (рисунок 7) не наблюдалось изменений кратковременной пространственной памяти. При остром введении во всех дозах 33a возрастало ($p < 0,01$) количество актов груминга по сравнению с контролем.

В тесте «Закапывание шариков», который является моделью ноофобии, обсессивно-компульсивных

расстройств и тревожного поведения, число закопанных шариков снижалось при остром введении 33a (рисунок 8, А) в концентрации 50 мг/кг ($p < 0,05$). При хроническом введении (рисунок 8, Б) не было выявлено статистически значимых эффектов доз 1 и 10 мг/кг.

В тесте «Сила хвата» (рисунок 9) [4] после двухнедельного курса внутривенных инъекций вещества ни для одной из доз не было отмечено снижения мышечной силы, что может говорить об отсутствии нейротоксического действия у соединения 33a. Масса тела при хроническом введении доз 1 и 10 мг/кг была ниже в сравнении с контрольной группой на 4-й неделе введения ($p < 0,05$ для обеих доз), но не меньше первоначальных значений.

Вещество 33a не оказывало статистически значимого влияния на поведение животных в тесте «Подвешивание за хвост» ни при остром, ни при хроническом введении (рисунок 10) [5].

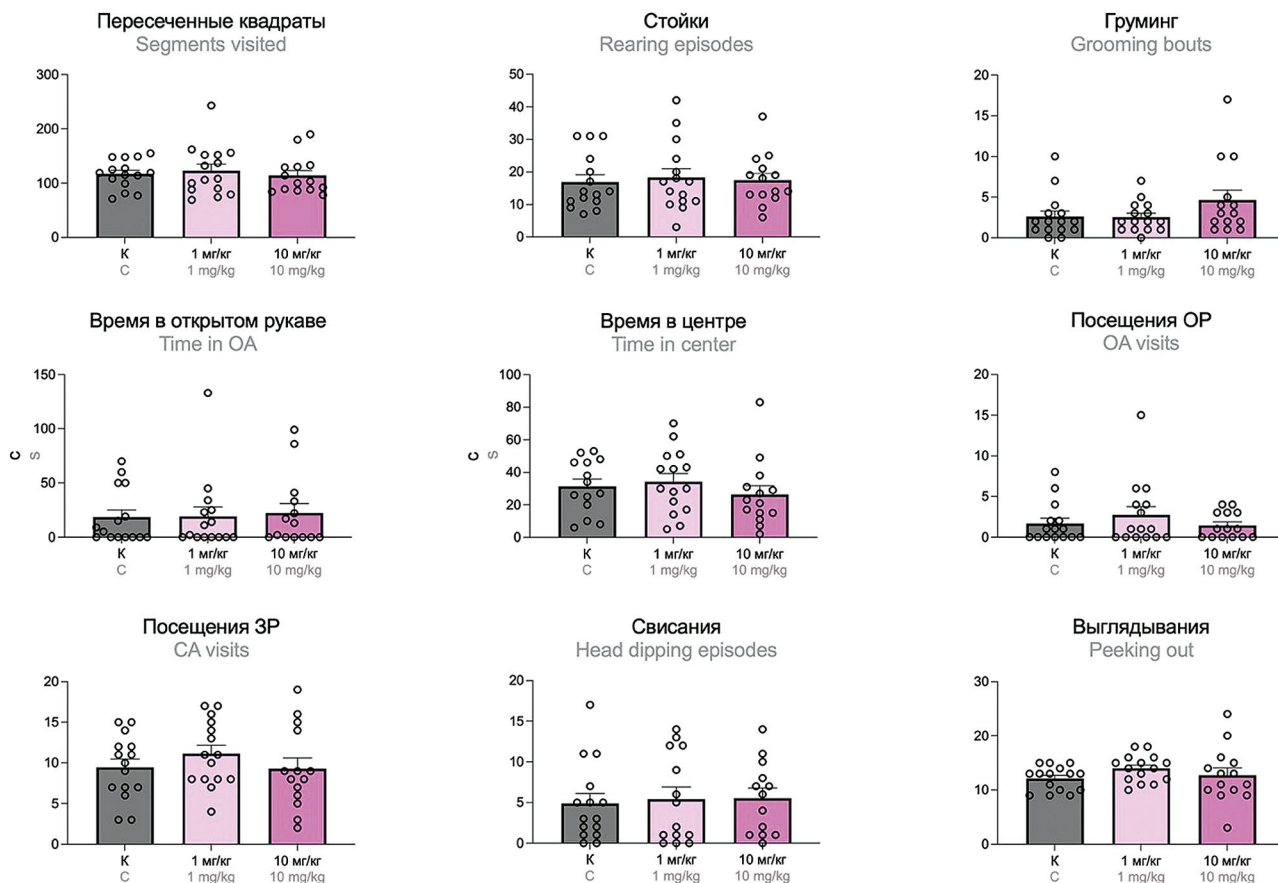


Рисунок 4. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в хроническом эксперименте.

ЗР – закрытые рукава; ОР – открытые рукава; К – контроль (физиологический раствор)

Figure 4. Mice behaviour as assessed in the Elevated Plus Maze test in chronic administration.

CA – closed arms; OA – open arms; C – control (0.9 % saline solution)

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенными экспериментами выявлено, что ПАМ 33а угнетает активность животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в дозе 50 мг/кг при остром введении. В работе не получено четких доказательств анксиолитического действия 33а, тем не менее было выявлено, что хроническое введение малых доз (1 мг/кг) в ЧБК – классическом поведенческом тесте, предназначенном для оценки транквилизирующей активности, – способствовало снижению латентного времени до перехода из темной в светлую камеру и увеличению числа переходов, что может косвенно свидетельствовать о противотревожном действии. В тесте «Закапывание шариков» дозозависимо снижалось число закопанных шариков (при дозе 50 мг/кг, $p < 0,05$), что, с одной стороны, может быть обусловлено седативным действием, но также может свидетельствовать об анксиолитическом эффекте.

В другом классическом тесте – ПКЛ – изучаемое соединение не вызывало каких-либо значимых эф-

фектов, за исключением снижения числа пересеченных квадратов при остром введении дозы 50 мг/кг. Интересно, что результаты этого теста не всегда раскрывают противотревожные свойства веществ даже с доказанной транквилизирующей активностью. Так, при исследовании двух агонистов 5-HT_{1A} – 8-OH-DPAT и буспирона и агониста бензодиазепиновых рецепторов – хлордиазепоксида в ПКЛ классическая картина анксиолитического действия была получена лишь для последнего [6]. Важно, что противотревожные эффекты у грызунов могут быть вызваны не только введением антидепрессантов или бензодиазепиновых анксиолитиков через аллостерическую модуляцию ГАМК-а-R и усиления тормозного действия ГАМК на ЦНС. Так, атипичные нейролептики рисперидон и оланзапин, имеющие высокую степень сродства к 5-HT_{2A}- и D₂-дофаминовым рецепторам, также способны оказывать анксиолитическое действие при низких концентрациях и седацию при повышении дозы, хотя этот эффект и не является главным для данной фармакотерапевтической группы [7]. В

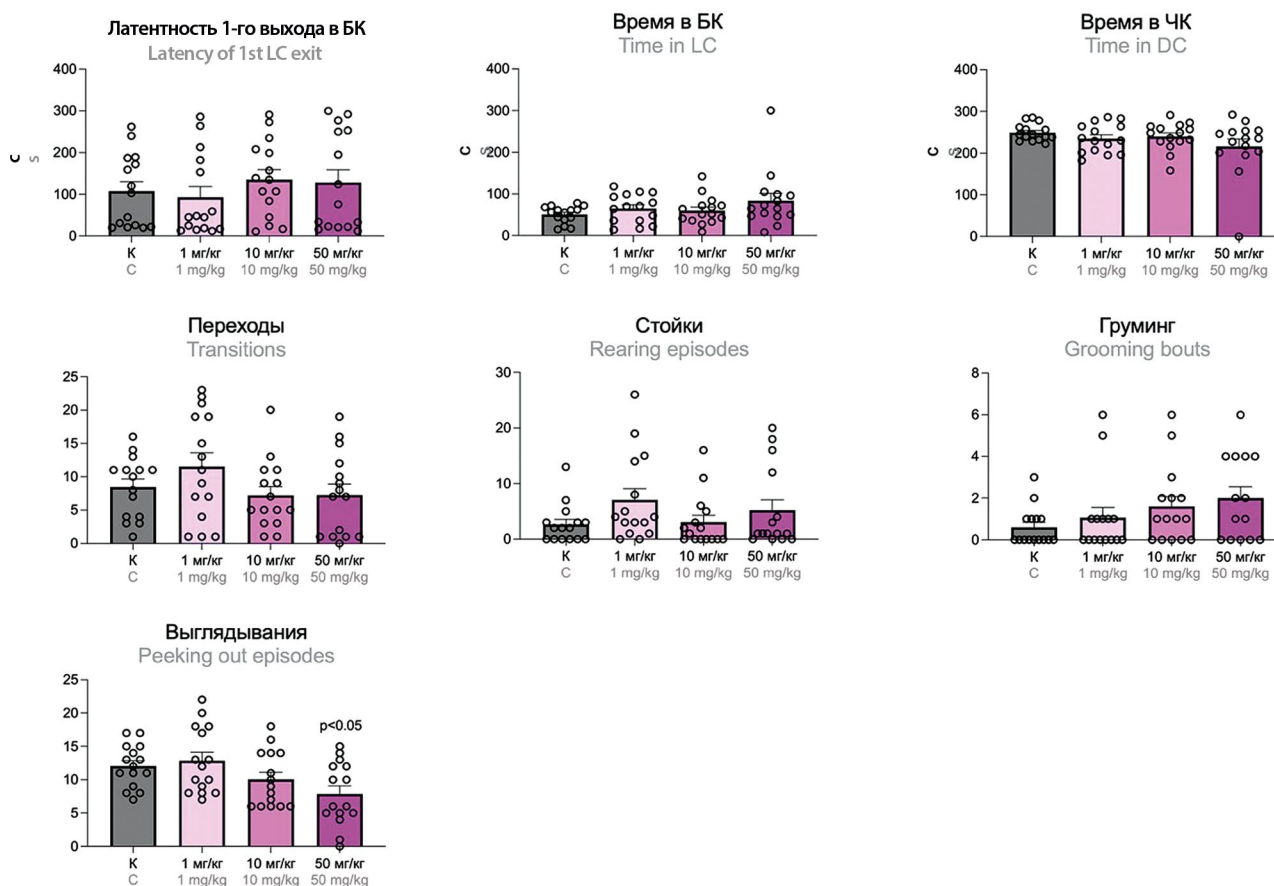


Рисунок 5. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Черно-белая камера» в остром эксперименте.

ЧК – черная камера; БК – белая камера; К – контроль (физиологический раствор)

Figure 5. Mice behaviour as assessed in the Light/Dark Box test in acute administration.

DC – dark chamber; LC – light chamber; C – control (0.9 % saline solution)

связи с этим расширение арсенала скрининговых моделей, в частности, для оценки потенциального антипсихотического действия 33а может принести интересные результаты.

Важно отметить, что проведение экспериментальной серии на инбредной линии мышей BALB/c, демонстрирующих адаптивную тревожность, не несло случайный характер. Имея высокую степень восприимчивости к стрессу [6], эта линия является эффективной для изучения стресса, тревожных расстройств и депрессивноподобных состояний. В сравнении с инбредной C57BL/6 и гибридной CB6F1/6J линиями линия BALB/c на основании показателей локомоции и дефекации в ОП, тестах с предъявлением нового объекта и ПКЛ оказалась наиболее тревожной [8]. Без учета характера эмоционально-стрессовой реакции лабораторных животных в разных тестах анксиолитический эффект может не выявиться.

Возможно, анксиолитическое действие, которое мы ожидали обнаружить в проведенных экспериментах, не является главным для исследованного вещества, и потому стоит направить фокус внимания на

поиски других видов активности, сопровождающихся противотревожным эффектом. Например, такое действие может быть антипсихотическим или антидепрессивным. Тест «Подвешивание за хвост» не выявил антидепрессивных свойств вещества, но несмотря на то, что этот метод нашел довольно активное применение в нейрофармакологии, он далеко не всегда дает достоверные результаты. Так, например, в исследовании Тцучими [9] мыши линий BALB/c и C57BL/6J подвергались хроническому стрессу ограничения (CSD) по 6 часов в течение 21 дня, в результате чего уровень кортикостерона – гормона стресса – значительно повышался в обеих группах (в особенности у первой линии). Помимо этого, линия BALB/c, но не C57BL/6J, показывала поведение, подобное ангедонии, в тесте предпочтения глюкозы. Однако в тесте «Подвешивание за хвост» ни одна из линий не демонстрировала депрессивного поведения, что еще раз подтверждает тот факт, что оценка профиля активности не может быть подтверждена лишь результатами этого поведенческого теста.

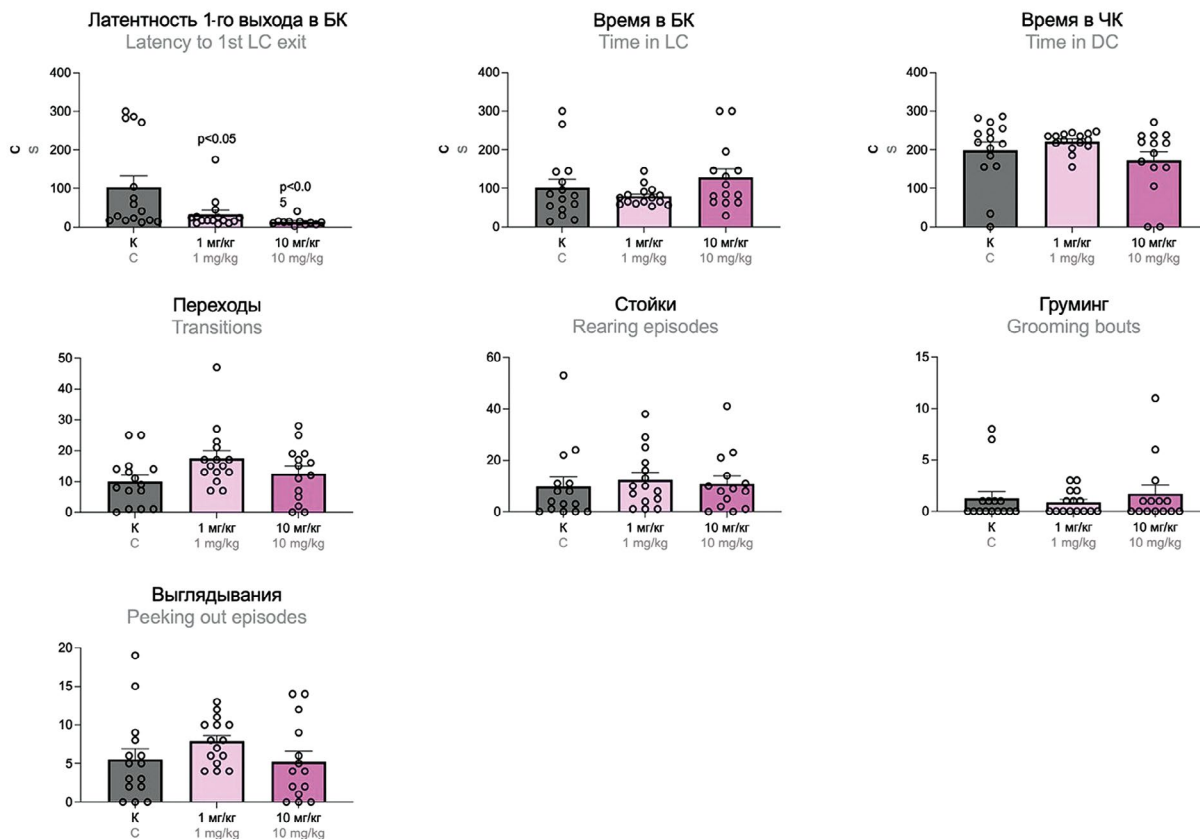


Рисунок 6. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Черно-белая камера» в хроническом эксперименте. ЧК – черная камера; БК – белая камера; К – контроль (физиологический раствор)

Figure 6. Mice behaviour as assessed in the Light/Dark Box test in chronic administration.

DC – dark chamber; LC – light chamber; C – control (0.9 % saline solution)

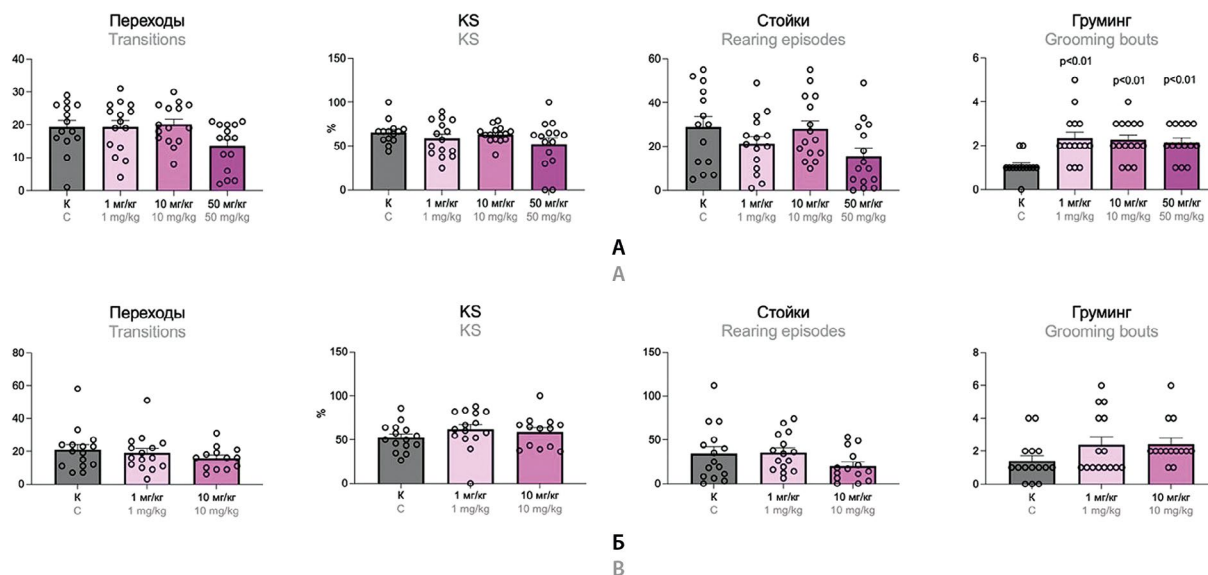


Рисунок 7. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Т-образный лабиринт»:

А – при остром; Б – при хроническом введении. KS – число спонтанных альтераций; К – контроль (физиологический раствор)

Figure 7. Mice behaviour as assessed in the "T-shaped maze" test:

А – in acute; B – in chronic administration. KS – number of spontaneous alterations; C – control (0.9 % saline solution)

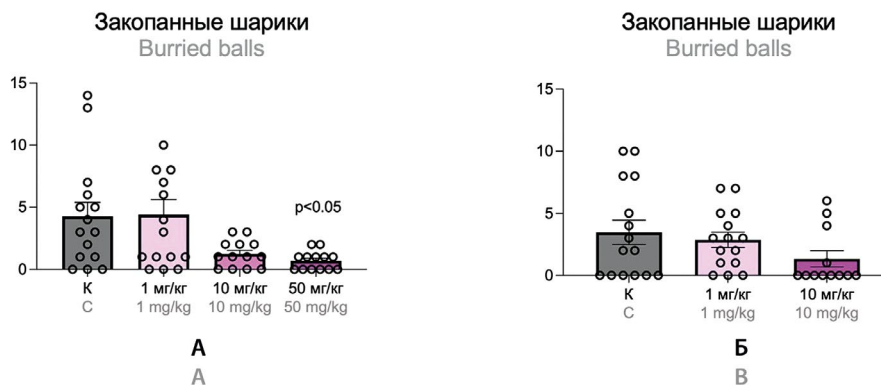


Рисунок 8. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Закапывание шариков»:

A – при остром; **Б** – при хроническом введении. **К** – контроль

Figure 8. Mice behaviour as assessed in the "Marble burying" test:

A – in acute; **B** – in chronic administration. **C** – control (0.9 % saline solution)

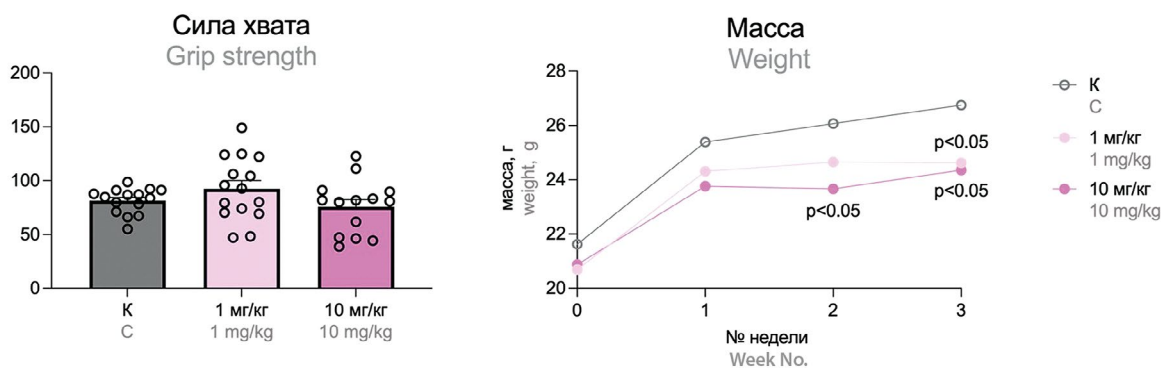


Рисунок 9. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Сила хвата» и измерения массы тела при хроническом введении.

К – контроль

Figure 9. Mice behaviour as assessed in the "Grip strength" test and body weight measurement in chronic administration.

C – control (0.9 % saline solution)

Безусловно, исследование антидепрессантов может и должно проводиться с применением поведенческих тестов, однако требует постановки моделей депрессивных состояний [10] или задействования нокаутных линий животных [11], в противном случае оценка эффективности препарата будет являться необъективной. Кроме того, в случае с СИОЗС повышение синаптического уровня серотонина активирует пресинаптические 5-НТ1А-рецепторы, действующие по механизму обратной связи, ингибируя высвобождение серотонина. На инактивацию и десенсibilизацию активности 5-НТ1А, как правило, требуется несколько недель, потому оценка эффективности препаратов с антидепрессивным механизмом действия в трансляционных исследованиях предполагает иные временные рамки исследования – от нескольких недель до месяцев [12–13]. В

будущих исследованиях можно было бы проверить антидепрессивные свойства 33а на мышах линии BALB/c, но уже с моделированием депрессивноподобных состояний, например хронического непредсказуемого стресса, хронического стресса ограничения [14], с проведением дальнейшей оценки изменения поведения в таких тестах, как «Социальное взаимодействие», «Новый объект», «Предпочтение глюкозы», «Открытое поле», «Условная реакция активного избегания» [15–17].

В заключение следует отметить, что исследуемое вещество не оказывало негативного влияния на когнитивные функции в тесте спонтанного чередования, что позволяет выдвинуть предположение об отсутствии амнестического эффекта, характерного, например, для анксиолитиков бензодиазепинового ряда [18], таких как лоразепам [19] и диазепам [20], а

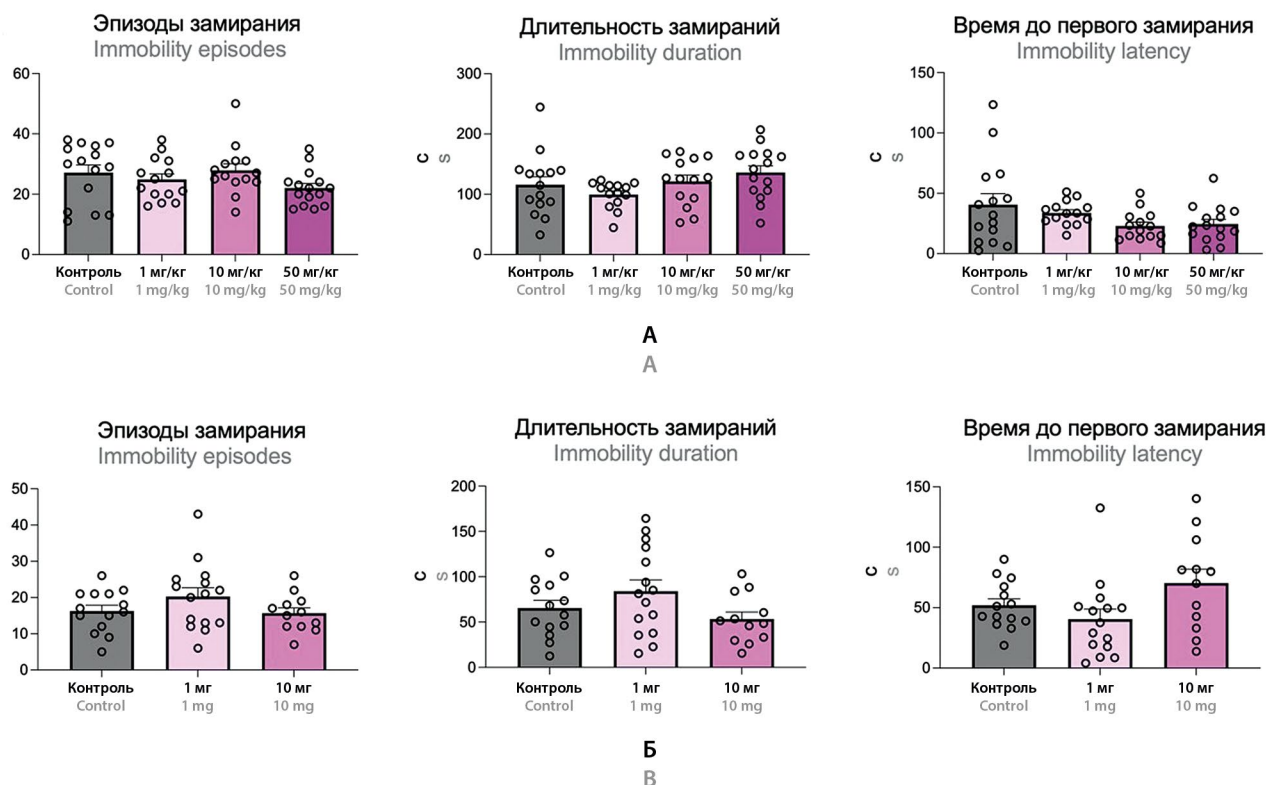


Рисунок 10. Результаты оценки поведения мышей в тесте «Подвешивание за хвост»:

А – при остром; **Б** – при хроническом введении. **К** – контроль (физиологический раствор)

Figure 10. Mice behaviour as assessed in the "Tail suspension" test:

A – in acute; **B** – in chronic administration. **C** – control (0.9 % saline solution)

также некоторых антихолинергических средств (скополамин) [21–22]. Соединение 33а не снижало силу хвата, что говорит о безопасности данного соединения при хроническом введении. С другой стороны, меньшая масса тела у групп 1 и 10 мг/кг по сравнению с контролем может говорить о снижении аппетита у животных, поскольку масса снижалась именно по сравнению с контролем, но не с исходными значениями до начала введения.

В дальнейших исследованиях соединения 33а наиболее рациональным представляется применение комплексного анализа, опирающегося как на поведенческие тестирования, в том числе на модели депрессивных и тревожных расстройств, введение агонистов-антагонистов, так и на электрофизиологические, молекулярно-генетические и биохимические методы исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования была подтверждена способность вещества к дозозависимой седации. При остром введении высоких доз в некоторых тестах достоверно отмечалось угнетение двигательной активности, а при хроническом вве-

дении малой дозы (1 мг/кг) отмечалась тенденция к анксиолитическому действию. Полученные результаты в некоторой степени свидетельствуют о низком токсическом профиле исследуемого вещества, что также обуславливает целесообразность и перспективы дальнейшего изучения соединения 33а.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Chernov N.M., Shutov R.V., Barygin O.I., Dron M.Y., Starova G.L., Kuz'mich N.N., Yakovlev I.P. Synthesis of Chromone-Containing Allylmorpholines through a Morita-Baylis-Hillman-Type Reaction. *European Journal of Organic Chemistry*. 2018;45(2018):6304–6313. DOI: 10.1002/ejoc.201801159.
- Prikhodko V.A., Sysoev Yu.I., Gerasimova E.V., Okovityi S.V. Novel Chromone-Containing Allylmorpholines Induce Anxiolytic-like and Sedative Effects in Adult Zebrafish. *Biomedicines*. 2022;10(11):2783. DOI: 10.3390/biomedicines10112783.
- Breschi A., Gingeras T.R., Guigó R. Comparative transcriptomics in human and mouse. *Nature Reviews Genetics*. 2017;18(7):425–440. DOI: 10.1038/nrg.2017.19.
- Munier J.J., Pank J.T., Severino A., Wang H., Zhang P., Vergnes L., Reue K. Simultaneous monitoring of mouse grip strength, force profile, and cumulative force pro-

- file distinguishes muscle physiology following surgical, pharmacologic and diet interventions. *Scientific Reports*. 2022;12(1):16428. DOI: 10.1038/s41598-022-20665-y.
5. Porsolt R.D., Bertin A., Jalfre M. Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. 1977;229(2):327–336.
 6. Lalonde R., Strazielle C. Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests in C57BL/6J and BALB/c mice injected with GABA- and 5HT-anxiolytic agents. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2010;24(3):365–376. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2009.00772.x.
 7. Rogóž Z., Skuza G. Anxiolytic-like effects of olanzapine, risperidone and fluoxetine in the elevated plus-maze test in rats. *Pharmacological Reports*. 2011;63(6):1547–1552. DOI: 10.1016/s1734-1140(11)70719-8.
 8. Tang X., Orchard S.M., Sanford L.D. Home cage activity and behavioral performance in inbred and hybrid mice. *Behavioural Brain Research*. 2002;136(2):555–569. DOI: 10.1016/s0166-4328(02)00228-0.
 9. Tsuchimine S., Matsuno H., O'Hashi K., Chiba S., Yoshimura A., Kunugi H., Sohya K. Comparison of physiological and behavioral responses to chronic restraint stress between C57BL/6J and BALB/c mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2020;525(1):33–38. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.02.073.
 10. Gururajan A., Reif A., Cryan J.F., Slattery D.A. The future of rodent models in depression research. *Nature Reviews Neuroscience*. 2019;20(11):686–701. DOI: 10.1038/s41583-019-0221-6.
 11. Wang Q., Timberlake M.A., Prall K., Dwivedi Y. The recent progress in animal models of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2017;77:99–109. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2017.04.008.
 12. Sánchez C., Meier E. Behavioral profiles of SSRIs in animal models of depression, anxiety and aggression. Are they all alike? *Psychopharmacology*. 1997;129(3):197–205. DOI: 10.1007/s002130050181.
 13. Silva S., Fonseca C., Bicker J., Falcão A., Fortuna A. Intranasal administration of sertraline ensures sustained brain delivery and antidepressant effect in a mouse model of depression. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2024;194:118–130. DOI: 10.1016/j.ejpb.2023.12.002.
 14. Krishnan V., Nestler E.J. Animal models of depression: molecular perspectives. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. 2011;7:121–147. DOI: 10.1007/7854_2010_108.
 15. Belovicova K., Bogi E., Csatlosova K., Dubovicky M. Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdisciplinary Toxicology*. 2017;10(1):40–43. DOI: 10.1515/intox-2017-0006.
 16. Lezak K.R., Missig G., Carlezon Jr W.A. Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 2017;19(2):181–191. DOI: 10.31887/DCNS.2017.19.2/wcarlezon.
 17. Wadenberg M.-L.G., Hicks P.B. The conditioned avoidance response test re-evaluated: is it a sensitive test for the detection of potentially atypical antipsychotics? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1999;23(6):851–862. DOI: 10.1016/s0149-7634(99)00037-8.
 18. Gamzu E.R. Animal Model Studies of Benzodiazepine-Induced Amnesia. In: Hindmarch I., Ott H., editors. *Benzodiazepine Receptor Ligands, Memory and Information Processing*. Berlin: Springer-Verlag; 1988. P. 218–229. DOI: 10.1007/978-3-642-73288-1_16.
 19. Kaplan K., Hunsberger H.C. Benzodiazepine-induced anterograde amnesia: detrimental side effect to novel study tool. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1257030. DOI: 10.3389/fphar.2023.1257030.
 20. Asth L., Lobão-Soares B., André E., de Paula Soares V., Gavioli E.C. The elevated T-maze task as an animal model to simultaneously investigate the effects of drugs on long-term memory and anxiety in mice. *Brain Research Bulletin*. 2012;87(6):526–533. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2012.02.008.
 21. De-Mello N., Carobrez A.P. Elevated T-maze as an animal model of memory: effects of scopolamine. *Behavioural Pharmacology*. 2002;13(2):139–148. DOI: 10.1097/00008877-200203000-00005.
 22. Yadang F.S.A., Nguezeze Y., Kom C.W., Betote P.H.D., Mamat A., Tchokouaha L.R.Y., Taiwi G.S., Agbor G.A., Bum E.N. Scopolamine-Induced Memory Impairment in Mice: Neuroprotective Effects of *Carissa edulis* (Forssk.) Valh (Apocynaceae) Aqueous Extract. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2020; 2020:6372059. DOI: 10.1155/2020/6372059.



Изучение биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum*

О. В. Пугачева, А. В. Бузлама, А. Ю. Кузнецов, О. В. Тринеева ✉

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

✉ Контактное лицо: Тринеева Ольга Валерьевна. E-mail: trineevaov@mail.ru

ORCID: О. В. Пугачева – <https://orcid.org/0009-0003-9170-3130>;
А. В. Бузлама – <https://orcid.org/0000-0003-4236-2387>;
А. Ю. Кузнецов – <https://orcid.org/0000-0002-1306-0569>;
О. В. Тринеева – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

Статья поступила: 22.10.2024

Статья принята в печать: 12.05.2025

Статья опубликована: 16.05.2025

Резюме

Введение. Арония Мичурина (*Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul.) – культивируемый вид, выведенный в конце XIX века в результате селекционных работ И. В. Мичурина по скрещиванию *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott с отдаленно родственными видами из рода рябины (*Sorbus*). Плоды данного растения давно используются в народной и традиционной медицине, являясь прежде всего источником антоциановых соединений. Листья в настоящее время являются только побочным продуктом при заготовке плодов, однако могут быть использованы в качестве перспективного источника таких групп БАВ, как флавоноиды, дубильные вещества, лейкоантоцианы, что обуславливает возможность использования данного сырья для получения лекарственных растительных препаратов (ЛРП). Поэтому первичные скрининговые исследования *in vitro* по оценке токсичности и биостимулирующего действия извлечений из листьев аронии Мичурина для оценки перспективности и определения направлений последующих доклинических испытаний следует считать актуальными.

Цель. Целью исследования являлось изучение биостимулирующего и мембранопротекторного действия извлечений из листьев аронии Мичурина (на примере отвара) *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка».

Материалы и методы. Листья аронии Мичурина для исследования заготавливали в различные периоды развития листовой пластинки (май, июнь, август и сентябрь 2023 г.) от растений, культивируемых на территории ФГБНУ «ФНЦ им. И. В. Мичурина» (г. Мичуринск, Тамбовская область). Для исследования готовили водные извлечения из исследуемого сырья по типу отвара в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» Государственной фармакопеи РФ для сырья, содержащего дубильные вещества. Для изучения биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина использовали *in vitro* тест-систему инфузорий *Paramecium caudatum* в стационарной фазе роста. Оценка биостимулирующего и мембранопротекторного действия изучаемого отвара проводили в тесте «Функциональная нагрузка» при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида.

Результаты и обсуждение. С использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка» установлено, что отвар листьев аронии Мичурина *in vitro* в разведении 1:10 во все сроки заготовки ЛРС снижает время выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида при инкубации в течение 24 ч максимально не менее чем на 43,5 % по сравнению с контрольной пробой, что, вероятно, свидетельствует о повышении проницаемости биологических мембран под влиянием дубильных веществ листьев и согласуется с их известным вяжущим и антибактериальным действием. Отвар листьев аронии Мичурина (при заготовке ЛРС в июне) *in vitro* в разведениях 1:1000 и 1:10 000, близких к диапазонам терапевтических доз, проявляет наибольшее биостимулирующее и мембранопротекторное действие, что подтверждается значительным достоверным повышением времени выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида максимально на 39,3 % по сравнению с контрольной пробой при инкубации в течение 24 ч, что, вероятно, связано с содержанием флавоноидов и лейкоантоцианов и согласуется с их известным капилляропротекторным и антиоксидантным действием.

Заключение. Отвар листьев аронии Мичурина (в разведении 1:1000 при заготовке ЛРС в июне) значительно достоверно повышает время выживаемости тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* при повреждающем воздействии раствора натрия хлорида в тесте «Функциональная нагрузка» максимально на 39,3 % по сравнению с контрольной пробой при инкубации в течение 24 ч, что свидетельствует о наличии биостимулирующего и мембранопротекторного действия.

Ключевые слова: листья, арония Мичурина, *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul., рябина черноплодная, биостимулирующее и мембранопротекторное действие, инфузории *Paramecium caudatum*

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

Вклад авторов. О. В. Пугачева осуществляла заготовку и сушку образцов сырья, проводила пробоподготовку к проведению анализа. А. Ю. Кузнецовым проведены исследования изучаемого объекта на тест-системе инфузорий *Paramecium caudatum*. А. В. Бузлама и О. В. Тринева осуществляли научное консультирование, анализ данных, подготовку текста статьи, включая формулирование разделов «Заключение» и «Обсуждение результатов».

Для цитирования: Пугачева О. В., Бузлама А. В., Кузнецов А. Ю., Тринева О. В. Изучение биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):225–241. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1953>

Study of the biostimulating effect of a decoction of Michurin's chokeberry leaves *in vitro* using the *Paramecium caudatum* cilia test system

Olga V. Pugacheva, Anna V. Buzlama, Alexandr Yu. Kuznetsov, Olga V. Trineeva ✉

Voronezh State University. 1, Universitetskaya ploshchad, Voronezh, 394018, Russia

✉ **Corresponding author:** Olga V. Trineeva. **E-mail:** trineevaov@mail.ru

ORCID: Olga V. Pugacheva – <https://orcid.org/0009-0003-9170-3130>;

Anna V. Buzlama – <https://orcid.org/0000-0003-4236-2387>;

Alexandr Yu. Kuznetsov – <https://orcid.org/0000-0002-1306-0569>;

Olga V. Trineeva – <https://orcid.org/0000-0002-1421-5067>.

Received: 22.10.2024

Accepted: 12.05.2025

Published: 16.05.2025

Abstract

Introduction. *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul. is a cultigenic species bred in the late 19th century as a result of breeding work by I. V. Michurin by crossing *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott with distantly related species of the rowan genus (*Sorbus*). The fruits of this plant have long been used in folk and traditional medicine, being, first of all, a source of anthocyanin compounds. The leaves are currently only a by-product in the preparation of fruits, however, they can be used as a promising source of such groups of biologically active substances as flavonoids, tannins, leucoanthocyanins, which makes it possible to use this raw material to obtain herbal medicinal products (HMP). Therefore, primary *in vitro* screening studies to assess the toxicity and biostimulating effect of extracts from the leaves of *Aronia michurini* should be considered relevant to assess the prospects and determine the directions of subsequent preclinical trials. The aim of the study was to investigate the biostimulating and membrane-protective effect of Michurin's chokeberry leaf extracts (using a decoction as an example) *in vitro* using the *Paramecium caudatum* ciliate test system in the «functional load» test.

Materials and methods. Michurin's chokeberry leaves were harvested for the study at different periods of leaf blade development (May, June, August and September 2023) from plants cultivated on the territory of the I. V. Michurin Federal Scientific Center (Michurinsk, Tambov Region). For the study, aqueous extracts were prepared from the studied raw materials as a decoction in accordance with general pharmacopoeial monograph.1.4.1.0018.15 «Infusions and decoctions» for raw materials containing tannins. To study the biostimulating effect of the decoction of Michurin's chokeberry leaves, an *in vitro* test system of *Paramecium caudatum* ciliates in the stationary growth phase was used. The biostimulating and membrane-protective effect of the studied decoction was assessed in the «functional load» test under the damaging effect of a hypertonic sodium chloride solution.

Results and discussion. Using the test system of the *Paramecium caudatum* ciliates in the «functional load» test, it was established that a decoction of Michurin's chokeberry leaves *in vitro* in a 1:10 dilution at all times of the medicinal plant raw material preparation reduces the survival time of ciliates under the damaging effects of a hypertonic sodium chloride solution during an incubation of 24 hours by no less than 43.5 % compared to the control sample, which probably indicates an increase in the permeability of biological membranes under the influence of tannins and sterols of the leaves and is consistent with their known astringent and antibacterial action. A decoction of Michurin's aronia leaves (when harvesting medicinal plant raw materials in June) *in vitro* in dilutions of 1:1000 and 1:10 000 close to the ranges of therapeutic doses, exhibits the greatest biostimulating and membrane-protective effect, which is confirmed by a significant reliable increase in the survival

time of ciliates under the damaging effects of hypertonic sodium chloride solution, by a maximum of 39.3 % compared to the control sample during 24 h incubation, which is probably associated with the content of flavonoids and leucoanthocyanins and is consistent with their known capillary-protective and antioxidant effects.

Conclusion. A decoction of Michurin's chokeberry leaves (diluted 1:1000 when harvesting medicinal plant raw materials in June) significantly and reliably increases the survival time of the *Paramecium caudatum* ciliate test system under the damaging effects of sodium chloride solution in the «functional load» test, by a maximum of 39.3 % compared to the control sample during 24-hour incubation, which indicates the presence of a biostimulating and membrane-protective effect.

Keywords: leaves, Michurin's chokeberry, *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul., black chokeberry, biostimulating and membrane-protective action, ciliates *Paramecium caudatum*

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. Pugacheva prepared and dried the raw material samples, prepared the samples for analysis. Alexandr Yu. Kuznetsov conducted studies of the studied object on the *Paramecium caudatum* ciliate test system. Anna V. Buzlama and Olga V. Trineeva provided scientific consulting, data analysis, and prepared the text of the article, including formulating the conclusion and discussing the results.

For citation: Pugacheva O. V., Buzlama A. V., Kuznetsov A. Yu., Trineeva O. V. Study of the biostimulating effect of a decoction of Michurin's chokeberry leaves *in vitro* using the *Paramecium caudatum* cilia test system. *Drug development & registration*. 2025;14(2):225–241. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1953>

ВВЕДЕНИЕ

Арония Мичурина (*Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul.) – культивируемый вид, выведенный в конце XIX века в результате селекционных работ И. В. Мичурина. Он скрещивал *A. melanocarpa* с отдаленно родственными видами из рода рябины (*Sorbus*). Полученный вид был назван И. В. Мичуриным рябиной черноплодной. Долгое время данный вид относили к виду арония черноплодная (*Aronia melanocarpa*). Однако еще в 80-х годах XX века учеными А. К. Скворцовым и Ю. К. Майтулиной арония Мичурина описана как отдельный вид – гибрид аронии черноплодной и рябины обыкновенной [1–4]. Этот многолетний кустарник семейства розоцветных (*Rosaceae*) широко распространен и также активно культивируется на территории России и стран ближнего зарубежья. Плоды данного растения давно используются в народной и традиционной медицине благодаря наличию большого комплекса биологически активных веществ (БАВ), являясь прежде всего источником антоциановых соединений [5–12].

На листья аронии Мичурина нормативная документация в настоящее время отсутствует, поэтому пока они не используются в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС), являясь побочным продуктом при заготовке плодов. Однако, как описано в литературе и также подтверждено нами ранее в ходе изучения их фитохимического состава [13–21], листья аронии Мичурина могут являться уникальным и перспективным источником таких групп БАВ, как флавоноиды, дубильные вещества, лейкоантоцианы, что подтверждает возможность использования дан-

ного сырья для получения лекарственных растительных препаратов (ЛРП) на его основе, профиль практического применения которых будет основываться на наличии вяжущего, антиоксидантного, капилляропротекторного и противовоспалительного действия. Основная масса исследований фармакологических свойств экстрактов листьев данного растения в настоящее время осуществляется за рубежом [22–45]. Поэтому первичные скрининговые исследования *in vitro* по оценке токсичности и биостимулирующего действия извлечений из листьев аронии Мичурина для оценки перспективности и определения направлений последующих доклинических испытаний следует считать актуальными.

Целью исследования являлось изучение биостимулирующего и мембранопротекторного действия извлечений из листьев аронии Мичурина (на примере отвара) *in vitro* с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Листья аронии Мичурина для исследования заготавливали в сухую погоду (май, июнь, август и сентябрь 2023 г.) от растений, культивируемых на территории ФГБНУ «ФНЦ им. И. В. Мичурина» (г. Мичуринск, Тамбовская область), и высушивали на открытом воздухе в тени до остаточной влажности не более 10 %. Принадлежность образца к роду *Aronia*, виду *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul. подтверждена сотрудниками научного центра имени И. В. Мичурина.

Для исследования готовили водные извлечения из измельченного исследуемого сырья с размером частиц менее 3,0 и более 0,2 мм по типу отвара в соответствии с ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ) для сырья, содержащего дубильные вещества [4]. Приготовление водного извлечения по типу отвара было обусловлено рекомендацией ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» ГФ РФ, как для сырья, во-первых, богатого дубильными веществами, во-вторых, имеющего плотную кожистую структуру листьев [4].

Методы определения содержания основных групп БАВ в листьях и отваре листьев (1:10) ароники Мичурина представлены в таблице 1.

Для изучения биостимулирующего действия отвара листьев ароники Мичурина использовали *in vitro* тест-систему инфузорий вида инфузория-туфелька (*Paramecium caudatum*) в стационарной фазе роста, культивируемую согласно известной методике [46] на среде Лозина-Лозинского следующего состава: NaCl – 0,01 %, KCl – 0,001 %, CaCl₂ водный – 0,001 %, MgCl₂ 6-водный – 0,001 %, NaHCO₃ – 0,002 % (х.ч. или ч.д.а.). При проведении исследований учитывали требования действующих руководств по доклиническим исследованиям [47]. Тест «Функциональная нагрузка» с использованием *in vitro* тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* [46] применен для выявления влияния БАВ, содержащихся в отваре листьев, на выживаемость тест-системы при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида (NaCl), что позволяет оценить наличие биоцидного, биостимулирующего и/или мембранопротекторного действия. Культура инфузорий *Paramecium caudatum* получена на кафедре фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО ВГУ. Рабочий раствор готовили путем разбавления в 10 раз (1:9) концентрированной среды дистиллированной водой [46]. Культивирование инфузорий осуществляли в термостате ТС-1/80 СПУ (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия) при температуре 21 ± 1 °С при 10-часовом искусственном освещении. Для проведения эксперимента использовали 7-дневную культуру в стационарной фазе роста. Для нормирования начального состояния тест-системы культуру промывали раствором Лозина-Лозинского и затем проводили синхронизацию культуры инфузорий посредством метода тепловых шоков. Для этого культуру нагревали на водяной бане до +35 °С и быстро остужали в воде со льдом до +5 °С, повторяя данную процедуру 3 раза. После этого инкубировали в течение 2 суток в термостате в чистой среде. Для эксперимента использовали инфузорий, равномерно плавающих в объеме среды (не осевших на дно пробирки) [46]. В контрольные пробы никакие вещества не вносили. В опытные пробы вносили изготовленный согласно требованиям ГФ [4] отвар листьев ароники Мичурина, заготовленных в различные периоды жизни ли-

стовой пластинки растения в течение 4 месяцев (май, июнь, август, сентябрь), для каждого из сроков заготовки ЛРС. Отвар тестировали в 5 различных разведениях: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000, 1:100 000. Для получения серии опытных проб, содержащих отвар листьев ароники Мичурина в различных разведениях, согласно известной методике использовали метод последовательных разведений. Для этого брали 6 пробирок, в каждую вносили по 2,7 мл культуры инфузорий. В первую пробирку добавляли 0,3 мл отвара листьев ароники Мичурина. Затем из нее отбирали 0,3 мл среды и вносили в следующую и так далее, достигая, таким образом, серийного разведения исследуемого объекта.

Оценку биостимулирующего и мембранопротекторного действия изучаемого отвара при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида проводили по известной методике [46]. Сначала опытным путем определяли количество раствора 10 % натрия хлорида (х.ч. или ч.д.а.), которое вызывало гибель 100 % инфузорий в течение 4 мин. Для этого 0,1 мл среды, содержащей инфузорию, наносили на предметное стекло, добавляли натрия хлорид в определенном объеме и засекали время до момента гибели всех инфузорий в пробе (критерий оценки – время выживаемости инфузорий, с). Гибель инфузорий в пробе определяли визуально под микроскопом Levenhuk 5ST (Россия) при увеличении ×20 по критерию полного прекращения движений. Изображение в режиме реального времени выводили на экран компьютера с помощью цифровой камеры для микроскопа Levenhuk M1000 PLUS (Россия) и программного обеспечения LevenhukLite (Россия).

Время выживаемости инфузорий (с) при повреждающем воздействии раствора натрия хлорида определяли сразу (0 мин, исходно) после добавления изучаемого отвара листьев ароники Мичурина в опытные пробы и затем при инкубации опытных проб с изучаемым отваром в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч в термостате.

Для получения статистически значимых результатов для каждой пробы в каждой серии опытов эксперимент повторяли трехкратно, математическую обработку данных проводили общепринятыми методами медико-биологической статистики с определением средних значений, ошибки среднего и достоверности различий с использованием методов параметрической статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обобщенные результаты ранних наших исследований по изучению состава целевых групп БАВ в листьях приведены в таблице 1.

Установлено, что в контрольных пробах время выживаемости инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка» при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия

Таблица 1. Содержание основных групп БАВ в листьях аронии Мичурина [13–21, 49–51]

Table 1. Content of main groups of biologically active substances in leaves of *Aronia × mitschurinii* A. K. Skvortsov & Maitul. [13–21, 49–51]

| Группа БАВ Groups of biologically active substances | Стадия заготовки Periods of development | | | | Метод определения Method of determining |
|--|--|---------------------|------------------|-----------------------|---|
| | Май May | Июнь June | Август August | Сентябрь September | |
| Флавоноиды в пересчете на рутин, % Total flavonoids in terms of rutin, % | 3,94 ± 0,33 | 4,20 ± 0,12 | 3,48 ± 0,21 | 3,47 ± 0,25 | Дифференциальная СФ Differential spectrophotometry |
| Дубильные вещества в пересчете на катехин, % The amount of tannins in terms of catechin, % | 14,20 ± 0,91 | 12,53 ± 0,72 | 8,63 ± 0,32 | 8,35 ± 0,16 | Спектрофотометрия (СФ) Spectrophotometry |
| Антоцианы (в лейко-форме) в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид, % Total anthocyanins expressed as cyanidin-3-O-glucoside, % | 10,71 ± 1,33 | 10,81 ± 1,01 | 11,62 ± 0,69 | 12,77 ± 0,95 | СФ Spectrophotometry [51] |
| Стерины, (%) в извлечениях Sterols, (%) in extracts | 0,39 ± 0,04 | 0,33 ± 0,03 | 0,72 ± 0,06 | 0,61 ± 0,05 | ГХ/МС GC/MS |
| Экстрактивные вещества, извлекаемые водой, % Extractives substances, water extractable, % | 37,24 ± 0,20 | 39,68 ± 0,25 | 31,52 ± 0,22 | 30,28 ± 0,31 | Гравиметрия Gravimetry |

хлорида составляло исходно (0 мин) в среднем от 292,33 ± 2,33 до 304,67 ± 5,24 с и не имело существенных отличий в дальнейшем при тестировании через 60 мин, 120 мин и 24 ч (таблица 2).

Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в мае на время выживаемости инфузорий показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1:10, различий с контрольной пробой при исходном тестировании не выявлено, затем при инкубации в течение 60 мин наблюдалась тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий на 10,6 % по сравнению с контрольной пробой и на 11,2 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 120 мин инкубации выраженность влияния на снижение времени выживаемости усиливалась: величина была достоверно ниже на 15,9 % по сравнению с контрольной пробой и на 15,3 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе. Наибольшая выраженность влияния на снижение времени выживаемости инфузорий выявлена при инкубации в течение 24 ч, что являлось достоверным и составило на 43,5 % меньше по сравнению с контрольной пробой и на 44,4 % меньше в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 2). Ввиду того что, согласно ранее проведенным нами исследованиям, накопление экотоксикантов листьями аронии Мичурина не превышает ПДК [48], снижение времени выживаемости инфузорий под влиянием изучаемого отвара в максимальной концентрации 1:10, вероятно, следует связывать с выявленным в результате ранее проведенных нами исследований (таблица 1) высоким содержанием дубильных веществ [13–21, 49–51], кото-

рые, как известно, связываются с биологическими молекулами, регулируют активность ряда ферментов [52], денатурируют протоплазматические белки¹, обуславливая в высоких концентрациях известное противомикробное (биоцидное) действие. Важно подчеркнуть, что данный эффект проявляется в большей степени в наиболее концентрированном разведении 1:10 при постоянной длительной инкубации в течение 24 ч.

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:100, различия с контрольной пробой при исходном тестировании составили лишь 0,5 %, при инкубации в течение 60 мин и 120 мин наблюдалась слабовыраженная тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий. Через 24 ч инкубации выраженность влияния на снижение времени выживаемости усиливалась, являясь достоверно ниже на 14,8 % по сравнению с контрольной пробой и на 15,8 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 2).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:1000, при исходном тестировании выявлена слабая тенденция к увеличению времени выживаемости инфузорий. При инкубации в течение 60 мин и 120 мин выраженность положительного влияния на увеличение времени выживаемости инфузорий усиливалась, являясь соответственно на 6,3 и 23,0 % больше по сравнению с контрольной пробой и достоверно на

¹Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России». Доступно по: https://www.vidal.ru/drugs/quercus_cortex__15895. Ссылка активна на 10.09.2024.

Таблица 2. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – май) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 2. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in May) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

| Проба Sample | Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s | | | |
|--|--|------------------|--------------------|--------------------|
| | 0 мин (исходно) 0 min (original) | 60 мин 60 min | 120 мин 120 min | 24 ч 24 h |
| Контрольная проба Control sample | 295,33 ± 5,24 | 293,33 ± 10,71 | 297,33 ± 3,76 | 290,67 ± 6,12 |
| Опытная проба, 1 : 10 Experimental sample, 1 : 10 | 295,33 ± 6,06 | 262,33 ± 14,11 | 250,00 ± 7,81**,+ | 164,33 ± 6,49**,+ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | 0,0 | -10,6 | -15,9 | -43,5 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -11,2 | -15,3 | -44,4 |
| Опытная проба, 1 : 100 Experimental sample, 1 : 100 | 294,00 ± 10,77 | 282,00 ± 4,04 | 269,67 ± 12,73 | 247,67 ± 9,33*+ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -0,5 | -3,9 | -9,3 | -14,8 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -4,1 | -8,3 | -15,8 |
| Опытная проба, 1 : 1000 Experimental sample, 1 : 1000 | 300,33 ± 2,03 | 311,67 ± 3,76+ | 365,67 ± 6,01+++ | 383,67 ± 3,84***,+ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | +1,7 | +6,3 | +23,0 | +32,0 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +3,8 | +21,8 | +27,7 |
| Опытная проба, 1 : 10 000 Experimental sample, 1 : 10 000 | 287,33 ± 3,28 | 314,33 ± 2,19++ | 367,67 ± 11,22**,+ | 389,00 ± 4,73***,+ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -2,7 | +7,2 | +23,7 | +33,8 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +9,4 | +28,0 | +35,4 |
| Опытная проба, 1 : 100 000 Experimental sample, 1 : 100 000 | 302,00 ± 4,62 | 294,67 ± 4,91 | 298,00 ± 8,02 | 293,67 ± 8,09 |
| разница с контролем, % difference with the control, % | +2,3 | +0,5 | +0,2 | +1,0 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -2,4 | -1,3 | -2,8 |

Примечание. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. + $P < 0,05$; ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. + $P < 0,05$; ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

3,8 и 21,8 % больше по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч инкубации усиливалась выраженность влияния на увеличение времени выживаемости, являясь достоверно на 32,0 % больше по сравнению с контрольной пробой и на 27,7 % достоверно больше в сравнении с исходным значением в опытной пробе (см. таблицу 2).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1 : 10 000, при исходном тестировании выявлена слабая тенден-

ция к снижению времени выживаемости инфузорий. При инкубации в течение 60 и 120 мин выявлено положительное влияние на увеличение времени выживаемости инфузорий – на 7,2 и 23,7 % (достоверно) больше по сравнению с контрольной пробой и на 9,4 и 28,0 % достоверно больше по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч инкубации выраженность влияния на увеличение времени выживаемости инфузорий являлась максимальной для данной серии опытных проб (заготовка ЛРС –

май), обеспечив достоверное повышение времени выживаемости инфузорий на 33,8 % по сравнению с контрольной пробой и на 35,4 % достоверно больше по сравнению с исходным значением в опытной пробе (см. таблицу 2), свидетельствуя о наличии биостимулирующего и мембранопротекторного действия.

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в максимальном согласно методике разведении 1 : 100 000 как при исходном тестировании 0 мин (исходно), так и при повторных тестированиях при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч значимых различий с контрольной пробой и исходным значением не выявлено, разница в показателях не превышала 2,8 %, что закономерно связано с крайне малым содержанием БАВ в отваре при данном разведении (см. таблицу 2).

Изучение влияния на время выживаемости инфузорий отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в июне показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1 : 10, при исходном тестировании значимых различий с контрольной пробой не выявлено, как и в предыдущих сериях опытов. При инкубации в течение 60 мин и 120 мин наблюдалась слабо выраженная тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий. Аналогично предыдущей серии опытов наибольшая выраженность влияния на снижение времени выживаемости инфузорий выявлена при инкубации в течение

24 ч, что являлось достоверным и составило на 45,1 % меньше по сравнению с контрольной пробой и на 45,8 % меньше в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1 : 100, различия с контрольной пробой при исходном тестировании и при инкубации в течение 60 и 120 мин являлись незначительными. Через 24 ч инкубации выявлено снижение времени выживаемости инфузорий на 10,0 % по сравнению с контрольной пробой и на 11,5 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1 : 1000, при инкубации в течение 60 мин выявлено достоверное повышение времени выживаемости инфузорий на 13,3 % по сравнению с контрольной пробой и на 10,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 120 мин – на 28,7 % по сравнению с контрольной пробой и на 26,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч инкубации выявлено максимальное для данной серии и максимальное по всем сериям опытов достоверное значительное увеличение времени выживаемости инфузорий на 39,3 % (рисунок 1) по сравнению с контрольной пробой и на 34,4 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

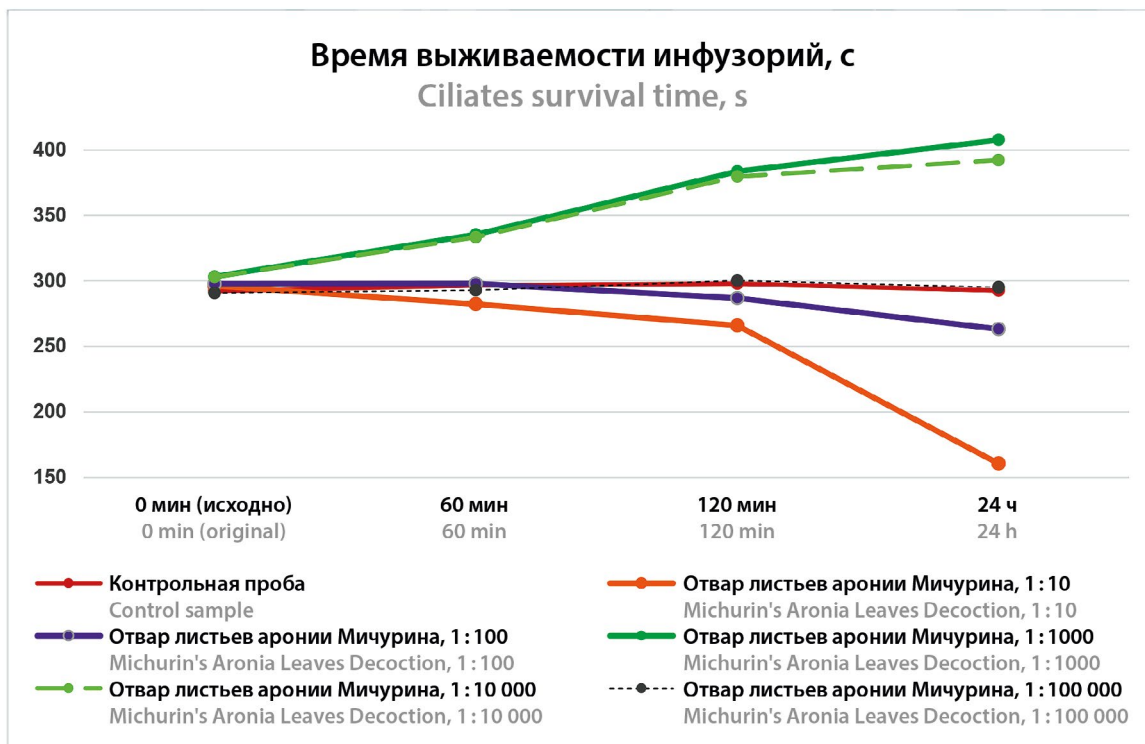


Рисунок 1. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – июнь) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Figure 1. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in June) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

Таблица 3. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – июнь) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 3. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in June) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

| Проба Sample | Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s | | | |
|--|--|-------------------|--------------------|---------------------|
| | 0 мин 0 min | 60 мин 60 min | 120 мин 120 min | 24 ч 24 h |
| Контрольная проба Control sample | 292,33 ± 2,33 | 296,67 ± 3,93 | 298,00 ± 5,568 | 292,67 ± 7,36 |
| Опытная проба, 1 : 10 Experimental sample, 1 : 10 | 296,33 ± 4,702 | 282,33 ± 7,965 | 266,00 ± 14,048 | 160,67 ± 15,301**,+ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | +1,4 % | -4,6 | -10,7 | -45,1 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -4,7 | -10,2 | -45,8 |
| Опытная проба, 1 : 100 Experimental sample, 1 : 100 | 297,67 ± 3,76 | 298,00 ± 9,54 | 287,00 ± 15,70 | 263,33 ± 17,68 |
| разница с контролем, % difference with the control, % | +1,8 | +0,7 | -3,7 | -10,0 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +0,1 | -3,6 | -11,5 |
| Опытная проба, 1 : 1000 Experimental sample, 1 : 1000 | 303,33 ± 3,53* | 335,33 ± 7,75*+ | 383,67 ± 10,68**,+ | 407,67 ± 1,45***,+ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | +3,8 | +13,3 | +28,7 | +39,3 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +10,5 | +26,5 | +34,4 |
| Опытная проба, 1 : 10 000 Experimental sample, 1 : 10 000 | 303,00 ± 2,65* | 333,33 ± 4,10**,+ | 379,67 ± 13,09**,+ | 392,33 ± 4,37***,+ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | +3,6 | +12,6 | +27,4 | +34,1 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +10,0 | +25,3 | +29,5 |
| Опытная проба, 1 : 100 000 Experimental sample, 1 : 100 000 | 291,00 ± 13,45 | 293,00 ± 3,22 | 300,33 ± 5,24 | 295,33 ± 3,71 |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -0,5 | -1,0 | +0,8 | +0,9 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +0,7 | +3,2 | +1,5 |

Примечание. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. + $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$, +++ $P < 0.001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

Указанный результат согласуется с установленным в данный период вегетации по результатам исследований высоким содержанием экстрактивных веществ, извлекаемых водой (см. таблицу 1), и свидетельствует о достаточно выраженном биостимулирующем действии изучаемого отвара листьев аронии Мичурина при повреждающем воздействии, что может быть связано с влиянием на проницаемость биологических мембран, в том числе за счет высокого, согласно полу-

ченным результатам (см. таблицу 1), в данный период содержания биофлавоноидов, проявляющих известные механизмы противовоспалительного и антиоксидантного действия, обусловленные влиянием на структурно-функциональные свойства биологических мембран [54]. Достаточно высокое во все периоды заготовки, согласно полученным данным (таблица 1), содержание восстановленных форм флавоноидов – лейкоантоцианов, вероятно, усиливает антиоксидант-

ный эффект [55] собственно биофлавоноидов, обеспечивая синергизм в реализации биостимулирующего и мембранопротекторного действия извлечения ЛРС в целом.

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:10 000, при инкубации в течение 60 мин выявлено достоверное повышение времени выживаемости инфузорий на 12,6 % по сравнению с контрольной пробой и на 10,0 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 120 мин – на 27,4 % по сравнению с контрольной пробой и на 25,3 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 24 ч – значительное повышение на 34,1 % по сравнению с контрольной пробой и на 29,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 3).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в разведении 1:100 000, как и в предыдущих сериях опытов, при исходном тестировании 0 мин (исходно) и при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч значимых различий как с контрольной пробой, так и с исходным значением не выявлено (таблица 3).

Изучение влияния на время выживаемости инфузорий отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в августе показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1:10, при инкубации в течение 60 мин наблюдалась слабая тенденция к снижению времени выживаемости инфузорий. Через 120 мин аналогично предыдущим сериям опытов выявлено умеренное достоверное снижение времени выживаемости инфузорий на 19,0 % по сравнению с контрольной пробой и на 19,8 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. При инкубации в течение 24 ч выявлено наибольшее достоверное влияние на снижение времени выживаемости инфузорий – на 45,7 % по сравнению с контрольной пробой и на 47,4 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:100, различия с контрольной пробой при исходном тестировании и при инкубации в течение 60 мин и 120 мин являлись незначительными с тенденцией к снижению времени выживаемости инфузорий. Через 24 ч инкубации выявлено снижение времени выживаемости инфузорий на 10,5 % по сравнению с контрольной пробой и на 13,0 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:1000, при инкубации в течение 60 мин выявлено повышение времени выживаемости инфузорий на 10,7 % по сравнению с контрольной пробой и на 11,4 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 120 мин – на 19,8 % по сравнению с контрольной пробой (достоверно) и на 22,0 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе. Через 24 ч

инкубации сохранялась тенденция к повышению времени выживаемости инфузорий на 7,3 % по сравнению с контрольной пробой и на 6,8 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе, однако достоверность различий отсутствовала (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:10 000, при инкубации в течение 60 мин и 120 мин наблюдалось повышение времени выживаемости инфузорий: на 4,8 и 17,8 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой и на 7,2 и 21,9 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе; через 24 ч – достоверное повышение на 23,4 % по сравнению с контрольной пробой и на 24,5 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 4).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в разведении 1:100 000, как и в предыдущих сериях опытов, при исходном тестировании 0 мин (исходно) и при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч значимых различий с контрольной пробой и исходным значением в опытной пробе не выявлено (таблица 4).

Изучение влияния на время выживаемости инфузорий отвара листьев аронии Мичурина при заготовке ЛРС в сентябре показало, что в опытной пробе с добавлением изучаемого отвара, разведение 1:10, при инкубации в течение 60 мин и 120 мин выявлено незначительное снижение времени выживаемости инфузорий. При инкубации в течение 24 ч выявлено наибольшее достоверное влияние на снижение времени выживаемости инфузорий – на 49,6 % по сравнению с контрольной пробой и на 49,2 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 5), что являлось максимально выраженным снижением времени выживаемости по всем сериям опытов. Следует отметить, что данный результат незначительно превышает установленное для заготовленного в мае ЛРС (см. таблицу 2) снижение времени выживаемости инфузорий – на 6,1 %, что позволяет предположить влияние на повышение проницаемости биологических мембран не только за счет высокого содержания дубильных веществ, взаимодействующих преимущественно с белковыми структурами, но и, возможно, за счет максимального в данный период содержания стероидов (см. таблицу 1), известных способностью встраиваться в структуру мембраны и участвовать в регуляции текучести мембран клеток [55].

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:100, при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч выявлено снижение времени выживаемости инфузорий соответственно на 4,9, 5,8 и 10,9 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой и на 2,2, 3,1 и 10,8 % в сравнении с исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:1000, при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч

Таблица 4. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – август) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 4. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in August) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

| Проба Sample | Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s | | | |
|--|--|------------------|------------------------------|---------------------------------|
| | 0 мин 0 min | 60 мин 60 min | 120 мин 120 min | 24 ч 24 h |
| Контрольная проба Control sample | 295,00 ± 7,21 | 297,33 ± 6,77 | 300,67 ± 1,76 | 294,00 ± 6,56 |
| Опытная проба, 1 : 10 Experimental sample, 1 : 10 | 303,67 ± 4,18 | 285,33 ± 8,19 | 243,67 ± 14,72* ⁺ | 159,67 ± 7,84*** ⁺⁺⁺ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | 2,9 | -4,0 | -19,0 | -45,7 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -6,0 | -19,8 | -47,4 |
| Опытная проба, 1 : 100 Experimental sample, 1 : 100 | 302,33 ± 7,69 | 287,33 ± 5,21 | 291,67 ± 15,06 | 263,00 ± 18,82 |
| разница с контролем, % difference with the control, % | 2,5 | -3,4 | -3,0 | -10,5 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -5,0 | -3,5 | -13,0 |
| Опытная проба, 1 : 1000 Experimental sample, 1 : 1000 | 295,33 ± 6,77 | 329,00 ± 14,50 | 360,33 ± 11,32** | 315,33 ± 9,39 |
| разница с контролем, % difference with the control, % | +0,1 | +10,7 | +19,8 | +7,3 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +11,4 | +22,0 | +6,8 |
| Опытная проба, 1 : 10 000 Experimental sample, 1 : 10 000 | 290,67 ± 12,25 | 311,67 ± 4,84 | 354,33 ± 11,80* ⁺ | 362,67 ± 10,33** ⁺ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -1,5 | +4,8 | +17,8 | +23,4 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +7,2 | +21,9 | +24,5 |
| Опытная проба, 1 : 100 000 Experimental sample, 1 : 100 000 | 294,33 ± 6,57 | 297,00 ± 4,93 | 306,33 ± 2,19 | 292,00 ± 7,55 |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -0,2 | +0,1 | +1,9 | -0,7 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +0,9 | +4,1 | -0,8 |

Примечание. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

выявлено повышение времени выживаемости инфузорий на 2,9, 16,0 % (достоверно) и 34,4 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой, достоверно на 9,5, 23,5 и 39,3 % по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина, разведение 1:10 000, при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч также сохранялось несколько менее выраженное повы-

шение времени выживаемости инфузорий: на 3,9, 13,2 и 26,5 % (достоверно) по сравнению с контрольной пробой, на 8,8, 18,5 и 28,9 % (достоверно) по сравнению с исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

В опытной пробе с добавлением изучаемого отвара листьев аронии Мичурина в разведении 1 : 100 000, как и в предыдущих сериях опытов, при исходном

Таблица 5. Изучение влияния отвара листьев аронии Мичурина (заготовка ЛРС – сентябрь) на время выживаемости *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка»

Table 5. Study of the effect of decoction of Michurin's chokeberry leaves (harvested in September) on the survival time of *Paramecium caudatum* in the «functional load» test

| Проба Sample | Время выживаемости инфузорий, с Survival time of <i>Paramecium caudatum</i> , s | | | |
|--|--|----------------------------|---|--|
| | 0 мин 0 min | 60 мин 60 min | 120 мин 120 min | 24 ч 24 h |
| Контрольная проба Control sample | 300,67 ± 2,33 | 305,33 ± 5,21 | 298,67 ± 1,20 | 297,33 ± 3,28 |
| Опытная проба, 1 : 10 Experimental sample, 1 : 10 | 295,33 ± 4,18 | 279,33 ± 9,33* | 258,67 ± 15,72 | 150,00 ± 13,32 ⁺⁺⁺ *** |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -1,8 | -8,5 | -2,2 | -49,6 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -5,4 | -12,4 | -49,2 |
| Опытная проба, 1 : 100 Experimental sample, 1 : 100 | 297,00 ± 3,00 | 290,33 ± 4,26 | 287,67 ± 8,65 | 265,00 ± 13,32* |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -1,2 | -4,9 | -5,8 | -10,9 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | -2,2 | -3,1 | -10,8 |
| Опытная проба, 1 : 1000 Experimental sample, 1 : 1000 | 287,00 ± 7,02 | 314,33 ± 4,26 ⁺ | 354,33 ± 5,04 ^{**} , ⁺⁺ | 399,67 ± 13,25 ^{**} , ⁺⁺ |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -4,5 | +2,9 | +16,0 | +34,4 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +9,5 | +23,5 | +39,3 |
| Опытная проба, 1 : 10 000 Experimental sample, 1 : 10 000 | 291,67 ± 6,49 | 317,33 ± 3,53 ⁺ | 345,67 ± 22,15 | 376,00 ± 21,46 ^{*+} |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -3,0 | +3,9 | +13,2 | +26,5 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +8,8 | +18,5 | +28,9 |
| Опытная проба, 1 : 100 000 Experimental sample, 1 : 100 000 | 280,00 ± 11,27 | 288,00 ± 10,26 | 292,67 ± 3,71 | 294,00 ± 14,30 |
| разница с контролем, % difference with the control, % | -6,9 | -5,7 | -4,1 | -1,1 |
| разница с исходным, % difference with the original, % | - | +2,9 | +4,5 | +5,0 |

Примечание. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей в опытной пробе с контрольной пробой. + $P < 0,05$, ++ $P < 0,01$, +++ $P < 0,001$ – достоверность различий при сравнении показателей с исходным значением по группе; опытная проба – отвар листьев аронии Мичурина.

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ – reliability of differences when comparing the parameters in the test sample with the control sample. + $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$, +++ $P < 0.001$ – reliability of differences when comparing the parameters with the initial value for the group; test sample – decoction of Michurin's chokeberry leaves.

тестировании 0 мин (исходно), при инкубации в течение 60 мин, 120 мин и 24 ч не выявлено значимых различий с контрольной пробой и исходным значением в опытной пробе (таблица 5).

Согласно проведенным нами ранее исследованиям (таблица 6) содержание в отваре 1:10 флавоноидов (в пересчете на рутин) составляет 0,10 ± 0,021 %, следовательно, согласно рекомендуемым для взрослых величинам суточного потребления фла-

воноидов 30–100 мг, в том числе флавонолов и их гликозидов, в частности рутин, для восполнения адекватного уровня потребления достаточно 30 мл отвара (прием по 1 столовой ложке 2 раза в день), верхний допустимый уровень потребления – 100 мл отвара (прием по 2 столовые ложки 3 раза в день).

Также согласно проведенным нами исследованиям (таблица 6) содержание в отваре 1:10 дубильных веществ (в пересчете на катехин) составляет

0,86 ± 0,17 %, следовательно, согласно рекомендуемым для взрослых величинам суточного потребления¹ флаван-3-олов (катехины), в том числе катехина, 50–100 мг для восполнения адекватного уровня потребления достаточно 5,81 мл отвара (прием по 1/3 столовой ложки или по 1 чайной ложке 1 раз в день), верхний допустимый уровень потребления – 11,6 мл отвара (прием по 1 столовой ложке 1 раз в день).

Таблица 6. Результаты стандартизации и количественного определения целевых БАВ в отваре* листьев аронии Мичурина (1 : 10) [57]

Table 6. Results of standardisation and quantification of target BAS in decoction of Michurin's chokeberry leaves (1 : 10) [57]

| № п/п Item No. | Показатель Parameter | Отвар 1 : 10 Decoction 1 : 10 |
|-------------------|---|-------------------------------------|
| 1 | Сухой остаток, % Dry residue | 4,80 ± 0,45 |
| 2 | Значение pH pH value | 6,01 |
| 3 | Флавоноиды (в пересчете на рутин), % Total flavonoids (in terms of rutin), % | 0,10 ± 0,021 |
| 4 | Дубильные вещества (в пересчете на катехин), % The amount of tannins (in terms of catechin), % | 0,86 ± 0,017 |

Примечание. * Отвар изготавливали из листьев, заготовленных в сентябре (как рекомендуемом времени заготовки для сохранения ценности фармакопейного сырья – плодов).

Note. * The decoction was prepared from leaves harvested in September (as the recommended harvesting time to preserve the value of the pharmacopoeial raw material – the fruits).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в целом с использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка» установлено, что отвар листьев аронии Мичурина *in vitro* в разведении 1:10 во все сроки заготовки ЛРС снижает время выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида максимально при инкубации в течение 24 ч не менее чем на 43,5 % по сравнению с контрольной пробой, что, возможно, свидетельствует о повышении проницаемости биологических мембран под влиянием дубиль-

¹ Методические рекомендации МР 2.3.1.1915-04 «Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 02.07.2004). Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200037560>. Ссылка активна на 10.09.2024.

ных веществ и стеринных листьев и согласуется с их известным вяжущим и антибактериальным действием. Установленный эффект свидетельствует о целесообразности разработки комбинированных ЛРП, содержащих извлечения из листьев аронии Мичурина, антимикробного и противовоспалительного действия, например в лекарственной форме спрея для краткосрочного местного применения при инфекционно-воспалительных заболеваниях полости рта.

Отвар листьев аронии Мичурина (при заготовке ЛРС в июне) *in vitro* в разведениях 1:1000 и 1:10 000, близких к диапазонам терапевтических доз, проявляет наибольшее биостимулирующее и мембранопротекторное действие, что подтверждается значительным достоверным повышением времени выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии гипертонического раствора натрия хлорида максимально на 39,3 % по сравнению с контрольной пробой при инкубации в течение 24 ч, что, вероятно, связано с содержанием флавоноидов и лейкоантоцианов и согласуется с их известным капилляропротекторным и антиоксидантным действием. Установленный эффект свидетельствует о целесообразности разработки содержащих извлечения из листьев аронии Мичурина ЛРП, в том числе комбинированных, капилляропротекторного и антиоксидантного действия, например в твердых дозированных лекарственных формах для курсового перорального применения в качестве вентонизирующих средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградова Ю. К., Куклина А. Г. Арония Мичурина: от создания до натурализации. М.: ГЕОС; 2014. 137 с.
2. Куклина А. Г. Натурализация аронии Мичурина в лесах европейской части России. *Лесохозяйственная информация*. 2015;2:46–56.
3. Kokotkiewicz A., Jaremicz Z., Luczkiewicz M. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food*. 2010;13(2):255–269. DOI: 10.1089/jmf.2009.0062.
4. Государственная фармакопея российской федерации. XIV издание. М.: ФЭМБ; 2018. 7019 с.
5. Brand M. H., Connolly B. A., Levine L. H., Richards J. T., Shine S. M., Spencer L. E. Anthocyanins, total phenolics, ORAC and moisture content of wild and cultivated dark-fruited Aronia species. *Scientia Horticulturae*. 2017;224:332–342. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.021.
6. Дейнека В. И., Третьяков М. Ю., Олейниц Е. Ю., Павлов А. А., Дейнека Л. А., Блинова И. П., Манохина Л. А. Определение антоцианов и хлорогеновых кислот в плодах рода арония: опыт хемосистематики. *Химия растительного сырья*. 2019;2:161–167. DOI: 10.14258/jcprm.2019024601.
7. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative *in vitro* studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.

8. Абидуллина Р. Г., Пупыкина К. А., Денисова С. Г., Пупыкина В. В. Биохимический состав плодов некоторых представителей рода *Sorbus* L. коллекции южно-уральского ботанического сада. *Химия растительного сырья*. 2021;3:235–243. DOI: 10.14258/jscrpm.2021037601.
9. Блинникова О. М. Витаминная ценность плодов аронии черноплодной. *Вестник МичГАУ*. 2013;2:56–59.
10. Блинникова О. М. Пищевая ценности плодов аронии черноплодной и перспективы их использования в производстве пищевых продуктов для функционального питания. «Инновационные технологии в АПК». В сб.: Международной научно-практической конференции. 2018. С. 294–298.
11. Гареева Г. М., Хасанова Л. А., Хасанова З. М. Целебные свойства аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*). *Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы*. 2018;2:36–38.
12. Елисеева Л. Г., Блинникова О. М. Пищевая ценность плодов аронии черноплодной, выращенной в ЦЧР России. *Известия вузов. Пищевая технология*. 2013;4:111–112.
13. Елисеева Л. Г., Блинникова О. М. Плоды аронии черноплодной – источник витаминно-минеральных комплексов. *Пищевая промышленность*. 2013;4:28–29.
14. Брежнева Т. А., Недолужко Е. И., Логвинова Е. Е., Гудкова А. А., Сливкин А. И. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2018;2:306–311.
15. Недолужко Е. И., Брежнева Т. А., Логвинова Е. Е. и др. Изучение биологически активных веществ листьев рябины черноплодной. Университетская наука: взгляд в будущее. В сб.: Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 83-летию Курского государственного медицинского университета. 2018. С. 74–77.
16. Пугачева О. В., Свиридова О. Л., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Валидация методики количественного определения дубильных веществ в листьях рябины черноплодной. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2022;1:98–104.
17. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной различными аналитическими методами. В сб.: Сборник трудов седьмой научной конференции «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». 2019. С. 292–298.
18. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение дубильных веществ в листьях рябины черноплодной для выбора сроков заготовки сырья. В сб.: «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения», сборник материалов IX Международная научная конференция молодых ученых. 2021. С. 345–350.
19. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение флавоноидов в листьях аронии мичурина методом ТСХ. «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. В сб.: Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств», сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции. 2022. С. 429–433.
20. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Панова К. Е. Количественное определение антоцианов в листьях аронии Мичурина. В сб.: Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств. Сборник трудов 9-й Международной научно-методической конференции. Воронеж. 2023. С. 356–359.
21. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях аронии Мичурина. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2023;3:92–99.
22. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Сливкин А. И. Исследование состава листьев аронии Мичурина методом газовой хромато-масс-спектрометрии. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2024;1:114–124.
23. Суворова И. Н., Давыдов В. В., Прозоровский В. Н. и др. Особенности проявления антиоксидантного действия экстракта листьев рябины черноплодной на головной мозг. *Биомедицинская химия*. 2005;51(1):66–71.
24. Ипатов О. М., Прозоровская Н. Н., Прозоровский В. Н., Княжев В. А., Баранова В. С., Груздьева А. Е. Экстракт листьев аронии, обладающий биологической активностью, и способ его получения. Патент РФ на изобретение № 2171111. Заявл. 05.05.2000. Опублик. 27.07.2001. Доступно по: <https://patentimages.storage.googleapis.com/74/9a/85/256ef6a82683f1/RU2171111C1.pdf>. Ссылка активна на 07.01.2024.
25. Efenberger-Szmechtyk M., Nowak A., Czyżowska A., Śniadowska M., Otlewska A., Żyżelewicz D. Antibacterial mechanisms of *Aronia melanocarpa* (Michx.), *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. leaf extracts. *Food Chemistry*. 2021;350:129218. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129218.
26. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Mihova V., Krasnaliyev I., Borisova P., Belcheva A. Antihyperlipidemic effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2007;62(1):19–24. DOI: 10.1007/s11130-006-0036-2.
27. Martin D. A., Taheri R., Brand M. H., Draghi A., Sylvester F., Bolling B. W. Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes. *Journal of Functional Foods*. 2014;8(1):68–75. DOI: 10.1016/j.jff.2014.03.004.
28. Ohgami K., Ilieva I., Shiratori K., Koyama Y., Jin X.-H., Yoshida K., Kase S., Kitaichi N., Suzuki Y., Tanaka T., Ohno S. Anti-inflammatory effects of Aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2005;46(1):275–281. DOI: 10.1167/iovs.04-0715.
29. Zhao Y., Liu X., Zheng Y., Liu W., Ding C. *Aronia melanocarpa* polysaccharide ameliorates inflammation and aging in mice by modulating the AMPK/SIRT1/NF-κB signaling pathway and gut microbiota. *Scientific Reports*. 2021;11(1):20558. DOI: 10.1038/s41598-021-00071-6.
30. Bell D. R., Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology*. 2006;100(4):1164–1170. DOI: 10.1152/jappphysiol.00626.2005.
31. Daskalova E., Delchev S., Vladimirova-Kitova L., Kitov S., Denev P. Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Functional Beverages Increase HDL-Cholesterol Levels in Aging Rats. *Foods*. 2021;10(7):1641. DOI: 10.3390/foods10071641.
32. Wu X., Gu L., Prior R. L., McKay S. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and Their Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(26):7846–7856. DOI: 10.1021/jf0486850.

33. Appel K., Meiser P., Millán E., Collado J. A., Rose T., Gras C. C., Carle R., Muñoz E. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF- κ B and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Fitoterapia*. 2015;105:73–82. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.06.009.
34. Szopa A., Kokotkiewicz A., Kubica P., Banaszczak P., Wojtanowska-Krośniak A., Krośniak M., Marzec-Wróblewska U., Badura A., Zagrodzki P., Bucinski A., Luczkiewicz M., Ekiert H. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of *Aronia* sp.: *A. melanocarpa*, *A. arbutifolia*, and *A. xprunifolia* and their antioxidant activities. *European Food Research and Technology*. 2017;243:1645–1657. DOI: 10.1007/s00217-017-2872-8.
35. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.
36. Kim D.-W., Han H.-A., Kim J.-K., Kim D.-H., Kim M.-K. Comparison of Phytochemicals and Antioxidant Activities of Berries Cultivated in Korea: Identification of Phenolic Compounds in *Aronia* by HPLC/Q-TOF MS. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2021;26(4):459–468. DOI: 10.3746/pnf.2021.26.4.459.
37. Loo B.-M., Erlund I., Koli R., Puukka P., Hellström J., Wähälä K., Mattila P., Jula A. Consumption of chokeberry (*Aronia mitschurinii*) products modestly lowered blood pressure and reduced low-grade inflammation in patients with mildly elevated blood pressure. *Nutrition Research*. 2016;36(11):1222–1230. DOI: 10.1016/j.nutres.2016.09.005.
38. Ryszawa A., Kawczyńska-Drózd A., Pryjma J., Czesnikiewicz-Guzik M., Adamek-Guzik T., Naruszewicz M., Korbut R., Guzik T.J. Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2006;57(4):611–626.
39. Yu W., Gao J., Hao R., Yang J., Wei J. Effects of simulated digestion on black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) anthocyanins and intestinal flora. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;58(4):1511–1523. DOI: 10.1007/s13197-020-04664-3.
40. Yaneva M. P., Botushanova A. D., Grigorov L. A., Kokov J. L., Todorova E. P., Krachanova M. G. Evaluation of the immunomodulatory activity of *Aronia* in combination with apple pectin in patients with breast cancer undergoing postoperative radiation therapy. *Folia Medica*. 2002;44:22–25.
41. Matsumoto M., Hara H., Chiji H., Kasai T. Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* Elliot) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(8):2226–2229. DOI: 10.1021/jf034818q.
42. Kong Y., Yan T., Tong Y., Deng H., Tan C., Wan M., Wang M., Meng X., Wang Y. Gut Microbiota Modulation by Polyphenols from *Aronia melanocarpa* of LPS-Induced Liver Diseases in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;69(11):3312–3325. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c06815.
43. Bolling B. W., Taheri R., Pei R., Kranz S., Yu M., Durocher S. N., Brand M. H. Harvest date affects aronia juice polyphenols, sugars, and antioxidant activity, but not anthocyanin stability. *Food Chemistry*. 2015;187:189–196. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.106.
44. Valcheva-Kuzmanova S., Borisova P., Galunska B., Krasnaliev I., Belcheva A. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2004;56(3):195–201. DOI: 10.1016/j.etp.2004.04.012.
45. Pyun C.-W., Seo T.-S., Kim D.-J., Kim T.-W., Bae J.-S. Protective Effects of *Ligularia fischeri* and *Aronia melanocarpa* Extracts on Alcoholic Liver Disease (*In Vitro* and *In Vivo* Study). *BioMed Research International*. 2020;2020:9720387. DOI: 10.1155/2020/9720387.
46. Bushmeleva K., Vyshtakalyuk A., Terenzhev D., Belov T., Parfenov A., Sharonova N., Nikitin E., Zobov V. Radical Scavenging Actions and Immunomodulatory Activity of *Aronia melanocarpa* Propylene Glycol Extracts. *Plants*. 2021;10(11):2458. DOI: 10.3390/plants10112458.
47. Шабунин С. В., Бузлама В. С., Ермакова Т. И., Мещеряков Н. П., Бузлама С. В., Бузлама А. В., Трутаев И. В., Долгополов В. Н., Максимова Л. Н. Скрининг биостимулирующих и биоцидных веществ (адаптогены, бактерициды и другие препараты). Москва – Воронеж: Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии; 2006. 51 с.
48. Миронова А. Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К. 2012. 944 с.
49. Пугачева О. В., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Исследование элементного состава листьев аронии Мичурина (*Aronia Mitchurinii* Skvortsov & Maitulina). *Химия растительного сырья*. 2023;4:307–316. DOI: 10.14258/jcprm.20230411883.
50. Пугачева О. В., Панова К. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Определение экстрактивных веществ в листьях аронии Мичурина. *Биофармацевтический журнал*. 2023;15(4):3–6. DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-4-3-6.
51. Тринеева О. В., Пугачева О. В. Профиль биологически активных веществ листьев аронии Мичурина, произрастающей в условиях Центрального Черноземья. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(2):48–58. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1715.
52. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Панова К. Е. Валидация методики количественного определения антоцианов в аронии Мичурина листьях. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2023;22(4):214–222. DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.29.
53. Кубасова Е. Д., Крылов И. А., Корельская Г. В., Кубасов Р. В. Дубильные вещества растительного происхождения и некоторые механизмы их фармакологических свойств. *Вестник «Биомедицина и Социология»*. 2022;7(4):5–11. DOI: 10.26787/nydha-2618-8783-2022-7-4-5-11.
54. Азарова О. В., Галактионова Л. П. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия. *Химия растительного сырья*. 2012;4:61–78.
55. Герасимов М. А., Кошечкина А. С., Перова И. Б., Эллер К. И. Современные методы получения очищенных экстрактов антоцианов. *Фармация*. 2024;4(4):5–13. DOI: 10.29296/25419218-2024-04-01.

56. Сатывалдеева Ж.С. Характеристика основного химического состава и биологической активности некоторых стеринных высших растений. Студенческий научный форум. В сб.: Материалы XIII Международной студенческой научной конференции. Доступно по: <https://scienceforum.ru/2021/article/2018027306>. Ссылка активна на 20.08.2024.
57. Пугачева О.В., Панова К.Е., Брежнева Т.А., Сливкин А.И. Выбор оптимальной лекарственной формы листьев аронии Мичурина. *Биофармацевтический журнал*. 2023;15(5):3–5. DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-5-3-5.
12. Eliseeva L. G., Blinnikova O. M. Nutritional value of chokeberry fruits grown in the Central Black Sea region of Russia. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya*. 2013;4:111–112. (In Russ.)
13. Eliseeva L. G., Blinnikova O. M. Chokeberry fruits are a source of vitamin and mineral complexes. *Food Industry*. 2013;4:28–29. (In Russ.)
14. Brezhneva T. A., Nedoluzhko E. I., Logvinova E. E., Gudkova A. A., Slivkin A. I. The study of biologically active substances in the leaves of black chokeberry. *Vestnik VGU. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2018;2:306–311. (In Russ.)
15. Nedoluzhko E. I., Brezhneva T. A., Logvinova E. E. et al. Study of biologically active substances of chokeberry leaves. University science: a look into the future. In: Collection of scientific papers based on the materials of the International Scientific Conference dedicated to the 83rd anniversary of Kursk State Medical University. 2018. P. 74–77. (In Russ.)
16. Pugacheva O. V., Sviridova O. L., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Validation of a method for the quantification of tannins in black chokeberry leaves. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2022;1:98–104. (In Russ.)
17. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Determination of tannins in the leaves of chokeberry by various analytical methods. In: Collection of proceedings of the seventh scientific conference "Modern trends in the development of health-saving technologies". 2019. P. 292–298. (In Russ.)
18. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Determination of tannins in chokeberry leaves to select the timing of raw material procurement. In: "Modern trends in the development of health-saving technologies", collection of materials from the IX International Scientific Conference of Young People scientists. 2021. P. 345–350. (In Russ.)
19. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Determination of flavonoids in chokeberry leaves by TLC. "Ways and forms of improving pharmaceutical education. In: Current issues in the development and research of new drugs", collection of proceedings of the 8th International Scientific and Methodological Conference. 2022. P. 429–433. (In Russ.)
20. Pugacheva O. V., Trineeva O. V., Panova K. E. Quantitative determination of anthocyanins in leaves of chokeberry Michurin. In: Ways and forms of improving pharmaceutical education. Current issues of development and research new medicines. Collection of proceedings of the 9th International Scientific and Methodological Conference. Voronezh. 2023. P. 356–359. (In Russ.)
21. Pugacheva O. V., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Development and validation of a method for the quantification of flavonoids in aronia Michurina leaves. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2023;3:92–99. (In Russ.)
22. Pugacheva O. V., Trineeva O. V., Slivkin A. I. Study of the composition of aronia michurina leaves by gas chromatography-mass spectrometry. *Vestnik VGU. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2024;1:112–122. (In Russ.)
23. Suvorova I. N., Davydov V. V., Prozorovskiy V. N., Shvets V. N. Peculiarity of extract from Aronia melanocarpa leaves antioxidant action for the brain. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2005;51(1):66–71. (In Russ.)

REFERENCES

1. Vinogradova Yu. K., Kuklina A. G. Michurin's chokeberry: from creation to naturalization. Moscow: GEOS; 2014. 137 p. (In Russ.)
2. Kuklina A. G. Naturalisation aronia Mitschurinii in the forests of european Russia. *Forestry information*. 2015;2:46–56. (In Russ.)
3. Kokotkiewicz A., Jaremicz Z., Luczkiewicz M. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food*. 2010;13(2):255–269. DOI: 10.1089/jmf.2009.0062.
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Moscow: Federalnaia elektronnaia meditsinskaia biblioteka; 2018. 7019 p. (In Russ.)
5. Brand M. H., Connolly B. A., Levine L. H., Richards J. T., Shine S. M., Spencer L. E. Anthocyanins, total phenolics, ORAC and moisture content of wild and cultivated dark-fruited Aronia species. *Scientia Horticulturae*. 2017;224:332–342. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.021.
6. Deineka V. I., Tret'akov M. Y., Oleiniz Y. Y., Pavlov A. A., Deineka L. A., Blinova I. P., Manokhina L. A. Determination of anthocyanins and chlorogenic acids in fruits of aronia genus: the experience of chemosystemetics. *Chemistry of plant raw material*. 2019;2:161–167. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprpm.2019024601.
7. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative *in vitro* studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa's* extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.
8. Abdullina R. G., Pupykina K. A., Denisova S. G., Pupykina V. V. Biochemical composition of fruits of some representatives of the genus *Sorbus* L. in collection of the south-ural botanical garden. *Chemistry of plant raw material*. 2021;3:235–243. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprpm.2021037601.
9. Blinnikova O. M. The vitamin value of the black chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*). *Vestnik MichGAU*. 2013;2:56–59. (In Russ.)
10. Blinnikova O. M. Nutritional value of chokeberry fruits and prospects for their use in the production of food products for functional nutrition. "Innovative technologies in the agro-industrial complex." In: International scientific and practical conference. 2018. P. 294–298. (In Russ.)
11. Gareeva G. M., Hasanova L. A., Hasanova Z. M. Healing properties of chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Bulletin of the Bashkir State Pedagogical University named after. M. Akmulla*. 2018;2:36–38. (In Russ.)

24. Ipatova O. M., Prozorovskaya N. N., Prozorovsky V. N., Knyazhev V. A., Baranova V. S., Gruzdyeva A. E. Extract of chokeberry leaves with biological activity, and a method for its preparation. Patent RUS No. 2171111. Appl. 05.05.2000. Publ. 27.07.2001. Available at: <https://patentimages.storage.googleapis.com/74/9a/85/256ef6a82683f1/RU2171111C1.pdf>. Accessed: 07.01.2024. (In Russ.)
25. Efenberger-Szmechtyk M., Nowak A., Czyżowska A., Śniadowska M., Otlewska A., Żyżelewicz D. Antibacterial mechanisms of *Aronia melanocarpa* (Michx.), *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. leaf extracts. *Food Chemistry*. 2021;350:129218. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129218.
26. Valcheva-Kuzmanova S., Kuzmanov K., Mihova V., Krasnaliyev I., Borisova P., Belcheva A. Antihyperlipidemic effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2007;62(1):19–24. DOI: 10.1007/s11130-006-0036-2.
27. Martin D. A., Taheri R., Brand M. H., Draghi A., Sylvester F., Bolling B. W. Anti-inflammatory activity of aronia berry extracts in murine splenocytes. *Journal of Functional Foods*. 2014;8(1):68–75. DOI: 10.1016/j.jff.2014.03.004.
28. Ohgami K., Ilieva I., Shiratori K., Koyama Y., Jin X.-H., Yoshida K., Kase S., Kitaichi N., Suzuki Y., Tanaka T., Ohno S. Anti-inflammatory effects of Aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2005;46(1):275–281. DOI: 10.1167/iovs.04-0715.
29. Zhao Y., Liu X., Zheng Y., Liu W., Ding C. *Aronia melanocarpa* polysaccharide ameliorates inflammation and aging in mice by modulating the AMPK/SIRT1/NF-κB signaling pathway and gut microbiota. *Scientific Reports*. 2021;11(1):20558. DOI: 10.1038/s41598-021-00071-6.
30. Bell D. R., Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology*. 2006;100(4):1164–1170. DOI: 10.1152/jappphysiol.00626.2005.
31. Daskalova E., Delchev S., Vladimirova-Kitova L., Kitov S., Denev P. Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Functional Beverages Increase HDL-Cholesterol Levels in Aging Rats. *Foods*. 2021;10(7):1641. DOI: 10.3390/foods10071641.
32. Wu X., Gu L., Prior R. L., McKay S. Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of *Ribes*, *Aronia*, and *Sambucus* and Their Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(26):7846–7856. DOI: 10.1021/jf0486850.
33. Appel K., Meiser P., Millán E., Collado J. A., Rose T., Gras C. C., Carle R., Muñoz E. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF-κB and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Fitoterapia*. 2015;105:73–82. DOI: 10.1016/j.fitote.2015.06.009.
34. Szopa A., Kokotkiewicz A., Kubica P., Banaszczak P., Wojtanowska-Krośniak A., Krośniak M., Marzec-Wróblewska U., Badura A., Zagrodzki P., Bucinski A., Luczkiewicz M., Ekiert H. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of *Aronia* sp.: *A. melanocarpa*, *A. arbutifolia*, and *A. xprunifolia* and their antioxidant activities. *European Food Research and Technology*. 2017;243:1645–1657. DOI: 10.1007/s00217-017-2872-8.
35. Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045.
36. Kim D.-W., Han H.-A., Kim J.-K., Kim D.-H., Kim M.-K. Comparison of Phytochemicals and Antioxidant Activities of Berries Cultivated in Korea: Identification of Phenolic Compounds in *Aronia* by HPLC/Q-TOF MS. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2021;26(4):459–468. DOI: 10.3746/pnf.2021.26.4.459.
37. Loo B.-M., Erlund I., Koli R., Puukka P., Hellström J., Wähälä K., Mattila P., Jula A. Consumption of chokeberry (*Aronia mitschurinii*) products modestly lowered blood pressure and reduced low-grade inflammation in patients with mildly elevated blood pressure. *Nutrition Research*. 2016;36(11):1222–1230. DOI: 10.1016/j.nutres.2016.09.005.
38. Ryszawa A., Kawczyńska-Drózd A., Pryjma J., Czesnikiewicz-Guzik M., Adamek-Guzik T., Naruszewicz M., Korbut R., Guzik T. J. Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2006;57(4):611–626.
39. Yu W., Gao J., Hao R., Yang J., Wei J. Effects of simulated digestion on black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) anthocyanins and intestinal flora. *Journal of Food Science and Technology*. 2021;58(4):1511–1523. DOI: 10.1007/s13197-020-04664-3.
40. Yaneva M. P., Botushanova A. D., Grigorov L. A., Kokov J. L., Todorova E. P., Krachanova M. G. Evaluation of the immunomodulatory activity of *Aronia* in combination with apple pectin in patients with breast cancer undergoing postoperative radiation therapy. *Folia Medica*. 2002;44:22–25.
41. Matsumoto M., Hara H., Chiji H., Kasai T. Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* Elliot) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(8):2226–2229. DOI: 10.1021/jf034818q.
42. Kong Y., Yan T., Tong Y., Deng H., Tan C., Wan M., Wang M., Meng X., Wang Y. Gut Microbiota Modulation by Polyphenols from *Aronia melanocarpa* of LPS-Induced Liver Diseases in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2021;69(11):3312–3325. DOI: 10.1021/acs.jafc.0c06815.
43. Bolling B. W., Taheri R., Pei R., Kranz S., Yu M., Durocher S. N., Brand M. H. Harvest date affects aronia juice polyphenols, sugars, and antioxidant activity, but not anthocyanin stability. *Food Chemistry*. 2015;187:189–196. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.04.106.
44. Valcheva-Kuzmanova S., Borisova P., Galunska B., Krasnaliyev I., Belcheva A. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2004;56(3):195–201. DOI: 10.1016/j.etp.2004.04.012.
45. Pyun C.-W., Seo T.-S., Kim D.-J., Kim T.-W., Bae J.-S. Protective Effects of *Ligularia fischeri* and *Aronia melanocarpa* Extracts on Alcoholic Liver Disease (In Vitro and In Vivo Study). *BioMed Research International*. 2020;2020:9720387. DOI: 10.1155/2020/9720387.
46. Bushmeleva K., Vyshtakalyuk A., Terenzhev D., Belov T., Parfenov A., Sharonova N., Nikitin E., Zobov V. Radical Scavenging Actions and Immunomodulatory Activity of

- Aronia melanocarpa* Propylene Glycol Extracts. *Plants*. 2021;10(11):2458. DOI: 10.3390/plants10112458.
47. Shabunin S.V., Buzlama V.S., Ermakova T.I., Meshcheryakov N.P., Buzlama S.V., Buzlama A.V., Trutaev I.V., Dolgoplov V.N., Maksimova L.N. Screening of biostimulating and biocidal substances (adaptogens, bactericides and other drugs). Moscow – Voronezh: All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy; 2006. 51 p. (In Russ.)
 48. Mironova A. N., editor. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Moscow: Grif i K. 2012. 944 p. (In Russ.)
 49. Pugacheva O.V., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. Research of element composition of aronia mitchurina (*Aronia mitchurinii* Skvortsov & Maitulina) leaves. *Chemistry of plant raw material*. 2023;4:307–316. (In Russ.) DOI: 10.14258/jcprm.20230411883.
 50. Pugacheva O.V., Panova K.E., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. Determination of Extractives in the Leaves of Aronia Mitchurinii. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2023;14(4):3–6. (In Russ.) DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-4-3-6.
 51. Trineeva O.V., Pugacheva O.V. Profile of biologically active substances of Aronia mitschurinii leaves growing in the conditions of the Central Black Earth region. *Drug development & registration*. 2024;13(2):48–58. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1715.
 52. Pugacheva O.V., Trineeva O.V., Panova K.E. Validation of a method for the quantification of antocianins in Aronia Michurina leaves. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2023;22(4):214–222. (In Russ.) DOI: 10.37903/vsgma.2023.4.29.
 53. Kubasova E.D., Krylov I.A., Korelskaya G.V., Kubasov R.V. Plant tannins and some mechanisms of their pharmacological properties. *Bulletin "Biomedicine & Sociology"*. 2022;7(4):5–11. (In Russ.) DOI: 10.26787/nydha-2618-8783-2022-7-4-5-11.
 54. Azarova O.V., Galaktionova L.P. Flavonoids: anti-inflammatory mechanism of action. *Khimiya rastitel'nogo syrya*. 2012;(4):61–78. (In Russ.)
 55. Gerasimov M.A., Koshechkina A.S., Perova I.B., Eller K.I. Modern methods for obtaining purified anthocyanin extracts. *Pharmacy*. 2024;(4):5–13. (In Russ.) DOI: 10.29296/25419218-2024-04-01.
 56. Satyvaldeeva Zh.S. Characteristics of the main chemical composition and biological activity of some sterols of higher plants. Student scientific forum. In: Proceedings of the XIII International student scientific conference. Available at: <https://scienceforum.ru/2021/article/2018027306>. Accessed: 20.08.2024. (In Russ.)
 57. Pugacheva O.V., Panova K.E., Brezhneva T.A., Slivkin A.I. Selection of the Optimal Dosage Form of Aronia Michurinii Leaves. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2023;15(5):3–5. (In Russ.) DOI: 10.30906/2073-8099-2023-15-5-3-5.

pharmtech & ingredients

**27-я Международная выставка оборудования,
сырья и технологий для фармацевтического
производства**

27th International exhibition of equipment, raw materials
and technologies for pharmaceutical production

25–28.11.2025

Москва, Крокус Экспо
Crocus Expo, Moscow, Russia

**Забронируйте
СТЕНД**

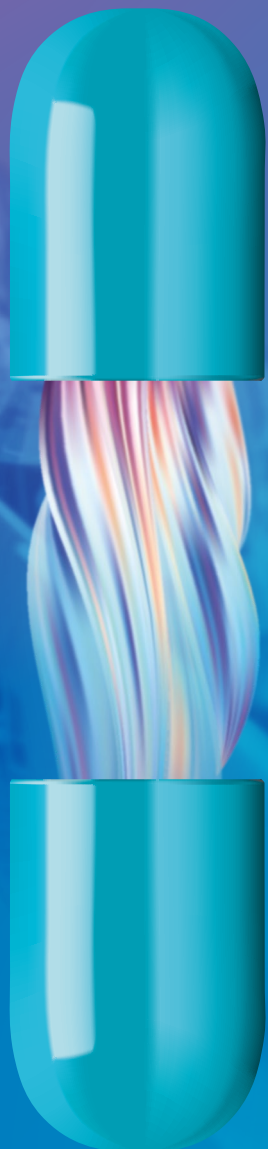
Book your stand

pharmtech-expo.ru

+7 495 799 55 85
pharmtech@ite.group



ОРГАНИЗАТОР
ORGANISER



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, фармацевтические науки, биологические 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=hdac5trtkb73ae013ofk4g8nr1v1>)

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 исследование 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: Синдрол 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, написания 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., Kreyenbuhl 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.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 подрисуночной подписью на русском и английском языках. В подрисуночных подписях не должно быть аббревиатур. Внутрисуночные 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 подрисуночных подписей 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.