WWW.PHARMJOURNAL.RU

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

RESEARCH & PRODUCTION JOURNAL

ISSN 2305-2066 (Print)
ISSN 2658-5049 (Online)

ВНЕСЕН В ПЕРЕЧЕНЬ
ВАК Scopus

ФАРМ-АКТИВ

ГК ФАРМ-АКТИВ

В РУКАХ ПРОФЕССИОНАЛОВ

ЛЮБОЙ ПРОЕКТ СТАНОВИТСЯ УСПЕШНЫМ!

ОТ ПОСТАВКИ ОБОРУДОВАНИЯ
ДО КВАЛИФИКАЦИИ

INFO@PHARMJOURNAL.RU

Том 14, № 4. 2025
Volume 14, No. 4. 2025

18+

Summum bonum medicinae sanitas

ЦФА | центр фармацевтической аналитики

+7 495 281 81 11
info@cpha.ru
www.cpha.ru
117149, Москва,
Симферопольский бульвар, д. 8

Посетить сайт:



ЦЕНТР ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ АНАЛИТИКИ

Сертифицированный по требованиям GLP (ГОСТ 33044-2014) лабораторный центр, выполняющий высококачественные исследования в области разработки и контроля инновационных и воспроизведенных лекарственных средств

ПОЧЕМУ МЫ?

ЛИДЕР ОТРАСЛИ 2023

СЕРТИФИКАТЫ

Первая в России биоаналитическая лаборатория, сертифицированная по GLP

СОВРЕМЕННОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Все исследования выполняются на современном проверенном оборудовании

ОПЫТ

100+ исследований выполняются ежегодно

ЛУЧШИЕ СПЕЦИАЛИСТЫ

В составе лаборатории работают 30+ сотрудников

WWW.PHARMJOURNAL.RU

ISSN 2305-2066 (Print)
ISSN 2658-5049 (Online)

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Научно-производственный журнал

2025. Том 14, № 4

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

Research & production journal

2025. Volume 14, No. 4

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 GxP-окружении. Журнал принимает к рассмотрению обзорные и экспериментальные статьи по данной тематике. К публикации в журнале приглашаются как отечественные, так и зарубежные исследователи в области разработки и регистрации лекарственных средств.

Главный редактор

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

Заместители главного редактора

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

Мустафин Р. И. – 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 ЛБАИ ИЦ 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 Лулумбы», 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 ФГБОУ 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, Москве, 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 ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия

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

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

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 ФГБОУ 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 фармации 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 технологи 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 технологи 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 (cc) BY 4.0
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
Rouslan 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 "Binergy"; 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, Moscowskiy 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
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

Мероприятия 32

Поиск и разработка новых лекарственных средств

Синтез и доказательство строения бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) с фениленовыми мостиками между гетероциклическими фрагментами
Н. А. Носова, Д. А. Колесник, И. П. Яковлев, М. П. Новикова, А. А. Варваркина, П. О. Левшукова, Г. В. Ксенофонтова 34

Биосинтетическая активность гардении жасминовидной *Gardenia jasminoides* J. Ellis в культурах *in vitro* (обзор)
А. С. Бугаев, В. С. Ражновская, Н. С. Пивоварова, М. Н. Повыдыш 41

Морфологическая и химическая вариабельность фенотипов родиолы розовой, культивируемой на северо-западе России
Е. В. Бабушкина, Н. А. Дудецкая, Е. В. Жохова, А. А. Латыпов, Н. Р. Луцева, А. В. Клемпер, М. Н. Повыдыш, Н. В. Скляревская 51

Фармацевтическая технология

Изучение вопросов поддержания стабильности термочувствительных систем на основе полоксамеров при автоклавировании
Е. О. Бахрушина, А. М. Афонина, В. С. Пыжов, И. Б. Михел 60

Реологическое изучение инъекционных жидких имплантатов
Е. О. Бахрушина, А. И. Заренкова, О. В. Кытько, Е. И. Карпова, И. А. Мяделец, Ю. Л. Васильев 68

Разработка состава вагинальных таблеток с заданными параметрами профиля высвобождения
А. В. Мелешко, А. В. Панов, С. А. Кедик 79

Разработка технологии получения комбинированного гепатопротекторного средства
И. Е. Каухова, О. Н. Абросимова, Б. А. Перес, Н. Ю. Сипкина, Е. К. Новикова, И. Е. Смехова, А. Л. Марченко 90

Оптимизация технологических параметров получения липидных наночастиц как систем доставки лекарственных средств
Ю. М. Коцур, С. Д. Малков, К. О. Зарифи, К. А. Гусев, Д. Н. Маймистов, Е. В . Флисюк, И. А. Наркевич 101

Разработка поликомплексных носителей на основе гидроксипропилцеллюлозы и Carbopol® для гастроретентивной доставки лекарственных средств
У. Н. Заболотная, В. Р. Тимергалиева, Ш. Ф. Насибуллин, Р. И. Мустафин 108

Разработка и фармакотехнологические исследования трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом
К. Д. Якимов, У. В. Ногаева, Е. В. Флисюк 125

Методы анализа лекарственных средств

Разработка методик контроля качества химического предшественника – рекомбинантного белка с анкириновыми повторами для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2 в злокачественных опухолях
Р. Н. Варвашеня, Г. Е. Янович, Е. В. Плотников, А. А. Шульга, Е. В. Коновалова, Р. Х. Зиганшин, С. М. Деев, К. С. Бразовский, М. В. Белоусов, В. И. Чернов, М. С. Ларькина 138

Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*Lysimachia vulgaris* L.)
Е. М. Крипак, Е. В. Жохова 152

Разработка и валидация ВЭЖХ-методики количественного определения кумарина в бобах тонка
В. С. Шуракова, Е. С. Сурбеева, С. В. Стрелков, И. И. Тернинко 164

Полуколичественная методика определеления производных кумарина в объектах различного происхождения
В. С. Шуракова, Е. С. Кириллова, В. А. Тихомиров, Е. С. Сурбеева, И. И. Тернинко 174

Доклинические и клинические исследования

Физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики: прошлое, настоящее, будущее (обзор)
Н. С. Багаева, Е. И. Евтюхина, Д. С. Щелгачева, М. О. Попова, О. А. Арчакова, Т. Н. Комаров, А. Н. Марченко, Е. А. Малашенко, И. Е. Шохин 183

Влияние хромонсодержащего производного аллилморфолина на поведение и температуру мелких лабораторных животных в условиях стресса
Н. С. Курмазов, Ю. И. Сысоев, Д. Д. Шиц, М. М. Пучик, Н. В. Петров, И. А. Титович, С. В. Оковитый 195

Подострая токсичность, местнораздражающее и аллергизирующее действие экстракта копеечника Семенова (*Hedysarum semenowii* Regel & Herder)
А. С. Келеке, Л. Н. Ибрагимова, З. Б. Сакипова, Р. И. Кулманбетов, Т. С. Нургожин, М. К. Сулейменов, Г. С. Ибадуллаева, А. Л. Ахелова, А. Ю. Гришина 208

Изучение гастропротекторных свойств декспантенола при НПВП-гастропатии (доклинические исследования)
А. Ю. Кузнецов, А. В. Бузлама, С. Доба 221

Целевое метаболомное профилирование множественной миеломы: диагностика и оценка эффективности терапии
В. Г. Варзиева, К. М. Шестакова, А. А. Болдин, Д. А. Куцакина, Ю. Ю. Кириченко, Ю. Н. Беленков, И. С. Ильгисонис, В. В. Тарасов, С. А. Апполонова 229

Изучение распределения нового производного 4,5-дигидроизоксазол-5-карбоксамида на крысах
И. И. Яичков, М. К. Корсаков, Н. Н. Вольхин, С. С. Петухов, А. Н. Тюшина, В. Е. Зайкова, О. Э. Лазарянц 249

Эффективность производного этилметилгидроксипиридина сукцината на модели интермиттирующей гипоксии в сравнении с референтным препаратом
Г. А. Плиско, Д. Ю. Ивкин, С. В. Оковитый, В. Ц. Болотова, Е. М. Евгеньева, Н. С. Курмазов, Т. А. Пятиизбянцев, М. В. Журавлева, М. А. Тихая, Е. Е. Падерина 261

Роль производных малоновой кислоты в модуляции метаболических путей в почках при хронической сердечной недостаточности
А. Ю. Гришина, Д. Ю. Ивкин, А. А. Карпов, А. И. Большухина, А. Р. Муслимов, А. С. Иванов, О. В. Буюклинская 270

Изучение фармакокинетики препарата «Малобен» при однократном и многократном дозировании у добровольцев
П. К. Карнакова, Т. Н. Комаров, Н. С. Багаева, Д. Ю. Ивкин, О. А. Арчакова, И. Е. Шохин, И. А. Наркевич 280

Регуляторные вопросы

Реализация принципов надлежащей исследовательской практики на примере системы менеджмента качества университета
И. С. Гиба, А. Е. Пронских, М. В. Минтель, А. А. Чувашов 295

Возможности экспортного потенциала фармацевтической отрасли (обзор)
В. Н. Шестаков, Н. В. Пятигорская 307

Юбилей 318

CONTENTS

Introduction 10

Events 32

Research and development of new drug products

Synthesis and proof of the structure of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazine-6-ones) with phenylene bridges between heterocyclic fragments
Natalia A. Nosova, Denis A. Kolesnik, Igor P. Yakovlev, Marina P. Novikova, Anastasia A. Varvarkina, Polina O. Levshukova, Galina V. Ksenofontova 34

Biosynthetic activity of *Gardenia jasminoides* J. Ellis in *in vitro* cultures (review)
Artem S. Bugaev, Varvara S. Razhnovskaya, Nadezhda S. Pivovarova, Maria N. Povydysh 41

Morphological and chemical variability of phenotypes of *Rhodiola rosea* cultivated in north-west Russia
Evgenia V. Babushkina, Natalia A. Dudetskaya, Elena V. Zhokhova, Aidar A. Latypov, Natalya R. Lutseva, Aleksey V. Klemper, Maria N. Povydysh, Nelli V. Sklyarevskaya 51

Pharmaceutical Technology

Study of the issues of maintaining stability of poloxamer-based systems during autoclaving
Elena O. Bakhrushina, Alina M. Afonina, Victor S. Pyzhov, Iosif B. Mikhel 60

Rheological study of injectable liquid implants
Elena O. Bakhrushina, Anastasia I. Zarenkova, Olesya V. Kytko, Elena I. Karpova, Irina A. Myadelets, Yuriy L. Vasiliev 68

Development of a vaginal tablet formulation with specified release profile parameters
Anastasiya V. Meleshko, Aleksey V. Panov, Stanislav A. Kedik 79

Development of a technology for a combined hepatoprotective agent
Irina E. Kauhova, Olesya N. Abrosimova, Byron A. Perez, Nadezhda Y. Sipkina, Ekaterina K. Novikova, Irina E. Smekhova, Alexei L. Marchenko 90

Optimisation of technological parameters for production of lipid nanoparticles for delivery of mRNA
Yuliya M. Kotsur, Sergey D. Malkov, Kseniya O. Zarifi, Konstantin A. Gusev, Denis N. Maimistov, Elena V. Flisyuk, Igor A. Narkevich 101

Development of polycomplex carriers based on hydroxypropyl cellulose and Carbopol® for gastroretentive drug delivery
Ulyana N. Zabolotnaya, Venera R. Timergalieva, Shamil F. Nasibullin, Rouslan I. Moustafine 108

Development and pharmacotechnological studies of transdermal patches with trans-resveratrol
Kirill D. Yakimov, Ul'yana V. Nogaeva, Elena V. Flisyuk 125

Analytical Methods

Development of quality control techniques of chemical precursor – recombinant protein with ankyrin repeats for radionuclide imaging of HER2 overexpression in malignant tumors
Ruslan N. Varvashenya, Gleb E. Yanovich, Evgeny V. Plotnikov, Aleksey A. Shulga, Elena V. Konovalova, Rustam H. Zigashin, Sergey M. Deev, Konstantin S. Brazovskii, Mikhail V. Belousov, Vladimir I. Chernov, Maria S. Larkina 138

Development and validation of a method for quantitative determination of the flavonoid content in the herb of yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.)
Ekaterina M. Kripak, Elena V. Zhokhova 152

Development and validation of a HPLC-method for the quantitative determination of coumarin in tonka beans
Valeriya S. Shurakova, Elizaveta S. Surbeeva, Stanislav V. Strelkov, Inna I. Terninko 164

Semi-quantitative method for determining coumarin derivatives in objects of various origin
Valeriya S. Shurakova, Elizaveta S. Kirillova, Vyacheslav A. Tikhomirov, Elizaveta S. Surbeeva, Inna I. Terninko 174

Preclinical and clinical study

Physiologically-based pharmacokinetic modeling: past, present and future (review)
Natalia S. Bagaeva, Elena I. Evtyukhina, Dana S. Shchelgacheva, Mariia O. Popova, Olga A. Archakova, Timofey N. Komarov, Anna N. Marchenko, Evgeniya A. Malashenko, Igor E. Shohin 183

Effect of the chromone-containing derivative allylmorpholine on behavior and temperature of small laboratory animals under stress conditions
Nikita S. Kurmazov, Yuri I. Sysoev, Daria D. Shitc, Maria M. Puchik, Nikita V. Petrov, Irina A. Titovich, Sergey V. Okovityi 195

Subacute toxicity, local irritant, and allergenic effects of *Hedysarum semenowii* extract
Anel S. Keleke, Liliya N. Ibragimova, Zuriyadda B. Sakipova, Ruslan I. Kulmanbetov, Talgat S. Nurgozhin, Marat K. Suleimenov, Galiya S. Ibadullayeva, Aiman L. Akhelova, Anna Yu. Grishina 208

The dexpantenol's gastroprotective proprieties investigation use by NSAID-gastropathy model (preclinical study)
Alexandr Yu. Kuznetsov, Anna V. Buzlama, Solaiman Doba 221

Targeted metabolomic profiling of multiple myeloma: diagnostics and treatment efficacy
Valeria G. Varzieva, Ksenia M. Shestakova, Andrey A. Boldin, Daria A. Kutsakina, Yulia Yu. Kirichenko, Yuri N. Belenkov, Irina S. Ilgisonis, Vadim V. Tarasov, Svetlana A. Appolonova 229

The study of distribution of a new 4,5-dihydroisoxazole-5-carboxamide derivative in rats
Ilya I. Yaichkov, Mikhail K. Korsakov, Nikita N. Volkhin, Sergey S. Petukhov, Alena N. Tyushina, Valeria E. Zaykova, Olga E. Lasaraynz 249

Efficacy of ethylmethylhydroxypyridine succinate derivative in a model of intermittent hypoxia in comparison with the reference drug
Grigory A. Plisko, Dmitry Yu. Ivkin, Sergey V. Okovitiy, Vera Ts. Bolotova, Ekaterina M. Evgenyeva, Nikita S. Kurmazov, Timofey A. Pyatizbyantsev, Margarita V. Zhuravleva, Maria A. Tikhaya, Ekaterina E. Paderina 261

The role of malonic acid derivate in the modulation of metabolic pathways in the kidneys during chronic heart failure
Anna Yu. Grishina, Dmitry Yu. Ivkin, Andrey A. Karpov, Arina I. Bolshukhina, Albert R. Muslimov, Artem S. Ivanov, Olga V. Buyuklinskaya 270

Pharmacokinetic study of Maloben after single and multiple doses in healthy volunteers
Polina K. Karnakova, Timofey N. Komarov, Natalia S. Bagaeva, Dmitry Yu. Ivkin, Olga A. Archakova, Igor E. Shohin, Igor A. Narkevich 280

Regulatory Issues

Implementation of the good research practice principles using the example of the university quality management system
Ivan S. Giba, Aleksandra E. Pronskikh, Marina V. Mintel, Anton A. Chuvashov 295

Export potential of the pharmaceutical industry (review)
Vladislav N. Shestakov, Natalia V. Pyatigorskaya 307

Anniversary 318

Редакционная статья / Editorial article

XIX конгресс «Разработка и регистрация лекарственных средств»

17–18 февраля 2026 года в Москве состоится ежегодный двухдневный конгресс «Разработка и регистрация лекарственных средств». Тематика конгресса традиционно охватывает все ключевые этапы жизненного цикла лекарственного средства, от разработки до пострегистрационных исследований.

XIX Congress "Drug development & registration"

February 17–18, 2026, Moscow will host the annual two-day congress "Drug development and registration". The congress's topics traditionally cover all key stages of a drug's life cycle, from development to post-registration studies.



Конгресс «Разработка и регистрация лекарственных средств» проводится ежегодно с 2012 года и за это время стал уважаемым и ожидаемым отраслевым мероприятием. XVIII конгресс «Разработка и регистрация лекарственных средств» посетили более 200 слушателей, с нами были более 60 докладчиков, нас поддержали 20+ партнеров.

Организаторы конгресса – научно-производственный журнал **«Разработка и регистрация лекарственных средств»**, **ООО «Центр Фармацевтической Аналитики»**, научный журнал **«Гербариум».**

В программе предстоящего конгресса запланированы нескольких секций, где мы обсудим вопросы фармацевтической разработки и регистрации лекарственных средств, регуляторные вопросы действующего законодательства, современные тенденции в доклинических, клинических и регистрационных лабораторных исследованиях, а также другие темы. Кроме того, будут представлены секции, рассматривающие вопросы разработки и регистрации отдельных групп лекарственных средств, в том числе биотехнологических.

В рамках предстоящего конгресса планируется проведение круглых столов и мастер-классов, в том числе по биостатистике и фармакокинетике, по обеспечению качества, по ТСКР, по исследованиям и разработке РФЛП, аналитическим методикам контроля качества, а также надлежащей публикационной







практике и другим темам. Также предоставим слово нашим молодым ученым в рамках «Молодежной лиги РРЛС».

Своими знаниями поделятся представители ведущих производителей и разработчиков лекарственных средств, а также юристы и представители регуляторных органов в сфере фармацевтики и здравоохранения.

Слушатели конгресса: фармацевтические предприятия-производители и их сотрудники из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудники лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений.

Следите за новостями XIX конгресса **«Разработка и регистрация лекарственных средств»** на сайте https://rrls-congress.ru/

До встречи на мероприятии!

Редакционная статья / Editorial article

Резолюция открытой дискуссии «Регуляторные аспекты локализации ВТЛП в России» X Всероссийская GMP-конференция Москва, 15–17 сентября 2025 г., Кластер «Ломоносов»

В рамках X Всероссийской GMP-конференции прошла сессия, посвященная вопросам регуляторной науки в сфере высокотехнологичных лекарственных препаратов в Российской Федерации.

Open Discussion Resolution "Regulatory Aspects of Localization of High-Technology Drugs in Russia" 10th Pan-Russian GMP Conference Moscow, September 15–17, 2025, Lomonosov Cluster

As part of the 10th Pan-Russian GMP Conference, a session was held dedicated to regulatory science issues in the field of high-tech pharmaceuticals in the Russian Federation.



В обсуждении приняли участие эксперты Совета РАН по эволюционной медицине и медицинскому наследию, представители Государственной думы, федеральных органов исполнительной власти, фармацевтической индустрии и ведущих национальных медицинских центров:

Филатова Ирина Анатольевна (модератор дискуссии)

Депутат Государственной Думы, руководитель Экспертного совета по развитию конкуренции в сфере фармацевтической деятельности при Комитете Государственной Думы по развитию конкуренции.

Денисова Елена Владимировна

Заместитель директора Департамента развития фармацевтической и медицинской промышленности Минпромторга РФ.

г-н Хорхе Каналес

Глава Национального агентства по лекарственным средствам, Чили.

Бурлакина Наталья Владимировна

Заместитель начальника Управления инспектирования производства лекарственных средств ФБУ «ГИЛС и НП».

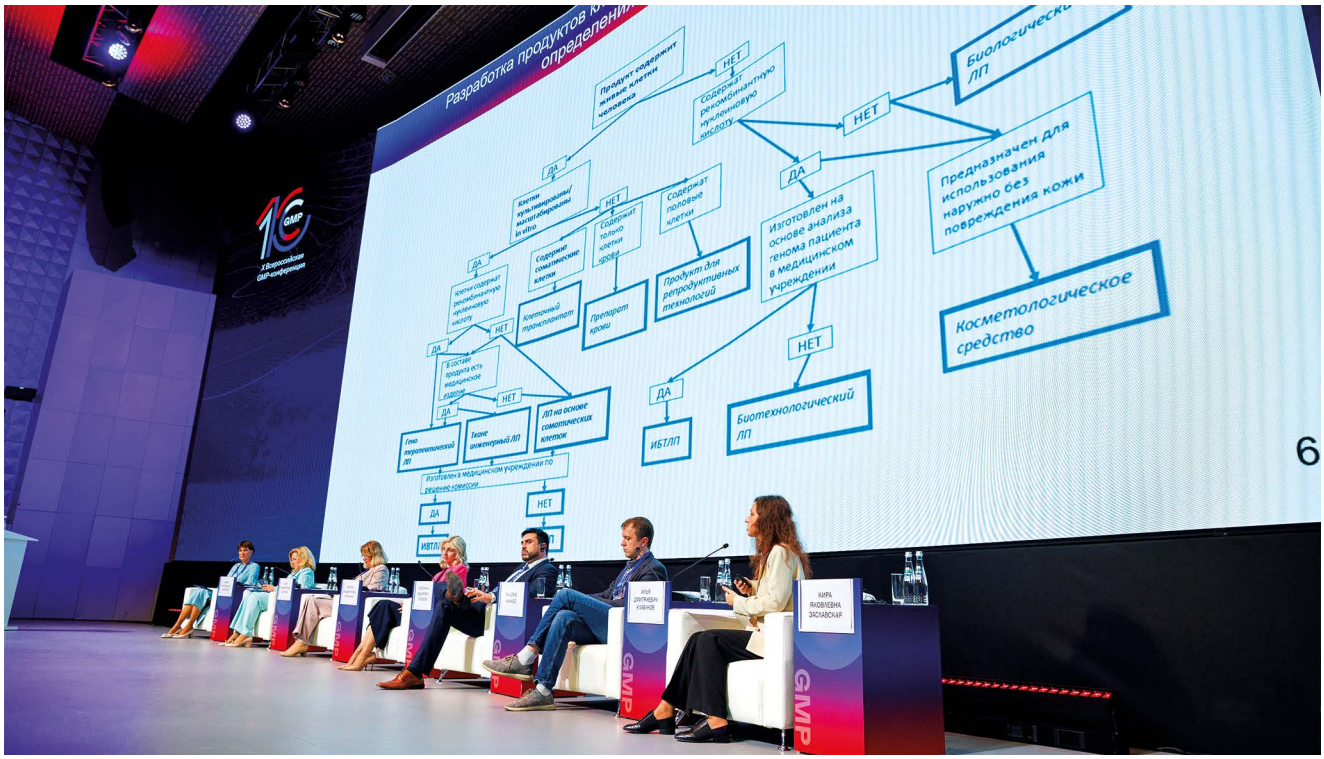
Яковлева Екатерина Вадимовна
Директор отдела регистрации препаратов, Россия и Евразия, АстраЗенека.
Клабуков Илья Дмитриевич
Заведующий отделом регенеративной медицины Центра инновационных радиологических и регенеративных технологий ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

Дискуссия была посвящена поиску практических решений для ускорения доступа пациентов к генотерапевтическим и клеточным препаратам, которые позволят перейти от отдельных клинических случаев к формированию полноценной экосистемы разработки, производства и клинического применения высокотехнологичных лекарственных препаратов. Особое внимание уделялось необходимости локализации производства и выработки научно обоснованных подходов к регулированию препаратов CAR-T клеточной терапии, созданию правовых механизмов, обеспечивающих быстрый и безопасный доступ пациентов к инновационным методам лечения.

Отдельным предметом обсуждения стало разграничение правовых режимов для различных категорий продуктов. Было подчеркнуто, что биомедицинские клеточные продукты (БМКП), регулируемые в рамках Федерального закона № 180-ФЗ, и высокотехнологичные лекарственные препараты (ВТЛП) представляют собой принципиально разные технологические платформы с точки зрения производственных решений, подходов к контролю и обеспечению качества. БМКП не являются лекарственными препаратами, их производство в медицинском центре «у постели больного» позволяет обеспечить доступ безальтернативным пациентам к CAR-T клеточной терапии, прежде всего, по жизненным показаниям. Выпуск данных продуктов не регулируется правилами GMP и несет ряд потенциальных рисков в отсутствие механизма индивидуальных ВТЛП.

Сегодня необходим собственный регуляторный подход для индивидуализированных, нерегистрируемых ВТЛП – препаратов, создаваемых для конкретного пациента в медицинских центрах в коллаборации с индустриальным партнером, с соблюдением требований GMP и прослеживаемости качества. Такой механизм, уже предусмотренный решением № 78 Евразийской экономической комиссии, позволяет ускорить доступ пациента к препаратам передовой терапии и повысить инвестиционную привлекательность разработок для индустриального партнера. Формирование правовой базы индивидуальных ВТЛП на национальном уровне станет ключевым условием для обеспечения своевременного доступа пациентов к персонализированной терапии, в том числе на основе генноинженерных иммунных клеток.

Функции аналитической и методологической поддержки при разработке нормативных решений в области клеточных и генотерапевтических технологий готов взять на себя Комитет по регуляторной науке при Совете РАН по эволюционной медицине и медицинскому наследию. Такая структура позволит объединить научное сообщество, клинических специалистов и представителей фармацевтической индустрии для подготовки предложений, основанных на практическом опыте ведущих национальных медицинских центров, и устранения регуляторных барьеров, сдерживающих внедрение инноваций.



Редакционная статья / Editorial article

Резолюция открытой дискуссии «Клеточная CAR-T-терапия: инновационные решения в медицине» международного форума «БИОПРОМ: промышленность и технологии для человека» Геленджик, 6–7 октября 2025 г., Геленджик Арена

Открытая дискуссия, посвященная вопросам локализации препаратов CAR-T клеточной терапии в Российской Федерации, состоялась с участием представителей Государственной думы, федеральных органов исполнительной власти, экспертного сообщества, фармацевтической индустрии и ведущих медицинских центров 6–7 октября в рамках «БИОПРОМ: промышленность и технологии для человека».

Open Discussion Resolution "Cellular CAR-T Therapy: Innovative Solutions in Medicine" within the framework of the International Forum BIOPROM: Industry and Technology for Humans Gelendzhik, October 6–7, 2025, Gelendzhik Arena

An open discussion on the localization of CAR-T cell therapy drugs in the Russian Federation was held with the participation of representatives of the State Duma, federal executive bodies, the expert community, the pharmaceutical industry, and leading medical centers. It took place on October 6–7 as part of the BIOPROM: Industry and Technology for Humans conference.



***В дискуссии приняли участие*:**

Денис Барановский (модератор дискуссии)
Руководитель локальных проектов по новым модальностям, АстраЗенека.

Юй Чжан
Вице-президент, руководитель по управлению портфелем и проектами АстраЗенека.

Михаил Федянин
Руководитель департамента науки НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава России.

Сергей Ларин
Заместитель директора института молекулярной и экспериментальной медицины НМИЦ ДГОИ им. Димы Рогачева.

Максим Королёв
Руководитель НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ИЦиГ СО РАН.

Ирина Филатова
Депутат Государственной Думы РФ, Руководитель Экспертного совета по защите конкуренции в сфере фармацевтической деятельности.



Сергей Максимкин

Советник, ООО «Институт развития медицинской и фармацевтической промышленности».

Екатерина Мельникова

Начальник лаборатории биомедицинских клеточных продуктов Испытательного центра экспертизы качества ЛС, НЦЭСМП Минздрава России.

Андрей Замятнин

Декан Факультета биоинженерии и биоинформатики, МГУ им. М. В. Ломоносова.

Алла Самойлова

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения.

В центре обсуждения находились регуляторные и организационные условия для внедрения в клиническую практику современных клеточных и генотерапевтических технологий, вопросы обеспечения технологического суверенитета в области производства высокотехнологичных лекарственных препаратов CAR-T клеточной терапии, а также вопросы обеспечения качества и внедрения практики «регуляторной науки».

Все участники мероприятия отметили, что доступ российских пациентов к передовым методам лечения возможен только при условии формирования в стране устойчивой инфраструктуры полного цикла разработки, производства и применения ВТЛП. Для этого требуется дальнейшее совершенствование нормативно-правовой базы, устранение правовых коллизий и правовых дефицитов, гармонизация национального и международного регулирования, развитие практики научного консультирования, подготовка квалифицированных кадров, а также использование инструментов государственной поддержки локализации. Особое значение имеет тесное взаимодействие индустриальных партнеров с ведущими медицинскими центрами, как источниками накопленной экспертизы применения CAR-T клеточной терапии, гарантами доступности и эффективности лечения. Вместе с тем, производство таких препаратов всегда должно осуществляться в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (GMP) для обеспечения стабильности, качества и безопасности для пациента, где технологические возможности организации производства на надлежащем уровне могут быть достигнуты при поддержке ведущих фармацевтических компаний.

Итогом дискуссии стало общее понимание необходимости консолидированных усилий государства, промышленности и научно-медицинского сообщества, направленных на ускорение локализации полного цикла ВТЛП в России, что является стратегической целью Национального проекта «Новые технологии сбережения здоровья» в части укрепления технологического суверенитета России, а также повышение конкурентоспособности отечественной фармацевтической отрасли и обеспечение своевременного доступа пациентов к инновационным видам терапии.



Редакционная статья / Editorial article

Интервью в рамках цикла «Мнение лидеров»

В новом интервью из цикла «Мнение лидеров» мы поговорили с коммерческим директором компании «АИКС ЛАБ» Вербицкой Марией Борисовной, главным научным консультантом Electrolab India Pvt Ltd. доктором Параг Гадкари и генеральным директором Центра Фармацевтической Аналитики Игорем Шохиным.

The interview as part of the "Leadership Opinion" Series

In a new interview from the "Leadership Opinion" series, we spoke with Maria B. Verbitskaya, Commercial Director of AICS LAB, and Dr. Parag Gadkari, Chief Scientific Advisor of Electrolab India Pvt Ltd. and Igor Shokhin, General Director of the Center of Pharmaceutical Analytics.



Представляем новый выпуск из цикла «Мнение лидеров», посвященный передовым подходам в фармацевтических исследованиях. В сегодняшней дискуссии принимали участие: Вербицкая Мария Борисовна, коммерческий директор компании «АИКС ЛАБ» (официальный дистрибьютор компании Electrolab в Российской Федерации); доктор Параг Гадкари, главный научный консультант Electrolab India Pvt Ltd и Шохин Игорь Евгеньевич, генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики». В роли интервьюера выступила Кульджанова Наталья Вячеславовна, директор научно-производственного журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств».

В центре нашего обсуждения – эволюция методов исследования растворения: от классических протоколов к сложным, биорелевантным системам, которые воспроизводят условия *in vivo*. Мы детально расскажем, как интеграция оценки растворения и проницаемости в физиологически релевантных условиях открывает новые возможности для прогнозирования поведения лекарственных средств в организме.

Наша задача – обосновать переход к комплексным, биорелевантным подходам как к новому стандарту в фармацевтической разработке. Внедрение этих методов является ключевым этапом при создании более эффективных и безопасных лекарственных средств, а также для минимизации рисков при их разработке.

Наталья Кульджанова: ***Для чего и когда применяется тест «Растворение» в исследованиях лекарственных средств?***

Игорь Евгеньевич: Тест «Растворение» служит фундаментальным инструментом исследованиях лекарственных средств, сопровождая в жизненный цикл

твердых лекарственных форм от стадии ранней разработки до пострегистрационных изменений. Его применение критически важно на следующих этапах:

- Разработки состава: для скрининга и оптимизации лекарственной формы.
- Оценки стабильности: для контроля сохранения свойств в течение срока годности.
- Отбора серий: для выбора производственных партий, направляемых на исследования биоэквивалентности (БЭ).

В некоторых случаях тест сравнительной кинетики растворения (ТСКР) может применяться для замены исследований биоэквивалентности, биовейвера дополнительных дозировок и биовейвера, основанного на биофармацевтической классификационной системе. Кроме того, методология теста «Растворение» является неотъемлемой частью экспертизы качества и валидации пострегистрационных изменений, таких как модернизация технологического оборудования, трансфер производства, смена поставщика активной фармацевтической субстанции (АФС) или коррекция состава препарата.

Наталья Кульджанова: ***Каковы основные ограничения классического ТСКР в предсказании биоэквивалентности (особенно лекарственных средств с низкой растворимостью и проницаемостью)?***

Игорь Евгеньевич: В настоящее время методология проведения теста сравнительной кинетики растворения (ТСКР) регламентирована Решением Совета Евразийской экономической комиссии № 85. Согласно данному документу, исследование проводится в трех стандартных буферных средах с pH 1.2, 4.5 и 6.8, а также в среде контроля качества. Однако данный минимальный обязательный набор условий обладает ограниченной прогностической способностью в отношении установления биоэквивалентности для препаратов, характеризующихся низкой растворимостью и низкой проницаемостью.

Это связано с двумя фундаментальными ограничениями классического подхода:

1. **Недостаточная физиологическая релевантность сред.** Стандартные буферные системы не способны адекватно воспроизвести сложный биохимический состав физиологических жидкостей желудочно-кишечного тракта, в частности, таких ключевых компонентов, как желчные кислоты и пищеварительные ферменты, которые играют критическую роль в процессах солюбилизации и растворения.
2. **Отсутствие оценки проницаемости.** Методика не предусматривает моделирования критически важного для всасывания этапа – пассивной и ак-



В настоящее время параллельное определение растворения и проницаемости является самым релевантным способом предсказания биоэквивалентности

тивной транспортировки (проницаемости) растворенного действующего вещества через слизистую оболочку тонкого кишечника.

Наталья Кульджанова: ***В чем разница между классическим ТСКР и исследованиями в биорелевантных средах?***

Игорь Евгеньевич: Ключевым отличием биорелевантных сред является их специализированный состав, разработанный для максимально точного воспроизведения биохимических условий желудочно-кишечного тракта. В их формуляцию входят критически важные физиологические компоненты, прежде всего таурохолат натрия и лецитин.

Таурохолат натрия, являясь желчной кислотой, выполняет функцию естественного солюбилизатора, существенно повышая растворимость липофильных молекул. В комплексе с лецитином он формирует смешанные мицеллы фосфолипидной природы, которые активно участвуют в процессах солюбилизации и растворения фармацевтических субстанций.

Помимо биохимического состава, другие физико-химические параметры этих сред, такие как динамический профиль pH и ионная сила, также точно моделируют характеристики желудочного и кишечного сока в состояниях натощак и после приема пищи. Совокупность этих факторов – биохимического и физико-химического подобия – обеспечивает биорелевантным средам значительно более высокую прогностическую способность *in vitro-in vivo* по сравнению со стандартными средами.

Наталья Кульджанова: ***Что такое «физиологический транзит» в ЖКТ? Какие параметры (pH, объем жидкости, моторика) важно учитывать?***

Игорь Евгеньевич: В отличие от классического теста «Растворение», когда исследования проводятся только в одном стакане, физиологический транзит в желудочно-кишечном тракте должен отражать путь движения препарата от желудка в тонкий кишечник. Соответственно, для более точного моделирования таких условий необходимо учитывать реальный pH отделов желудочно-кишечного тракта, реальные объемы, которые могут быть существенно меньше, чем классические объемы жидкости в тестерах растворения.

Также необходимо учитывать аспекты моторики желудочно-кишечного тракта и многие другие. Все эти моменты можно моделировать, например, в аппаратах GIS (Gastro Intestinal Simulator). Однако ключевым недостатком данной модели является то, что они могут имитировать только процессы растворения, но не проницаемости через стенку желудочно-кишечного тракта.

Наталья Кульджанова: ***Какие основные подходы и аппараты сегодня используются для моделирования физиологического транзита ЖКТ при исследовании растворения?***

Доктор Параг Гадкари: Современное моделирование транзита в ЖКТ сочетает традиционные фармакопейные методы (USP 1, 2 и 4) с биорелевантными средами, динамическими протоколами смены pH и модулями проницаемости для одновременного изучения процессов высвобождения и всасывания.

Подходы делятся на три категории:

1. **Фармакопейные методы с использованием биорелевантных сред** (среды FaSSIF/FeSSIF, изготавливаемые, например, из концентрата BioWise) для моделирования химического состава просвета кишечника в сытом и голодном состоянии;
2. **Гидродинамические методы и методы смены pH**, которые имитируют опорожнение желудка и механику жидкости в тонком кишечнике (pH, объем, транзит);
3. **Совмещенные платформы «растворение-проницаемость»**, которые измеряют кинетику растворения в донорской камере (сосуде растворения) и одновременно измеряют поток через биомиметический барьер (мембрану) в акцепторной камере с буфером.

Последняя категория, примером которой является Dissoflux™, объединяет стандартный сосуд для растворения с камерой проницаемости, барьером PermeaPad® / липид-активированной мембраной и буфером-приемником для количественного определения проницаемости ($J = dm/(A \cdot dt)$) наряду с процентом высвобождения, что позволяет напрямую связать растворение и пассивную проницаемость.

Практические параметры, упоминаемые в документах проведения исследования, могут быть следующими: рабочий объем растворения 400–1000 мл, буфера-приемника 9–30 мл; скорость перемешивания 50–150 об/мин и количественное определение методом ВЭЖХ-МС/МС. Эти гибридные методы позволяют обеспечить корреляцию «*in vitro – in vivo*» (IVIVC), поскольку учитывают растворение в физиологически релевантных условиях растворимости и последующий этап проницаемости, который в итоге моделирует процесс всасывания.

Наталья Кульджанова: ***Компания АИКС ЛАБ известна как поставщик специализированного аналитического и испытательного оборудования для контроля качества ЛС. Какие решения вы используете для тестирования лекарственных форм?***

Мария Борисовна: Мы сотрудничаем с компанией Electrolab India Pvt. Ltd., крупнейшим азиатским производителем фармацевтических тестеров с очень широкой линейкой приборов, сильной репутацией и методологической основой. Electrolab – это мировой бренд, чье оборудование используется более чем в 85 странах, в том числе на предприятиях Европы и Северной Америки. Компания имеет собственный R&D центр и команду специалистов-методологов, задействованных в разработке и совершенствовании приборов. Также компания Electrolab произво-

дит фармацевтические тестеры для известных европейских брендов в рамках OEM-соглашений.

Electrolab предлагает лабораториям широкую линейку тестеров физических параметров твердых форм (тестеры прочности, тестеры распадаемости, истираемости и пр.), тестеры герметичности. И предлагает максимально полную линейку тестеров растворения в соответствии с требованиями ведущих фармакопей для проведения как стандартных методов растворения (методы USP 1,2), так и более узкоспециализированных методов, таких как «проточная ячейка» (USP 4), тестирование растворения при различных pH (USP 3,7), метод «вращающаяся бутыль», применяемый исключительно для целей разработки ЛС. Тестеры растворения могут идти в комплектации с ручным, полуавтоматическим или автоматическим пробоотбором, что позволяет гибко конфигурировать приборы в зависимости от задачи и бюджета лаборатории. Все оборудование соответствует требованиям USP, EP и ГФ РФ и имеет маркировку CE.

Компания Electrolab активно вкладывается в инновации и развитие методов, регулярно патентуя успешные разработки. Так, одним из таких успешно запатентованных решений является инновационная система Dissoflux, позволяющая моделировать физиологический транзит ЖКТ при исследовании растворения. Более подробно о данной разработке сегодня расскажет специалист компании Electrolab – доктор Параг Гадкари.

Наталья Кульджанова: ***Расскажите подробнее о технологии Dissoflux?***

Доктор Параг Гадкари: Dissoflux™ – дополнительный модуль к стандартной системе растворения. В результате их интеграции мы получаем аппарат USP с камерой проницаемости, отделенной от основного объема для растворения биомиметическим барьером (липид-активированной мембраной или PermeaPad® GIT).

Донорная камера (растворение) содержит биорелевантную среду (FaSSIF/FeSSIF, порошки BioWise) при физиологической температуре и контролируемом перемешивании; **акцепторная камера** содержит буфер-приемник для последующей регистрации проницаемости АФС, находится по другую сторону барьера, пробы из нее отбираются непрерывно или периодически. Растворение количественно определяют методом ВЭЖХ из донорной камеры; проницаемость количественно определяют путем отбора проб из акцепторной камеры методом ВЭЖХ-МС/МС.

Проницаемость (J, мкг · см$^{-2}$ · мин$^{-1}$) рассчитывается из прошедшей через мембрану массы за единицу времени и площади мембраны, что позволяет строить графики зависимости проницаемости от времени и кумулятивной проницаемости, которые идут параллельно с кривыми процента высвобождения.

В существующих примерах исследований с применением Dissoflux™ использовались типичные экспериментальные условия (например, FaSSIF pH 6.5, объем донорной камеры 500–900 мл, объем буфера-приемника 10–20 мл, активация мембраны фосфолипидным раствором) и была продемонстрирована прогностическая способность Dissoflux: исследования гидроксизина и терифлуномида предсказали их поведение в условиях *in vivo* путем сравнения коэффициентов проницаемости с референтным препаратом – в исследовании Терифлуномида их соотношение составляло около 96 %, что предсказывало биоэквивалентность.

Проводя отбор проб и измерения в обоих камерах Dissoflux одновременно, было выявлено несоответствие между растворением и всасыванием, которое упускают тесты с единичной конечной точкой.

Наталья Кульджанова: ***Какие ключевые конструктивные и методологические особенности Dissoflux делают его «биорелевантным»?***

Доктор Параг Гадкари: Биорелевантность Dissoflux основывается на (A) физиологически релевантных средах, (B) биомиметической химии барьера и (C) совмещенном *in situ* изучении растворения и проницаемости.

(A) Система использует валидированные составы сред FaSSIF/FeSSIF (например, из порошков BioWise) для воспроизведения содержания желчных солей/липидов в просвете кишечника и различий pH в сытом и голодном состоянии, что напрямую влияет на растворение липофильных АФС.

(B) Мембраны PermeaPad® GIT или липид-активированные мембраны содержат фосфолипиды в целлюлозной основе; при гидратации они образуют липосомальный гель, который имитирует пассивные параклеточные/трансклеточные пути и демонстрирует стабильность в диапазонах pH, используемых в моделировании ЖКТ. Стандартная активация мембраны (доза фосфолипидов в микролитрах, инкубация 15 мин) и площадь/диаметр мембраны (≈25 мм) заданы для контроля площади поверхности проницаемости.

(C) Гидродинамика контролируется установкой параметров проведения исследования (перемешивание 50–150 об/мин; малые и большие камеры проницаемости, объем буфера-приемника 9–30 мл), а схемы отбора проб позволяют применять восполнение объема для поддержания условий предельного растворения. В совокупности эти особенности делают измеряемые величины проницаемости и растворения более физиологически значимыми по сравнению с простыми тестами высвобождения в буферных растворах.

Наталья Кульджанова: ***В каких случаях (для каких веществ / классов препаратов) интеграция растворения + проницаемости особенно критична?***

Игорь Евгеньевич: Мы считаем, что наиболее комплексный подход предполагает моделирование всего процесса системной абсорбции, который включает три последовательных и взаимосвязанных эта-

па: распадаемость лекарственной формы, растворение активной фармацевтической субстанции (АФС) и ее проницаемость через кишечный барьер в растворенном состоянии. Идеальная модель стремится к воспроизведению этой полной последовательности событий.

Однако ключевое значение оценка проницаемости приобретает для тех категорий лекарственных средств, у которых именно транспорт через слизистую оболочку является лимитирующим этапом системной абсорбции. В первую очередь, это относится к субстанциям, относящимся ко II, III и IV классам биофармацевтической системы классификации (БКС), характеризующимся низкой растворимостью и проницаемостью.

Кроме того, тщательное изучение проницаемости критически важно при сравнении препаратов, содержащих различные вспомогательные вещества, поскольку их состав может оказывать влияние на механизмы пассивного и активного транспорта, тем самым потенциально изменяя биодоступность.

Наталья Кульджанова: ***В каких случаях биорелевантные исследования могут быть недостаточно прогностичны?***

Игорь Евгеньевич: Проведение исследований растворения в биорелевантных средах может не обеспечивать существенного прироста информации для высокорастворимых препаратов первого класса биофармацевтической классификационной системы (БКС), которые являются основными кандидатами для процедуры «биовейвер». Безусловно, биорелевантные исследования наиболее востребованы для лекарственных средств с низкой растворимостью и низкой проницаемостью.

Наталья Кульджанова: ***Какие дополнительные методы (например, клеточные модели) стоит использовать параллельно?***

Игорь Евгеньевич: Одним из наиболее широко признанных методов моделирования проницаемости является исследование на клеточной линии Caco-2. Безусловно, данный подход характеризуется высокой физиологической релевантностью, однако он существенно более трудоемок, длителен и дорогостоящ по сравнению с исследованиями на специализированных аппаратах, таких как Dissoflux.

Мы рекомендуем применение клеточных моделей для лекарственных средств, в отношении которых имеются ограниченные данные о проницаемости в научной литературе, а также при исследовании новых химических соединений – инновационных препаратов.

Наталья Кульджанова: ***Какую роль может сыграть моделирование (in silico) в сочетании с экспериментальными методами ТСКР?***

Игорь Евгеньевич: Компьютерное моделирование (*in silico*) представляет собой важный инструмент, применяемый в комплексе с ТСКР.

Ярким примером служит процедура «биовейвер», основанная на БКС, которая позволяет отказаться от исследований биоэквивалентности, заменяя их исследованиями *in vitro*. Для успешного проведения данной процедуры необходимо предварительно определить биофармацевтическую растворимость субстанций, в том числе в среде с ожидаемой минимальной растворимостью.

Важно отметить, что идентификация такой среды до проведения экспериментальных исследований возможна исключительно методами компьютерного моделирования, которые активно используются в ЦФА для решения этих задач.

Наталья Кульджанова: ***Какие барьеры (технические, экономические, регуляторные) мешают широкому распространению биорелевантных методов исследования?***

Игорь Евгеньевич: Следует отметить, что биорелевантные методы относятся к R&D-инструменту, то есть используются на этапе разработки лекарственного средства. В связи с этим их применение не является обязательным требованием регуляторных органов.

Именно этот фактор представляет собой основной барьер для широкого внедрения данных методик. Ключевым стимулом для интеграции биорелевантных подходов в работу R&D-подразделений является инициатива самих фармацевтических компаний, заинтересованных в создании качественных, эффективных и безопасных препаратов, а также в минимизации рисков, связанных с неудачным проведением исследований биоэквивалентности.

Наталья Кульджанова: ***Что могло бы стимулировать их использование (стандарты, руководства, инструменты)?***

Игорь Евгеньевич: Что касается стандартов, руководств и инструментов – ключевым стимулом для распространения биорелевантных методов стало бы их внедрение хотя бы в рекомендательном формате в нормативную базу Евразийской экономической комиссии.

Мы активно работаем в этом направлении, инициируя обсуждение данной проблематики на профессиональных площадках, в частности, в рамках ежегодного конгресса «Разработка и регистрация лекарственных средств». Это позволяет обеспечить конструктивный диалог между научным сообществом, представителями индустрии и регуляторных органов. Убеждены, что такая совместная работа, включая научно-просветительскую деятельность, будет способствовать интеграции биорелевантных методик.

Уже сегодня можно констатировать определенные успехи: все ключевые компании-партнеры, включая крупнейшие фармацевтические предприятия России, успешно внедрили отдельные биорелевантные методы в свои исследовательские процессы. Мы надеемся, что данная позитивная тенденция получит дальнейшее развитие.

Наталья Кульджанова: ***В чем преимущество биорелевантных тестов сравнительной кинетики растворения для разработчиков лекарственных средств?***

Доктор Параг Гадкари: Биорелевантное сравнительное тестирование «растворение-проницаемость» преобразует скрининг лекарственных форм из исследования, сфокусированного на высвобождении, в инструмент принятия решений, полагающийся на показатели проницаемости (всасывания).

Ключевые преимущества:

1. **Улучшенное прогнозирование поведения *in vivo*** – совмещение данных о растворении и проницаемости помогает выявить лекарственные формы, которые с высокой вероятностью будут успешны в исследованиях биоэквивалентности (БЭ); например, в примечаниях по применению Dissoflux показано, что соотношение коэффициентов проницаемости, полученные в средах FaSSIF/FeSSIF, предсказали результаты БЭ *in vivo* для испытуемого и референтного препарата в примерах исследований (как было описано выше с терифлуномидом).
2. **Отбор и ранжирование лекарственных форм** – разработчики могут отсеивать формы с приемлемым высвобождением, но плохой проницаемостью, экономя на дорогостоящих исследованиях *in vivo.*
3. **Оценка влияния вспомогательных веществ** – одновременное измерение двух параметров (высвобождение и проницаемость) выявляет влияние вспомогательных веществ на мицеллярное растворение и распределение в мембране, что актуально для сахароспиртов и поверхностно-активных веществ.
4. **Польза для регуляторных целей и разработки** – для кандидатов классов БКС II//III/IV такие тесты поддерживают рациональные стратегии обоснования биоэквивалентности и могут сократить количество или масштаб исследований на людях при демонстрации IVIVC.

В конечном счете, эти тесты ускоряют принятие решений «продолжать/остановить разработку препарата», снижают затраты и повышают научную обоснованность выбора лекарственной формы.

Наталья Кульджанова: ***Мария Борисовна, как вы оцениваете изменения на фармацевтическом рынке России с 2022 года? Какие новые направления развиваются и как это повлияло на выбор партнеров?***

Мария Борисовна: После 2022 года фармацевтический рынок в России значительно перестроился. Компании стали активнее искать надежных партнеров за пределами привычных направлений, и мы в АИКС ЛАБ сделали ставку на сотрудничество с ведущими индийскими производителями оборудования для производства и контроля качества лекарственных средств. На сегодняшний день мы являемся официальным дистрибьютором их оборудования в России, осуществляем поставки, выполняя при этом полный цикл работ от технических консультаций по подбору оборудования до проведения монтажа, SAT и валидации оборудования в месте установки.

Наши специалисты и сервисные инженеры регулярно проходят обучение на заводах-производителях. Индийское оборудование соответствует международным стандартам фармотрасли, успешно используется на фармацевтических предприятиях Европы и Азии и зарекомендовало себя как надежное, технологичное и конкурентоспособное решение.



ELECTROLAB
Your Quality, Our Assurance

/ AIX LAB

РЕШЕНИЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТСКР

тестер растворения TrustE-14 DX



Преимущества тестера растворения TrustE-14 DX

» Программное обеспечение тестера соответствует требованиям 21 CFR часть 11
» Многоуровневое разграничение прав доступа (до 10 ролей)
» Возможность создавать до 250 пользователей с индивидуальным паролем
» Система отбора проб с автоматическим приводом и возможностью использования фильтров
» Шприцевой насос для параллельного отбора проб запрограммированного объема (от 1 мл до 25 мл)
» Все ответственные детали (мешалки, корзинки, адаптеры и т.д) имеют индивидуальные номера, нанесенные лазерном
» Система вброса таблеток

г. Москва, Дербеневская наб.,11
www.aixlab.ru info@aixlab.ru
+7 (495) 112-02-29

Подписывайтесь на Telegram канал

Редакционная статья / Editorial article

УДК 615.014.22

Состояние витаминной промышленности СССР в годы Великой Отечественной войны

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 статье приведены факты о состоянии витаминной промышленности СССР в предвоенные годы. Перечислены научно-исследовательские и производственные организации, участвовавшие в исследовании и производстве витаминной продукции. Представлены данные экспериментов по работе с лекарственным растительным сырьем и стабилизации водных растворов с витамином С. Приведен способ очистки растворов аскорбиновой кислоты, полученной из хвои. Изучено содержание витамина С в различных видах лекарственного растения рода шиповник в процессе созревания. Описаны способы обогащения рыбьего жира витамином А из печени судака и экстрагирование каротина из отходов производства аскорбиновой кислоты. Представлена история обсуждения и утверждения отечественного витамина К на заседании Фармакологического комитета НКЗдрава СССР.

The state of the vitamin industry USSR during the Great Patriotic War

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 article provides facts about the state of the USSR's vitamin industry in the pre-war years of the Great Patriotic War. It lists the research and production organizations involved in the study and production of vitamin products. The article presents the results of experiments on working with medicinal plant raw materials and stabilizing aqueous solutions with vitamin C. It also describes a method for purifying solutions of ascorbic acid obtained from pine needles. The article examines the vitamin C content in various types of medicinal plants of the rosehip genus during the ripening process. The article describes methods for enriching fish oil with vitamin A from zander liver and extracting carotene from waste products of ascorbic acid production. It also presents the history of the discussion and approval of domestic vitamin K at a meeting of the Pharmacological Committee of the USSR Ministry of Health.

К началу 1940-х годов в СССР поменялось представление о витаминах только как о химических веществах, предохраняющих или излечивающих человека от тяжелых заболеваний (цинга, рахит и др.). Работы, выполненные в конце 30-х годов, показали, что значение витаминов неизмеримо выше: благодаря своему наличию, даже в очень небольших количествах, наравне с гормонами и ферментами они влияют на обмен веществ и необходимы для нормальной жизнедеятельности, роста и воспроизведения организма. Так, витамины А и С повышают устойчивость к различного рода инфекционным заболеваниям (грипп, легочные заболевания и т. п.) и играют большую роль в обеспечении нормального состояния организма, способствуют его росту и развитию, а витамин D незаменим в качестве средства профилактики рахита и необходим детям с самого начала их жизни[1].

Прежде чем рассказать о ситуации с витаминами в годы Великой Отечественной войны (ВОВ), считаем необходимым уточнить состояние витаминной промышленности в СССР в предвоенные годы. Начиная с 1935 года в Советском Союзе началась активная работа по поиску методов получения, стандартизации и производства готовых форм с витаминами. Этим активно занимались химические и фармацевтические научно-исследовательские организации, экспериментальные производственные предприятия Союзвита-

[1] Ярусова Н. Витаминные препараты, их активность и сохранность. *Фармация*. 1942;5:22–27.

минпрома и Наркомпищепрома, витаминные заводы и фабрики, а также некоторые кондитерские фабрики, выпускающие витаминизированную продукцию.

Научно-исследовательские и производственные организации, участвовавшие в исследовании и производстве витаминной продукции.

Научно-исследовательские организации:

1. Государственная контрольная витаминная станция (ГКВС, г. Москва).
2. Центральная техническая лаборатория Союзвитаминпрома (г. Москва).
3. Витаминный институт Наркомпищепрома (г. Москва).
4. Всероссийский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт им. Серго Орджоникидзе (ВНИХФИ, г. Москва).
5. Центральная аптечная научно-исследовательская лаборатория ГАПУ (ЦАНИЛ, г. Москва).
6. Ленинградский научно-исследовательский фармацевтический институт (г. Ленинград).
7. Институт растениеводства (г. Ленинград).

Производственные предприятия:

1. Щёлковский витаминный завод (Московская область).
2. Витаминный завод Наркомпищепрома (г. Москва).
3. Ленинградский витаминный завод (г. Ленинград).
4. Фабрика эндокринных препаратов (г. Москва).
5. Алкалоидный завод (г. Москва).

Предприятия внедрения и продвижения продукции:

1. Московские кондитерские фабрики «Марат», «Ударница» и фабрика им. Бабаева.
2. Аптеки.

Как видно из таблицы, до войны отечественная витаминная промышленность СССР имела в своем составе все необходимые подразделения, не только способствующие научным разработкам в этой области, но и обеспечивающие быстрое внедрение полученных результатов в производство и доведение готовых витаминизированных продуктов до населения. В первые годы ВОВ эти институты, лаборатории, заводы и фабрики продолжали свою работу по исследованию и наработке витаминной продукции, несмотря на мобилизацию большого количества сотрудников на фронт, эвакуацию технологически важного оборудования и наиболее подготовленного персонала вглубь страны для налаживания производства на новом месте. Анализ источников литературы показал, что как до ВОВ, так и во время нее отечественные ученые обращали особое внимание на витамин С – аскорбиновую кислоту, витамин А – каротин, витамин К. Синтез других витаминов (витамин D, группа В, РР и др.) находился еще в разработке.

ВИТАМИН С (АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА)

Аскорбиновая кислота в 30–40-е годы производилась двумя способами: во-первых, из природного сырья (плоды шиповника, ягоды черной смородины) и, во-вторых, при помощи химического синтеза. Витамин С, полученный по первому способу, использовался в основном в производстве витаминизированных продуктов питания (сиропы, леденцы, мармелад и т. п.). Метод получения синтетической аскорбиновой кислоты был разработан сотрудниками Всероссийского научно-исследовательского химико-фармацевтического института (ВНИХФИ) в 1937 году, а опытное производство было организовано в 1939 году. Ее получали из D-глюкозы, восстановленной в D-сорбит, который затем переводился с помощью бактериального синтеза в D-сорбозу, 2-оксо-L-гулоновую кислоту и L-аскорбиновую кислоту[1].

К началу войны (1940 год) на Щелковском и Ленинградском витаминных заводах производились жидкие и сухие экстракты шиповника. Препараты получали выпариванием настоев шиповника в вакууме. Кроме того, Ленинградские специалисты освоили выпуск порошка шиповника (порошок из целых плодов), а сотрудники подмосковного предприятия – таблеток шиповника, которые получали путем прямого таблетирования высушенного в распылительной башне экстракта шиповника. Особую роль в распространении витаминных средств среди населения играли кондитерские фабрики, выпускающие драже, карамель и мармелад, обогащенные витамином С. Среди таких производств следует отметить московские фабрики «Марат», «Ударница» и фабрика им. Бабаева.

Первой проблемой, которую необходимо было решить, стал вопрос о правильном обращении с лекарственным растительным сырьем – плодами шиповника – основным сырьем для производства С-витаминных препаратов. Эксперименты, проведенные в Центральной технической лаборатории Союзвитаминпрома, показали, что сушка плодов шиповника при температуре от 80 до 100 °С в течение 3–6 часов ведет к снижению С-витаминной активности на 13–28 %. Если же сушку проводить медленнее (7–45 часов), но при более низкой температуре (40–70 °С), то процент снижения аскорбиновой кислоты возрастал до 46 %. Этот результат свидетельствовал в пользу быстрой и высокотемпературной обработки сырья.

Необходимо также было выяснить, как долго плоды шиповника сохраняют свою активность. По данным ГКВС, целые плоды шиповника, хранящиеся в комнатных условиях в мешках, через полгода не дали заметного снижения активности, однако уже через год было обнаружено снижение концентрации витамина С на 36 %. Шиповник, растертый в очень мелкий порошок, уже через месяц терял 15 %, а через 13 месяцев – 48 % С-витаминной активности. Шиповник в виде грубо размолотого порошка, хранившийся полгода в закрытой металлической коробке, не снизил своей активности. Полученный результат был очень важен для работников складов и аптек, которые в дальнейшем поставляли его в эвакогоспитали.

[1] Большая медицинская энциклопедия. 3-е изд. М.: Советская энциклопедия; 1975. Т. 2. С. 266.

Было замечено, что при использовании плодов шиповника население, а также сотрудники госпиталей и аптек часто неправильно готовили витаминный напиток, заваривая плоды шиповника как чай. Было доказано, что при таком способе приготовления отвара значительная часть витамина остается в плодах. Государственная контрольная витаминная станция разработала и рекомендовала свой, особый способ приготовления настоя шиповника. Для этого необходимо 1 столовую ложку плодов шиповника залить 2 стаканами кипятка. Смесь прокипятить 10 минут, а затем оставить для настаивания на 24 часа. Витамин С при этом переходит в настой в количестве 70–85 %. Если для приготовления настоя использовать измельченные плоды, то надо брать 1 столовую ложку плодов на 4 стакана кипятка. После 10-минутного кипячения настой следует оставить на 2–3 часа. При этом в настой переходит от 85 до 100 % витамина С.

Для установления влияния лекарственных форм (таблетки и экстракты) и условий хранения на стабильность аскорбиновой кислоты в лаборатории были изучены образцы препаратов, полученные из различных областей РСФСР. В результате экспериментов было показано: выход аскорбиновой кислоты из сырья равнялся 80 %, расходный коэффициент по сырью составлял 1,27 %, потери спирта – около 8 %, расходный коэффициент – 1,09.

Успешному разрешению этих вопросов способствовала разработка надежной аналитической методики определения аскорбиновой кислоты. В ЦАНИЛ был разработан и применен йодатный метод, не требующий дефицитного реактива. При сравнении результатов, полученных общепринятым методом и по методике ЦАНИЛ, было показано их полное совпадение[1].

Принимая во внимание низкую стабильность аскорбиновой кислоты, отечественные исследователи в предвоенные годы проводили исследования по установлению оптимальных условий производства и хранения инъекционных препаратов витамина С, а также изучали возможность их стабилизации для увеличения сроков хранения. Так, сотрудниками Государственной контрольной витаминной станции (ГКВС) был проведен обширный комплекс исследований, связанный с витамином С. На первом этапе была изучена устойчивость инъекционных растворов аскорбиновой кислоты различной концентрации в смеси с глюкозой и без нее. Установлено, что хранение растворов при комнатной температуре в течение 10 дней приводило к потере ее содержания от 5 до 10 %. В дальнейшем были исследованы растворы аскорбиновой кислоты, нейтрализованные содой до pH 7. Витамин С в этих растворах был более стабилен. Если эти растворы готовились и хранились в ампулах в атмосфере углекислого газа, то концентрация витамина снижалась лишь на 3–4 %. Эти данные послужили важным основанием для дальнейшего поиска условий производства и хранения инъекционной формы аскорбиновой кислоты.

В отчете о практической работе аптечной системы НКЗдрава РСФСР за 1942 год было отмечено, что за отчетный период было заготовлено 250 т плодов шиповника для производства С-витаминных препаратов[2]. Результаты экспериментов, полученные в научно-исследовательских подразделениях институтов и лабораторий, послужили хорошей научной базой для производства из этого сырья водных экстрактов[3].

Интересные результаты представила сотрудник ЦАНИЛ Г. Е. Колякова Известно, что хвоя сосны, ели, пихты, лиственницы, кедра и других хвойных растений содержит от 0,1 до 0,35 % аскорбиновой кислоты. Если принять во внимание огромные запасы этого растительного сырья в СССР, то производство средств, содержащих витамин С, из хвои становится реальной задачей. Впервые получение С-витаминного концентрата из еловой хвои освоил Щёлковский витаминный завод. Произошло это в конце 1934 года[4]. Однако использованию такого мощного источника витамина С препятствовал горький вкус хвойных препаратов, а их вредное действие на организм было обусловлено присутствием в препарате эфирных масел и смол. До 40-х годов некоторыми авторами было предложено несколько способов очистки хвойных экстрактов от горечи, однако они требовали либо длительной и кропотливой предварительной подготовки сорбента (активированный уголь), либо специального оборудования (отгон органических растворителей в специальных реакторах), либо дефицитных реагентов (гидросульфит натрия, сернистый натрий), делающих эти способы нерентабельными. Г. Е. Колякова с коллегами предложила способ, основанный на способности аскорбиновой кислоты диффундировать через полупроницаемую мембрану. Вещества, обеспечивающие горький вкус, как правило, являются коллоидами и не диффундируют или проникают через мембрану в меньшей степени, что и позволяет получать довольно чистый раствор аскорбиновой кислоты, не обладающий горьким вкусом. По результатам экспериментов автором предложена конструкция рамочного диализатора, позволяющего в полевых усло-

[1] Смирнов Г. И. Работа центральной аптечной научно-исследовательской лаборатории ГАПУ РСФСР (ЦАНИЛ). *Фармация*. 1943;2:9–14.

[2] Сорокин А. И. Задачи аптечного хозяйства в 1943 году. *Фармация*. 1943;1:1–4.

[3] Дунаев Е. К. Производство фармацевтических препаратов в условиях войны. *Фармация*. 1943;5:2.

[4] Чехерова Г. А. Щелковский край: Исторические очерки о предприятиях. 2004. С. 44–45. (Серия «Библиотека журнала «Щелково»).

виях получать обезгореченные препараты из хвойных растений[1].

Сохранностью препаратов с аскорбиновой кислотой озаботились и специалисты отдела стандартизации Украинского института экспериментальной эндокринологии. Витамин С выпускался этим институтом в форме порошков, водных экстрактов из плодов шиповника, а также в виде специальных лечебных препаратов: витаминного холосаса (водный концентрированный экстракт шиповника) и витаминизированного детского гематогена (в гематоген традиционного состава добавляли 5 % порошка шиповника). Эти препараты рекомендованы к применению детям при малокровии, упадке питания, явлениях истощения и рахите. Исследования показали, что при хранении препаратов в обычных условиях витамин С стабилен на протяжении 4–5 месяцев. В препаратах шиповника с высоким содержанием витамина С, но без консервантов он разрушается значительно быстрее. В порошках шиповника витамин сохраняется только 1–2 месяца, в водных экстрактах снижение концентрации аскорбиновой кислоты фиксируется уже через месяц. Авторы предположили, что стабильность витамина С в холосасе и витаминизированном гематогене объясняется наличием в них высокого содержания сахара (48–52 % и 65–75 % соответственно)[2].

Некоторый интерес представляет работа сотрудников Центральной аптечной научно-исследовательской лаборатории ГАПУ. В сферу интересов этого научного учреждения входила проверка методов изготовления витаминсодержащих препаратов и выработка условий их получения с максимально устойчивым содержанием аскорбиновой кислоты при хранении. Были установлены и устранены причины нестабильности аскорбиновой кислоты, определен оптимальный баланс сырья и спирта, рассчитаны расходные коэффициенты и оптимизированы методы контроля[3].

Группа сотрудников ВИЛАР провела оценку содержания витамина С в некоторых видах шиповника. Было изучено 14 видов этого растения. Установлено, что содержание аскорбиновой кислоты в мякоти зрелых плодов шиповника колеблется от вида к виду в широких пределах. Причем эти колебания отмечены и внутри одного и того же вида. Выявлено также, что по мере созревания плодов количество аскорбиновой кислоты в них непрерывно растет. Это увеличение происходит главным образом за счет восстановленной формы аскорбиновой кислоты. Авторы определили богатые витамином С виды растений, которые и рекомендовали культивировать в специализированных хозяйствах[4].

Оценивая помощь ВНИХФИ фармацевтической промышленности в годы Великой Отечественной войны, П. И. Астраханцев отметил, что сотрудники института предложили новый метод сбраживания сорбита в сорбозу культурой *Acetobacter suboccidans*. Установлено, что брожение с новой культурой протекает значительно быстрее. Проведенные на промышленных установках работы показали, что сгущение 25 % раствора сорбозы идет значительно быстрее, что сокращает длительность производственного процесса[5].

ВИТАМИН А

Особого внимания заслуживает комплексная работа, выполненная сотрудниками Всесоюзного научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии в содружестве с Астраханским медицинским институтом, по изучению технологии получения и клинического применения витаминизированного витамином А рыбьего жира. Авторы предложили упрощенный метод приготовления продукта, заключающийся в экстракции рыбьим жиром, полученным из жировых отложений на внутренностях судака и белорыбицы, из сырья, содержащего витамин А. Источником витамина А служила соленая и мороженая печень судака. Степень обогащения исходного жира контролировалась определением витамина А колориметрическим методом. Не вдаваясь в технические подробности метода, авторы сообщили, что в результате тройной экстракции было получено масло с содержанием витамина А от 2000 до 3000 ИЕ/г, при первоначальном его содержании в количестве 150–200 ИЕ/г. Этот продукт был представлен Фармакопейному комитету НКЗдрава СССР под названием «Витастройль», и вскоре его выпуск был одобрен. При проведении клинического исследования препарата «Витастройль» в виде мази (равные части масла с вазелином) были получены следующие результаты:

1) при лечении отморожений и ожогов II и III степени отмечены обезболивающий эффект и резкое стимулирующее влияние на рост эпителия;
2) при лечении разных дерматозов подтверждено значительное кератопластическое действие;
3) установлено стимулирующее влияние на рост эпителия при поверхностных кератитах;
4) показано лучшее приживление кожных трансплантатов при восстановительных операциях;

[1] Колякова Г. Е. Обезгоречивание хвойных настоев методом диализа. *Фармация*. 1943;6:25–29.

[2] Веллер Н. С. Интенсивность падения содержания витамина С в различных витаминных препаратах. *Фармация*. 1944;3:18–19.

[3] Терентьев А. Г. Достижения Всесоюзного научно-исследовательского химико-фармацевтического института им. Серго Орджоникидзе в развитии химико-фармацевтической промышленности за 25 лет. *Фармация*. 1942;6:6–12.

[4] Баньковский А. И., Муравьева В. И., Ворошилов Н. Н. О содержании витамина С в некоторых видах шиповника. *Фармация*. 1945;4:36–39.

[5] Астраханцев П. И. Помощь ВНИХФИ фармацевтической промышленности в годы отечественной воны. *Фармация*. 1945;4:12–16.

5) выявлено бактерицидное действие в отношении золотистого стафилококка, синегнойной палочки и протея;
6) назначение препарата детям не сопровождалось расстройством ЖКТ и способствовало значительной прибавке веса в очень краткие для гипотрофиков сроки (2–3 недели), улучшению общего состояния и устранению симптома А-гиповитаминоза.

Таким образом, предложенный метод получения витаминизированного рыбьего жира дает не только заменитель обычного медицинского трескового жира, но и позволяет получить препарат, который эффективен в лечении хирургических и ожоговых ран, а также некоторых дерматологических заболеваний[1].

Сотрудниками Витаминного института НКПищепрома доказано, что для лучшей сохранности А-витаминной активности жиров их следует хранить в прохладном месте, доливая жир до верха посуды, уменьшая воздушную подушку над раствором. При растворении каротина в маслах надо особо тщательно относиться к выбору масла. Доказано, что каротин наилучшим образом сохраняется в подсолнечном масле[2].

Из предварительного сообщения Ф. Л. Гринберга (санитарно-гигиенический сектор Красноярского института эпидемиологии и микробиологии) следует, что путем экстрагирования измельченных семян шиповника этиловым эфиром получено жирное масло (около 9,2 %). Это масло имеет буровато-оранжевый цвет, что может свидетельствовать о наличии в нем каротиноидов. Содержание каротина в масле при определении без омыления – 20 мг%, при определении после омыления – 16,3 мг%. Значительное количество плодов шиповника перерабатывается на многих предприятиях для получения из него аскорбиновой кислоты. Отходом этого производства являются его семена, которые могут стать источником сырья, богатого каротином. Полученное масло является той лекарственной формой, которая непосредственно может применяться для терапевтических целей: в виде мазей для лечения хирургических и ожоговых ран, а также при каротинотерапии в офтальмологии[3].

ВИТАМИН К (2-МЕТИЛ-1-4-НАФТОХИНОН)

Примечательна история появления в СССР препаратов витамина К. Об этом можно узнать из материалов, представленных в протоколах заседания Фармакологического комитета НКЗдрава СССР за 1941 год[4]. В мае 1941 года состоялось заседание Фармакологического комитета (ФК) НКЗдрава СССР, посвященное рассмотрению материалов по выпуску синтетических аналогов витамина К. Это заседание представляет особый интерес, так как на тот момент в СССР с витамином К сложилась особенная ситуация: четыре организации, занимающиеся синтезом лекарственных средств, предложили свои варианты витамина К (2-метил-1-нафтогидрохинон). Членам ФК предстояло рассмотреть представленные материалы и решить вопрос о целесообразности выпуска одного из представленных образцов.

На заседании ФК НКЗдрава СССР (протокол № 7) от 31 мая 1941 г. присутствовали его постоянные члены, а также сотрудники аптечного отдела НКЗ СССР, Госплана СССР, МГУ, 1-го МОЛМИ, института физиологии и терапии, Союзвитаминпрома, Фармакопейного комитета, Всесоюзного треста лекарственных растений, Главконсервмолоко. Видно, что были приглашены эксперты не только из научных и исследовательских учреждений, многие из них являлись сотрудниками управленческих структур, учебных организаций, клиник, промышленности.

Заседание открыл председатель ФК профессор А. В. Рахманов. Он зачитал повестку дня, в которой первым пунктом и значился вопрос «О разрешении к выпуску синтетических аналогов витамина К». Профессор сообщил, что биохимической лабораторией Львовского института охраны материнства и детства приготовлен синтетический аналог витамина К под названием «виказин». Одновременно научно-технической лабораторией Союзвитаминпрома синтезирован аналог витамина К под названием «метинон», представляющий собой 2-метил-1-нафтогидрохинон.

В докладной записке по препарату виказин, представленной профессором А. Ф. Гроэром (Украинский институт эндокринологии и педиатрической клиники Львовского мединститута), отмечается, что, поскольку за границей эффективность витамина К при заболеваниях, сопровождающихся понижением протромбина в крови, доказана на сотнях или даже на тысячах случаев, необходимость выпуска препарата в каких-либо обоснованиях не нуждается. Материал по препарату метинон состоял из описания его физических свойств, данных по испытанию на животных, полученных в научно-исследовательском зоологическом институте, и постановления Президиума Всесоюзного витаминного комитета, который считает проблему синтеза и заводского производства аналогов витамина К в СССР разрешенной.

[1] Колчев В. В., Винокуров С. И., Бергауз А. Г. Упрощенный метод обогащения рыбьего жира витамином А. *Фармация*. 1944;5:22–25.

[2] Ярусова Н. Витаминные препараты, их активность и сохранность. *Фармация*. 1942;5:22–27.

[3] Гринберг Ф. Л. Масло из семян шиповника как источник каротина. *Фармация*. 1945;3:37.

[4] Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Доступно по: https://www.regmed.ru/about/history/protokoly/1941file:///C:/Users/021/Downloads/Jubilee_75-yr_Vic-WWII_protocol-1941%20(2).pdf. Ссылка активна на 23.10.2025.

В экспертном заключении старшего научного сотрудника ВНИХФИ доктора М. Д. Машковского указывалось, что препарат метинон аналогичен известным заграничным препаратам. И метинон, и виказин при приеме per os часто вызывают диспепсические явления, а при парентеральном введении – местную реакцию. Однако, несмотря на этот недостаток, выпуск обоих препаратов не следует задерживать, потому что средств подобного действия в стране в широком обращении нет. Автор отметил, что в настоящий момент в стране сложилась непонятная ситуация, когда при наличии реальной возможности промышленного производства важного и нужного лекарственного средства имеет место затягивание принятия решения о его выпуске.

Профессор Московского государственного университета Б. А. Кудряшов сообщил, что препарат метинон был синтезирован лабораторией органического синтеза Всесоюзного института экспериментальной медицины им. А. М. Горького и сразу был передан в Институт зоологии МГУ, где в течение двух лет препарат проходил необходимые доклинические испытания. В результате был собран большой экспериментальный материал, который подтвердил его высокую эффективность. В качестве примера Б. А. Кудряшов рассказал, что эксперимент на крысах с искусственно вызванной желтухой, перевязанными желчными протоками и протромбинемией показал: введение метинона в дозе 1 мг через 72–96 часов доводит уровень протромбина до нормального физиологического состояния. Как отметил Б. А. Кудряшов, институт этим не ограничился и передал препарат в ряд хирургических клиник университета для получения данных по его клиническим свойствам. В клинике препарат применили у больных с чрезвычайно низким содержанием протромбина (10–12 % против 100 %). Это в основном были пациенты с желтухой и закупоркой желчных протоков. Больные начинали самопроизвольно кровоточить, и оперировать их можно было с большим риском. При введении метинона (per os, внутримышечно или в виде спиртового раствора) был получен отчетливый эффект: больные переставали кровоточить через 10–12 часов, а концентрация протромбина в крови повышалась до 100 %. Аналогичный эффект был обнаружен у больных брюшным тифом. Наибольший эффект отмечался при введении препарата внутримышечно в виде масляного раствора. Таким образом, единственным способом поднять концентрацию протромбина до нормы является введение препарата метинон. Доза 10 мг позволяет хирургу приступить к операции, не боясь постоперационного кровотечения.

Клиническим опытом применения препаратов витамина К поделился доцент 1-го МОЛМИ Л. Я. Нолле. Он сообщил, что клиника 1-го МОЛМИ испытывала витамин К трех лабораторий: Всесоюзного института экспериментальной медицины, Института экспериментальной физиологии и терапии и ВНИХФИ. Все образцы препаратов давали выраженный подъем протромбина. В 9 случаях операционной желтухи хирургические вмешательства проходили без кровопотерь. Причем в двух случаях перед операцией наблюдалась резкая кровоточивость, кровоизлияния, гематурия. У одной больной уровень протромбина составлял 0 %. Через сутки после введения метинона уровень протромбина поднялся до 110 % и все явления геморрагического диуреза у больной исчезли. Отрицательной стороной препарата является резкая болезненность в месте введения, общее недомогание, чувство разбитости и слабость.

В конце заседания слово взял представитель Союзвитаминпрома В. А. Девяткин. Он проинформировал членов ФК и присутствующих о том, что синтез этого витамина настолько прост и сырье для этого синтеза настолько доступно и дешево, что в течение самого ближайшего времени можно будет без особого труда выпустить такое количество этого препарата, которое покроет всю потребность в нем.

В результате обсуждения представленных материалов и имеющегося опыта клинического применения препаратов витамина К ФК постановил: разрешить выпуск 2-метил-1-4-нафтохинона в форме масляного раствора и в виде кристаллов для растворения в спирте и применения в клинической практике. Присвоить препарату название «метинон» с указанием в скобках 2-метил-1-4-нафтохинона.

Так, накануне ВОВ в СССР появился высокоэффективный препарат витамина К – метинон, который в дальнейшем сыграл свою роль в снижении кровопотерь при хирургических операциях. Так, на заседании Фармакологического комитета НКЗдрава СССР (протокол № 5 от 25 июля 1942 года) было заслушано заявление тов. Л. Я. Нолле с предложением о применении витамина К в четырех новых направлениях: насыщение витамином К доноров перед сдачей крови, раненых – при лечении, бойцов – перед боем (по возможности) и применение при брюшном тифе и дизентерии[1].

О методиках синтеза и освоении производства других витаминов в предвоенное время рассказано в статье А. Г. Терентьва. В работе подводятся итоги работы ВНИХФИ и предприятий химико-фармацевтической промышленности за 25 лет. Так, особое внимание сотрудников института было обращено на аскорбиновую кислоту, витамин B_1, никотиновую кис-

[1] Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Доступно по: https://www.regmed.ru/about/history/protokoly/1941file:///C:/Users/021/Downloads/Jubilee_75-yr_Vic-WWII_protocol-1941%20(2).pdf. Ссылка активна на 23.10.2025.

лоту, витамин B_6 и витамин Е. По словам А. Г. Терентьва, метод получения никотиновой кислоты был разработан и освоен на опытной установке института, а затем был передан на алкалоидный завод. Синтез витамина B_1 оказался самым сложным – он состоит из 17 стадий. Первые образцы получены на опытной установке института в 1938 году, а промышленный синтез был освоен в 1940 году[1].

Параллельно с этим в стенах Ленинградского научно-исследовательского фармацевтического института была проведена большая работа по получению никотиновой кислоты (витамин РР). Сотрудники института предложили схему ее синтеза, состоящую из окисления анабазин-сульфата и нитрата никотиновой кислоты, превращения нитрата никотиновой кислоты в хлоргидрат этой кислоты и выделения никотиновой кислоты, а также дальнейшей ее очистки до получения технического качества продукта. Последующая перекристаллизация ее из водного раствора с помощью активированного угля приводила к получению субстанции фармацевтического качества[2].

Несмотря на продолжение ВОВ, в Москве с 12 по 17 декабря 1944 года состоялась III Всесоюзная витаминная конференция. В работе конференции приняли участие институты НКЗдрава СССР, подразделения Академии наук СССР и Главного военно-санитарного управления Красной Армии. На конференции были обсуждены вопросы синтеза витаминов, получения их из растительного лекарственного сырья, применения витаминов в медицине и ветеринарии. Было заслушано 34 программных доклада на пленарных заседаниях и 155 секционных докладов по следующим разделам: биохимии, физиологии, медицине, промышленному производству, растительным ресурсам и их использованию, животноводству, методам стандартизации и контроля качества. В одном из докладов профессор М. М. Шемякин отметил, что к настоящему времени отечественные ученые из различных организаций далеко продвинулись в изучении таких витаминов, как B_1, B_2, никотиновая кислота (РР), витамины С, К, Р, ксантоптерин, A_1, A_2, B_6, D, E, пантотеновая кислота, биотин, парааминобензойная кислота. Эта конференция подвела определенные итоги, отметив успехи витаминной промышленности, и наметила планы по развитию научного и промышленного направлений[3].

В заключение можно сказать, что, несмотря на тяжелейшие условия работы, советские ученые – химики-синтетики, провизоры-технологи и врачи различных специальностей – не прекращали свои работы, понимая роль витаминов в сокращении времени выздоравливания раненых бойцов. Их вклад в победу по достоинству оценен правительством. Указом Президиума Верховного Совета СССР от 11 июля 1945 г. награждены работники системы НКЗдрава СССР. Из них два – орденом Ленина (А. Н. Адова – директор Московского фарминститута и А. Г. Натрадзе – заместитель народного комиссара здравоохранения СССР), 17 специалистов – орденом Трудового Красного Знамени, 59 специалистов – орденом «Знак Почета», 28 специалистов – медалью «За трудовую доблесть», 58 специалистов – медалью «За трудовое отличие»[4]. Необходимо отметить, что среди награжденных были не только сотрудники министерства, профессора институтов, директора заводов и заведующие лабораторий. В список награжденных также входили рядовые сотрудники институтов и заводов – таблетчицы, фасовщики, аппаратчики, токаря, слесаря, кузнецы, лаборанты, а также мастера различного уровня.

[1] Терентьев А. Г. Достижения Всесоюзного научно-исследовательского химико-фармацевтического института им. Серго Орджоникидзе в развитии химико-фармацевтической промышленности за 25 лет. *Фармация*. 1942;6:6–12.

[2] Халецкий А. М., Розенблюм Ю. Н., Амосова А. А. К вопросу о синтезе никотиновой кислоты из анабазин-сульфата. *Фармация*. 1944;1:19–21.

[3] Бергольц М. Х. III Всесоюзная витаминная конференция. *Фармация*. 1945;2:31–37.

[4] Награждение медицинских работников. *Фармация*. 1945;5:48–50.

Рекламная статья / Sponsored article

«ФАРМ-АКТИВ ПРО» – платформа надежности

Авторы подготовили статью при финансовой поддержке компании «ФАРМ-АКТИВ ПРО»

Компания «ФАРМ-АКТИВ ПРО» обеспечивает системный подход к оснащению фармацевтических и лабораторных производств. В нашем понимании поставка – это полный цикл, от проектирования и выбора оптимальных решений до ввода в эксплуатацию, квалификации и сопровождения в течение всего жизненного цикла. Все – с учетом требований регистрации лекарственных средств, валидности процессов, контроля качества и регуляторной совместимости.

"PHARM-AKTIV PRO" – a reliability platform

The authors prepared the article with the financial support of the company "PHARM-AKTIV PRO"

PHARM-AKTIV PRO provides a comprehensive approach to equipping pharmaceutical and laboratory facilities. We understand supply as a full cycle, from design and selection of optimal solutions to commissioning, qualification, and support throughout the entire lifecycle. All in accordance with drug registration requirements, process validity, quality control, and regulatory compliance.

Наш каталог охватывает ключевые направления фармацевтических производств

Оборудование для твердых и жидких лекарственных форм, упаковочное оборудование, оборудование для чистых помещений, реакторы, изоляторы и боксы микробиологической безопасности, автоклавы и стерилизаторы, линии асептического розлива, системы фильтрации и водоподготовки, HVAC-оборудование, холодильное, аналитическое и вспомогательное оборудование.

От выбора до валидации – под ключ

Сильная сторона компании – комплексность. Мы берем на себя весь путь внедрения оборудования:

- ✓ технический подбор и согласование спецификаций;
- ✓ контроль исполнения производственных этапов;
- ✓ пусконаладочные работы;
- ✓ валидацию и квалификацию (DQ, IQ, OQ, PQ);
- ✓ гарантийное, постгарантийное обслуживание;
- ✓ поставку запасных частей;
- ✓ техническую поддержку;
- ✓ обучение операторов и технического персонала.

Это позволяет заказчикам экономить время, исключать риски несоответствий и проходить инспекции без замечаний.

Инжиниринг, который работает в срок

Команда «ФАРМ-АКТИВ ПРО» – это опытные практики, глубоко знающие специфику фармацевтического производства. Они работают как связующее звено между требованиями нормативов и реальными задачами ваших лабораторий и производств.

Каждый проект сопровождается специалистами по квалификации и валидации, что гарантирует соблюдение всех норм и требований документации. Мы делаем так, чтобы все работало стабильно и надежно.

Для нас ключевой принцип – **«точно в срок»**, который является частью корпоративной культуры. Когда заказчик планирует запуск производства или инспекцию, он должен быть уверен: поставка и ввод оборудования произойдут вовремя.

Технологии, рождающие доверие

Миссия компании проста и ясна: **создавать технологическую платформу, на которую можно опереться**.

Регистрация лекарств предъявляет повышенные требования к чистоте, воспроизводимости, прослеживаемости. Мы реализуем решения, которые выдерживают проверки: от внутреннего контроля до инспекторских визитов. Наша цель – добиться, чтобы оборудование не просто работало, а вписалось в вашу GMP-стратегию и обеспечило прохождение аудитов без замечаний.

В мире, где требования ужесточаются, а ответственность растет, мы выбираем путь инженерной точности и стратегической дальновидности.

«ФАРМ-АКТИВ ПРО» – это компания, которая стоит на стыке технологий и доверия. Мы понимаем, что в фармацевтике нельзя просто «поставить оборудование». Нужно построить систему, которая выдержит любой аудит.» – *Антон Сергеевич Штейников*, генеральный директор ООО «ФАРМ-АКТИВ ПРО».

Будущее за интеграцией

Сегодня все чаще регуляторы и инвесторы хотят видеть не просто работающий завод, а **взаимосвязанную систему**, где оборудование, документация и процессы образуют единую экосистему качества.

Именно на этом принципе строится работа «ФАРМ-АКТИВ ПРО»: от подбора оборудования до его валидации и интеграции в GMP-структуру заказчика.

«ФАРМ-АКТИВ ПРО». Мы не обещаем – мы делаем. Мы всегда на вашей стороне.



В РУКАХ ПРОФЕССИОНАЛОВ ЛЮБОЙ ПРОЕКТ СТАНОВИТСЯ УСПЕШНЫМ!

ВАЛИДАЦИЯ ПРОЦЕССА СТЕРИЛИЗУЮЩЕЙ ФИЛЬТРАЦИИ

КВАЛИФИКАЦИЯ ОБОРУДОВАНИЯ

ВАЛИДАЦИЯ ПРОЦЕССА ОЧИСТКИ

КВАЛИФИКАЦИЯ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ (РАСЧЕТ PDE)

МЫ ДЕЛАЕМ СЛОЖНОЕ ПРОСТЫМ, А НЕВОЗМОЖНОЕ - РЕАЛЬНЫМ!

-- ФАРМ-АКТИВ ЗЕТ -- www.pha-z.ru -- info@pha-z.ru -- +7 961 216-99-51 -- yk@pha-z.ru -- +7 996 556 75 88 --

Информационная статья / Informational article

Научно-практическое мероприятие «Разработка и регистрация лекарственных средств. Мастер-классы от команды ЦФА»

19 сентября 2025 года в технопарке «Калибр» состоялось знаковое событие для специалистов фармацевтической отрасли — мастер-класс, посвященный актуальным аспектам разработки и регистрации лекарственных средств. В фокусе мероприятия – мастер-классы от экспертов «Центра Фармацевтической Аналитики», ориентированные на вопросы проведения регистрационных лабораторных исследований.

Scientific and practical event "Drug development & registration. Master classes from the CFA team"

On September 19, 2025, a landmark event for pharmaceutical industry specialists took place at the Kalibr Technopark: a master class dedicated to current aspects of drug development and registration. The event will focus on master classes from experts at the Center for Pharmaceutical Analytics, focusing on issues related to conducting registration laboratory studies.



Организаторы – ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств», научный журнал «Гербариум».

Событие собрало более 150 специалистов из ведущих фармацевтических компаний, контрактно-исследовательских организаций, а также представителей научно-образовательного сообщества. Участники получили возможность ознакомиться с современными подходами к применению высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), ВЭЖХ-МС и ИФА в рамках биоаналитических исследований, включая биоэквивалентность, фазы I–III клинических испытаний, а также исследования биоаналогичности и иммуногенности.

Особое внимание было уделено вопросам, связанным с тестами сравнительной кинетики растворения (ТСКР) и другими *in vitro* методам моделирования высвобождения действующих веществ. Эксперты ЦФА подробно осветили типичные запросы регуляторных органов Российской Федерации и стран ЕАЭС, в частности Республики Беларусь и Республики Казахстан, касающиеся исследований биоэквивалентности и ТСКР.

Мероприятие открылось насыщенной секцией, посвященной регистрационным лабораторным исследованиям лекарственных средств. В центре внимания – актуальные вопросы *in vitro* исследований, биоэквивалентности, биофармацевтики и современных аналитических подходов. С содержательным докладом выступил **Дмитрий Рождественский** (ЕЭК), подробно осветивший вопросы *in vitro* сопоставимости биотехнологических лекарственных средств и объемов необходимых регистрационных исследований. **Наталья Еременко** (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) представила доклад *«Экспертная панель по биофармацевтическим исследованиям: что сделано и что планируется сделать»*, подчеркнув достигнутый прогресс и обозначив векторы дальнейшего развития экспертного сообщества. **Олег Иляшенко** (многопрофильный холдинг «ХимМед») рассказал о современных подходах к очистке воды – ключевом аспекте при производстве и анализе лекарственных средств. **Александр Солодовников** (Статэндокс) раскрыл важные аспекты фармацевтической и клинической разработки препаратов на основе малых синтетических пептидов, представив актуальные кейсы и перспективы. **Игорь Шохин** (ЦФА) поделился практическими аспектами проведения исследований различных групп лекарственных средств, включая биотехнологические препараты и не только.

Секцию *«Мастер-классы от команды ЦФА»* открыл **Тимофей Комаров** (ЦФА), осветив ключевые регуляторные ожидания в области биоаналитики при исследованиях биоэквивалентности. **Дана Щелгачева** (ЦФА) поделилась опытом проведения биоаналитических исследований биотехнологических препаратов с использованием коммерчески доступных тест-систем. **Наталья Багаева** (ЦФА) рассказала, как эффективно подготовиться к взаимодействию с регулятором, сфокусировавшись на фармакокинетической части исследований биоэквивалентности. **Анна Попова** (ЦФА) осветила вопросы аудита исследовательских центров, предложив свежие идеи и практические инструменты для повышения качества.

Заключительная секция была посвящена **новым методам оценки высвобождения в условиях *in vitro* и предсказанию биоэквивалентности**. **Елизавета Фишер**, ЛФИ, поделилась взглядом лаборатории на запросы регулятора по отчетам ТСКР. **Ирина Баранникова** и **Александра Айзикович**, КР-Аналитика, рассказали про роль прослеживаемости данных при проведении исследований биоэквивалентности и ТСКР, ключевые аспекты соблюдения требований GLP и аккредитации лабораторий, проводящих исследования. Технические возможности оптимизации процесса. В своем выступлении специалисты «КР-Аналитика» сделали акцент на практических шагах, которые помогают лабораториям минимизировать риски при аудитах и повысить свою конкурентоспособность. Были детально рассмотрены требования надлежащей лабораторной практики (GLP) и преимущества аккредитации по ISO/IEC 17025. Отдельное внимание уделили технической оптимизации: спикеры наглядно доказали, что переход с классической ВЭЖХ на УВЭЖХ – это не только современный тренд, но и реальная экономия времени и ресурсов при сохранении высочайшей точности результатов. **Александр Попов** (АО «ХимМед») рассказал о производстве полного цикла колонок для ВЭЖХ – важного элемента аналитических систем в фармацевтических исследованиях. **Игорь Шохин**, ЦФА, вновь вышел на сцену с инновационным докладом про эволюцию методов оценки высвобождения в условиях *in vitro* и предсказание биоэквивалентности. Игорь Евгеньевич представил новый аналитический подход к оценке высвобождения действующего вещества в условиях *in vitro*. Метод, впервые был представлен широкой профессиональной аудитории, продемонстрировал значительный потенциал для более точного прогнозирования биоэквивалентности и формирования обоснованных заключений в досье на регистрацию ЛС. Слушатели отметили высокий инновационный потенциал предложенного метода и выразили заинтересованность в его дальнейшем применении.

Следом выступил **Александр Самороков**, компания АИКС ЛАБ с докладом «Современные тестеры растворения от Electrolab: обеспечение воспроизводимости и надежности фармацевтических анализов». Компания АИКС ЛАБ представила на мероприятии тестер растворения Trust E-14 от ELECTROLAB INDIA PVT. LTD – ведущего азиатского производителя. Тестер соответствует требованиям международных фармакопей. Сервисный инженер АИКС ЛАБ Максим Аракчеев провел для гостей практический разбор кейсов по работе с оборудованием.

Кроме теоретических блоков, участникам были предложены практические рекомендации и «лайфхаки» по подготовке корректных ответов на регуляторные запросы, что особенно актуально в условиях постоянно совершенствующихся требований к фармацевтической документации.

Мероприятие стало площадкой для открытого обмена опытом, обсуждения насущных проблем и новых аналитических подходов. Представленные доклады, мастер-классы и дискуссии продемонстрировали высокий уровень вовлеченности профессионального сообщества в совершенствование качества и надежности исследований лекарственных средств.

Партнерами научно-практического мероприятия «Разработка и регистрация лекарственных средств. Мастер-классы от команды ЦФА» выступили: АИКС ЛАБ, КР-Аналитика, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, ЕЭК, Статэндокс, АО «ХимМед», PCR.NEWS, РЕСТЭК, ФармМедПром, Воды здоровья, ООО «ФортеКо».

Оригинальная статья / Research article

УДК 547.86

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2088

Check for updates

CC BY 4.0

Синтез и доказательство строения бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) с фениленовыми мостиками между гетероциклическими фрагментами

Н. А. Носова, Д. А. Колесник✉, И. П. Яковлев, М. П. Новикова, А. А. Варваркина, П. О. Левшукова, Г. В. Ксенофонтова

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

✉ **Контактное лицо:** Колесник Денис Андреевич. **E-mail:** denis.kolesnik@spcpu.ru

ORCID: Н. А. Носова – https://orcid.org/0009-0008-3858-3009;
Д. А. Колесник – https://orcid.org/0000-0002-5527-6595;
И. П. Яковлев – https://orcid.org/0000-0003-1251-8782;
М. П. Новикова – https://orcid.org/0009-0007-0785-3259;
А. А. Варваркина – https://orcid.org/0009-0005-4723-4634;
П. О. Левшукова – https://orcid.org/0000-0001-6229-0339;
Г. В. Ксенофонтова – https://orcid.org/0009-0001-9329-0881.

Статья поступила: 29.04.2025 **Статья принята в печать:** 04.09.2025 **Статья опубликована:** 05.09.2025

Резюме

Введение. Исследование производных 1,3-оксазина играет ключевую роль в области химии гетероциклических соединений. Тем не менее в литературе отсутствует систематизированная информация о способах синтеза биспроизводных 1,3-оксазин-6-онов. Создание эффективных методов получения этих оксазинов, а также изучение их структуры, характеристик и биологической активности представляет собой многообещающее направление как для медицинской химии, так и для фармацевтической промышленности.

Цель. Разработать лабораторный способ получения бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) на основе реакции бензол-1,3-дикарбоксамида и бензол-1,4-дикарбоксамида с замещенными малонилхлоридами и доказать их строение с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на ядрах ^{1}H и ^{13}C.

Материалы и методы. Спектры ^{1}H- и ^{13}C-ЯМР были зарегистрированы на приборе Bruker AM-600 в дейтерированном диметилсульфоксиде (ДМСО-d6), их обработка осуществлена с помощью программного обеспечения ACD/Labs. Мониторинг протекания реакций проведен с применением тонкослойной хроматографии на пластинах с силикагелем TLC Silicagel 60 F_{254} с использованием этилацетата в качестве элюента и детекцией в ультрафиолетовом (УФ) свете. Методика синтеза включала суспендирование 1 ммоль бензол-1,4-дикарбоксамда или бензол-1,3-дикарбоксамида в абсолютном 1,2-дихлорэтане, добавление 2,4 ммоль замещенного малонилхлорида и кипячение смеси в течение 15 ч. Конец реакции определен по отсутствию исходных диамидов в реакционной массе методом тонкослойной хроматографии.

Результаты и обсуждение. В результате исследования был разработан лабораторный метод синтеза бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) с фениленовыми мостиками между гетероциклическими фрагментами. Использование в качестве растворителя абсолютного 1,2-дихлорэтана позволило увеличить выход целевых соединений на 5–7 % и сократить время синтеза на 5 ч по сравнению с абсолютным бензолом. Строение синтезированных веществ было доказано спектроскопией ядерного магнитного резонанса на ядрах ^{1}H и ^{13}C. В спектрах полученных соединений присутствуют все характеристичные сигналы, соответствующие бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онам).

Заключение. Разработан, реализован и оптимизирован лабораторный метод синтеза бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) на основе реакции бензол-1,3-дикарбоксамида и бензол-1,4-дикарбоксамида с монозамещенными малонилхлоридами. Целевые соединения были получены в абсолютном 1,2-дихлорэтане с выходом, близким к количественному. Это подтверждает эффективность разработанного подхода. Структура всех полученных бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) была достоверно установлена с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса на ядрах ^{1}H и ^{13}C.

Ключевые слова: 1,3-оксазин-6-оны, бисгетероциклические соединения, π-электронодефицитные гетероциклы, малонилхлориды, дикарбоксамиды

© Носова Н. А., Колесник Д. А., Яковлев И. П., Новикова М. П., Варваркина А. А., Левшукова П. О., Ксенофонтова Г. В., 2025
© Nosova N. A., Kolesnik D. A., Yakovlev I. P., Novikova M. P., Varvarkina A. A., Levshukova P. O., Ksenofontova G. V., 2025

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

Вклад авторов. Д. А. Колесник, И. П. Яковлев – планирование эксперимента. Н. А. Носова, М. П. Новикова, А. А. Варваркина – синтез целевых соединений. Д. А. Колесник, И. П. Яковлев, М. П. Новикова, Н. А. Носова, А. А Варваркина – участие в написании текста статьи. Н. А. Носова, Д. А. Колесник, И. П. Яковлев, М. П. Новикова, А. А. Варваркина, П. О. Левшукова, Г. В. Ксенофонтова – участие в обработке данных и обсуждении результатов.

Для цитирования: Носова Н. А., Колесник Д. А., Яковлев И. П., Новикова М. П., Варваркина А. А., Левшукова П. О., Ксенофонтова Г. В. Синтез и доказательство строения бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) с фениленовыми мостиками между гетероциклическими фрагментами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):34–40. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2088

Synthesis and proof of the structure of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazine-6-ones) with phenylene bridges between heterocyclic fragments

Natalia A. Nosova, Denis A. Kolesnik✉, Igor P. Yakovlev, Marina P. Novikova, Anastasia A. Varvarkina, Polina O. Levshukova, Galina V. Ksenofontova

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Denis A. Kolesnik. **E-mail:** denis.kolesnik@spcpu.ru

ORCID: Natalia A. Nosova – https://orcid.org/0009-0008-3858-3009;
Denis A. Kolesnik – https://orcid.org/0000-0002-5527-6595;
Igor P. Yakovlev – https://orcid.org/0000-0003-1251-8782;
Marina P. Novikova – https://orcid.org/0009-0007-0785-3259;
Anastasia A. Varvarkina – https://orcid.org/0009-0005-4723-4634;
Polina O. Levshukova – https://orcid.org/0000-0001-6229-0339;
Galina V. Ksenofontova – https://orcid.org/0009-0001-9329-0881.

Received: 29.04.2025 **Accepted:** 04.09.2025 **Published:** 05.09.2025

Abstract

Introduction. The study of 1,3-oxazine derivatives plays a crucial role in the field of heterocyclic chemistry. However, there is a lack of systematized information in the literature regarding the synthesis methods of bis-derivatives of 1,3-oxazin-6-ones. The development of efficient methods for obtaining these oxazines, as well as the study of their structure, properties, and biological activity, represents a promising direction for both medicinal chemistry and the pharmaceutical industry.

Aim. To develop a laboratory method for the synthesis of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazin-6-ones) based on the reaction of benzene-1,3-dicarboxamide and benzene-1,4-dicarboxamide with substituted malonyl chlorides, and to confirm their structure using nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy on ^{1}H and ^{13}C nuclei.

Material and methods. ^{1}H and ^{13}C NMR spectra were recorded on a Bruker AM-600 spectrometer in deuterated dimethyl sulfoxide (DMSO-d6), and their processing was carried out using ACD/Labs software. The progress of the reactions was monitored using thin-layer chromatography on plates coated with silica gel TLC Silicagel 60 F254 using ethyl acetate as the eluent and detection in ultraviolet (UV) light. The synthesis procedure included suspending 1 mmol of terephthalic or isophthalic acid diamide in absolute 1,2-dichloroethane, adding 2,4 mmol of substituted malonyl chloride and refluxing the mixture for 15 hours. The end of the reaction was determined by the absence of the initial diamides in the reaction mass by thin-layer chromatography.

Results and discussion. As a result of the study a laboratory method of the synthesis of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazine-6-ones) with phenylene bridges between heterocyclic fragments was developed. The use of absolute 1,2-dichloroethane as a solvent made it possible to increase the yield of the target compounds by 5–7 % and reduce the synthesis time by 5 hours compared to absolute benzene. The structure of the obtained compounds was proved by nuclear magnetic resonance spectroscopy on ^{1}H and ^{13}C nuclei. The spectra of the obtained compounds contain all the characteristic signals corresponding to bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazine-6-ones).

Conclusion. A laboratory method for the synthesis of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazin-6-ones) has been developed, implemented, and optimized based on the reaction of benzene-1,3-dicarboxamide and benzene-1,4-dicarboxamide with monosubstituted malonyl chlorides. The target compounds were obtained in absolute 1,2-dichloroethane with yields close to quantitative, confirming the efficiency of the developed approach. The structure of all obtained bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazin-6-ones) was reliably established using nuclear magnetic resonance spectroscopy on ^{1}H and ^{13}C nuclei.

Keywords: 1,3-oxazine-6-ones, bisheterocyclic compounds, π-electron-deficient heterocycles, malonyl chlorides, dicarboxamides

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. Denis A. Kolesnik, Igor P. Yakovlev – experiment planning. Natalia A. Nosova, Marina P. Novikova, Anastasia A. Varvarkina – synthesis of target compounds. Denis A. Kolesnik, Igor P. Yakovlev, Marina P. Novikova, Natalia A. Nosova, Anastasia A. Varvarkina participated in writing the text of the article. Natalia A. Nosova, Denis A. Kolesnik, Igor P. Yakovlev, Marina P. Novikova, Anastasia A. Varvarkina, Polina O. Levshukova, Galina V. Ksenofontova participated in data processing and in the discussion of the results.

For citation: Nosova N. A., Kolesnik D. A., Yakovlev I. P., Novikova M. P., Varvarkina A. A., Levshukova P. O., Ksenofontova G. V. Synthesis and proof of the structure of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazine-6-ones) with phenylene bridges between heterocyclic fragments. *Drug development & registration*. 2025;14(4):34–40. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2088

ВВЕДЕНИЕ

Производные 1,3-оксазина играют значительную роль в химии гетероциклических соединений. В научной литературе описывается их разнообразная биологическая активность, включая антиоксидантные [1–2], противоопухолевые [3] и антимикробные свойства [4–7]. Актуальность исследований этих соединений подтверждается наличием таких производных, как 5-β-D-рибофуранозил-1,3-оксазин-2,4-дион, который демонстрирует высокую противоопухолевую активность против асцитной карциномы Эрлиха [8]. 1,3-оксазин-6-оны используются как эффективные реагенты для синтеза различных гетероциклических систем в реакциях рециклизации благодаря электронодефицитной оксазиновой системе с несколькими электрофильными центрами, что обеспечивает их высокую реакционную способность с моно- и бинуклеофильными реагентами [9]. В литературе широко описаны методы получения оксопроизводных 1,3-оксазина, включая различные реакции циклизации [10–15] и конденсации [16–17]. Однако методы синтеза бис-производных 1,3-оксазин-6-онов не систематизированы. Поэтому разработка методов получения таких оксазинов, изучение их структуры, свойств и оценка биологической активности представляет собой перспективное направление как для медицинской химии, так и для фармацевтической промышленности.

Целью данной работы является разработка лабораторного способа получения бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) на основе реакции бензол-1,3-дикарбоксамида и бензол-1,4-дикарбоксамида с замещенными малонилхлоридами, доказательство их строения с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на ядрах ^{1}H и ^{13}C.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Спектры ядерного магнитного резонанса на ядрах ^{1}H и ^{13}C зарегистрированы на приборе Bruker AM-600 (PubCompare, Швейцария) в ДМСО-d6. Обработку спектров проводили с помощью компьютерной программы ChemSketch (ver. 12.01) (ACD/Labs, США и Канада). Мониторинг протекания реакций проводился с использованием тонкослойной хроматографии на пластинах с силикагелем TLC Silicagel 60 F_{254} (1.05554.0001, Merck KGaA, Германия), элюент – этилацетат (ч.д.а., Merck KGaA, Германия), детекция в УФ-свете.

Методика синтеза бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) (IV, V(a-b)). В круглодонной колбе суспендируют 1 ммоль бензол-1,4-дикарбоксамида (I) или бензол-1,3-дикарбоксамида (II) в абсолютном 1,2-дихлорэтане (1,2-DCE), затем добавляют 2,4 ммоль замещенного малонилхлорида (III(a-b)). Реакционную смесь нагревают до кипения и кипятят с обратным холодильником в течение 15 ч (рисунок 1). Мониторинг протекания реакций осуществляют с применением тонкослойной хроматографии на пластинах с силикагелем TLC Silicagel 60 F_{254} с использованием этилацетата в качестве элюента и детекцией в ультрафиолетовом свете. Конец реакции определяют по отсутствию исходных диамидов в реакционной массе. Затем полученную суспензию охлаждают, осадок отфильтровывают под вакуумом и перекристаллизовывают из ледяной уксусной кислоты.

2,2′-бензол-1,4-диилбис(4-гидрокси-5-метил-6*H*-1,3-оксазин-6-он) (IVa):

Выход 92 %. Порошок светло-желтого цвета. Данные спектра ^{1}H-ЯМР, δ, ppm (J, Гц): 1,85 с (6H; CH_3), 8,22 с (4H; CH^{Ar}), 12,57 уш. с (0,66H, –OH). Данные спектра ^{13}C-ЯМР, δ, ppm: 8,63 (CH_3), 91,23 (C_5), 127,82 (C^{Ar}), 128,89 (C^{Ar}), 160,35 (C_2), 165,73 (C_4), 167,72 (C_6).

2,2′-бензол-1,4-диилбис(4-гидрокси-5-фенил-6*H*-1,3-оксазин-6-он) (IVb):

Выход 89 %. Порошок желтого цвета. Данные спектра ^{1}H-ЯМР, δ, ppm (J, Гц): 7,30 т (2H, CH^{Ph}, J = 7,4), 7,40 т (4H, CH^{Ph}, J = 7,6), 7,57 д (4H, CH^{Ph}, J = 7,3), 8,38 с (4H, CH^{Ar}), 13,05 с (1,89H, –OH). Данные спектра ^{13}C-ЯМР, δ, ppm: 96,08 (C_5), 127,54 (C^{Ar}), 127,83 (CH^{Ph}), 128,08 (CH^{Ar}), 129,23 (CH^{Ph}), 130,66 (CH^{Ph}), 133,78 (C^{Ph}), 160,86 (C_2), 161,32 (C_4), 167,73 (C_6).

2,2′-бензол-1,3-диилбис(4-гидрокси-5-метил-6*H*-1,3-оксазин-6-он) (Va):

Выход 90 %. Порошок светло-желтого цвета. Данные спектра ^{1}H-ЯМР, δ, ppm (J, Гц): 1,85 с (6H; CH_3),

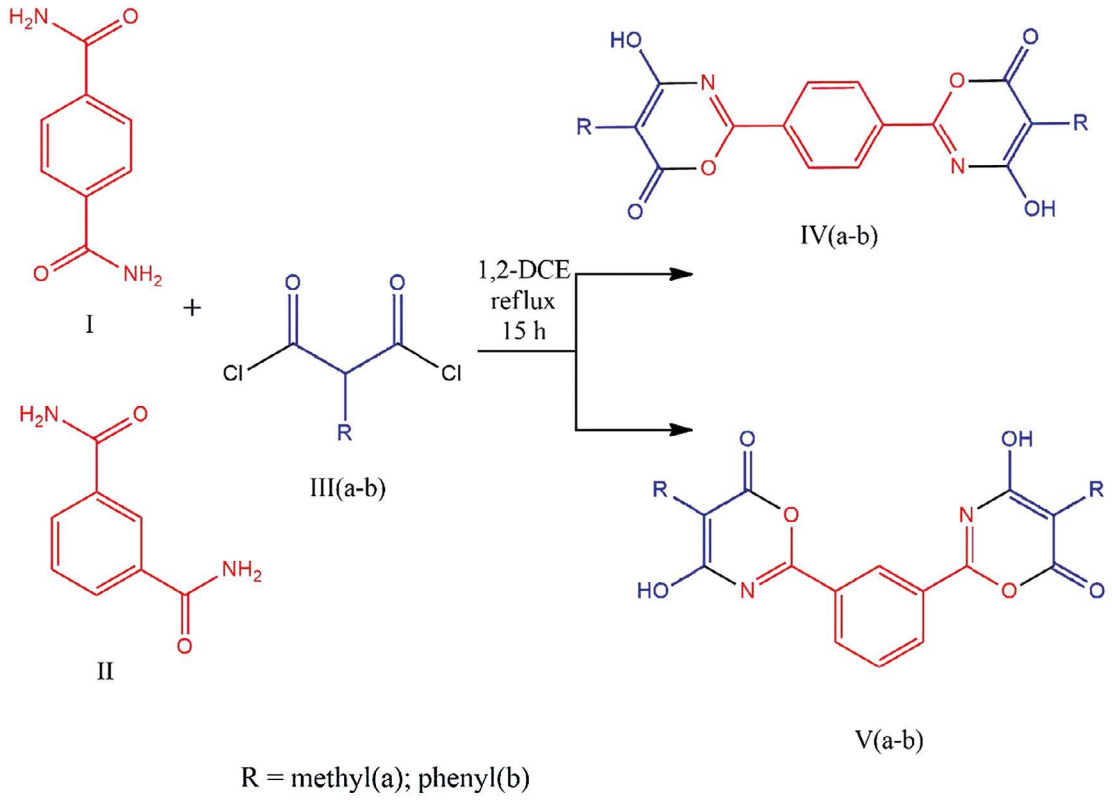


Рисунок 1. Общая схема синтеза бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) (IV, V(a-b))

Figure 1. General scheme of synthesis of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazine-6-ones) (IV, V(a-b))

7,30 т (2H, CH^{Ph}, $^{3}J_{HH}$ 7.5), 8,28 дд (2H, CH^{Ar}, $^{3}J_{HH}$ 7,5; $^{4}J_{HH}$ 1,5), 8,96 с (1H, CH^{Ar}), 13,05 уш. с (1,93H, –OH). Данные спектра ^{13}C-ЯМР, δ, ppm: 7,83 (CH_3), 91,23 (C_5), 127,82 (CH^{Ar}), 128,89 (CH^{Ar}), 129,60 (C^{Ar}), 160,33 (C_2), 165,86 (C_4), 167,70 (C_6).

2,2′-бензол-1,3-диилбис(4-гидрокси-5-фенил-6*H*-1,3-оксазин-6-он) (Vb):

Выход 90 %. Порошок желтого цвета. Данные спектра ^{1}H-ЯМР, δ, ppm (J, Гц): 7,29 т (2H, CH^{Ph}, $^{3}J_{HH}$ 7,4), 7,39 т (4H, CH^{Ph}, $^{3}J_{HH}$ 7,6), 7,57 д (4H, CH^{Ph}, $^{3}J_{HH}$ 7,1), 7,39 т (1H, CH^{Ar}, $^{3}J_{HH}$ 7,9), 8,00 дд (2H, CH^{Ar}, $^{3}J_{HH}$ 7,6; $^{4}J_{HH}$ 1,8), 8,96 с (1H, CH^{Ar}), 11,46 с (1,21H, -OH). Данные спектра ^{13}C-ЯМР, δ, ppm: 95,74 (C_5), 127,26 (CH^{Ar}), 128,06 (CH^{Ph}), 128,71 (CH^{Ph}), 130,66 (CH^{Ph}), 130,88 (CH^{Ar}), 131,59 (CH^{Ar}), 132,98 (C^{Ar}), 134,85 (C^{Ph}), 161,31 (C_2), 165,89 (C_4), 167,98 (C_6).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования был разработан оптимальный лабораторный метод синтеза бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) **IV, V(a-b)**. Установлено, что использование абсолютного 1,2-дихлорэтана в качестве растворителя приводит к увеличению выхода целевых соединений на 5–7 % и сокращению времени синтеза на 5 ч по сравнению с абсолютным бензолом [18]. Ключевым фактором, играющим роль в оптимизации количественных показателей синтеза, является влияние растворителя: замена неполярного растворителя (абсолютного бензола) на полярный (1,2-дихлорэтан) способствовала улучшению сольватации молекул исходных веществ и, соответственно, их лучшей растворимости. Структура целевых соединений **IV, V(a-b)** доказана с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса на ядрах ^{1}H и ^{13}C. В спектрах присутствуют все сигналы, характеристичные для бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов).

На рисунке 2 представлен спектр ^{1}H-ЯМР 2,2′-(бензол-1,4-диил)бис(4-гидрокси-5-метил-6*H*-1,3-оксазин-6-она) (**IVa**). В спектре наблюдаются сигналы протонов метильных групп на 1,83 ppm, эквивалентных протонов пара-фениленового фрагмента на 8,22 ppm и уширенный сигнал протонов гидроксильных групп на 12,54 ppm.

На рисунке 3 представлен спектр ^{13}C-ЯМР соединения (**IVa**). В спектре присутствует характеристичный сигнал атомов углерода метильных групп на 8,63 ppm и сигнал на 91,23 ppm, соответствующий атомам углерода C_5 1,3-оксазиновых циклов. Также наблюдаются сигналы, относящиеся к атомам C_4, C_2 и C_6, в диапазоне от 160,35 до 167,72 ppm. При 127,82 ppm наблюдается сигнал эквивалентных атомов углерода «b» и атомов углерода «c» при 128,89 ppm пара-фениленового мостика.

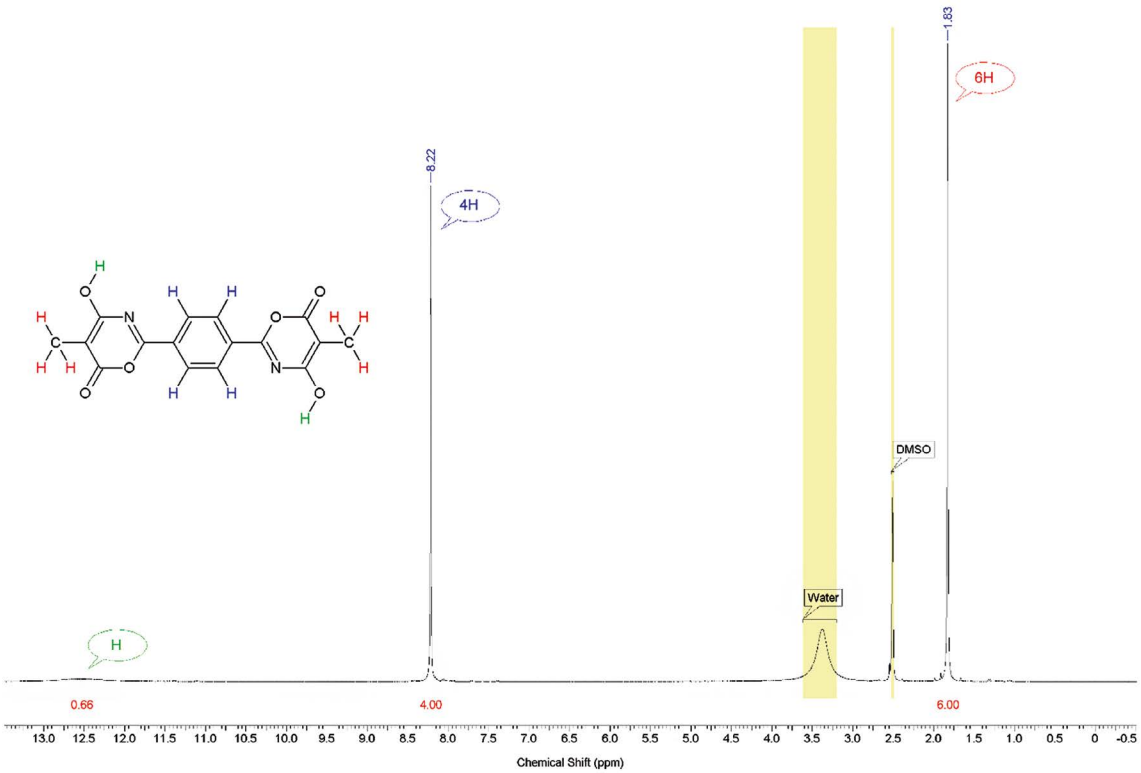


Рисунок 2. **Спектр ядерного магнитного резонанса ^{1}H 2,2′-бензол-1,4-диилбис(4-гидрокси-5-метил-6*H*-1,3-оксазин-6-она)**

Figure 2. **^{1}H nuclear magnetic resonance spectrum of 2,2′-benzene-1,4-diylbis(4-hydroxy-5-methyl-6*H*-1,3-oxazine-6-one)**

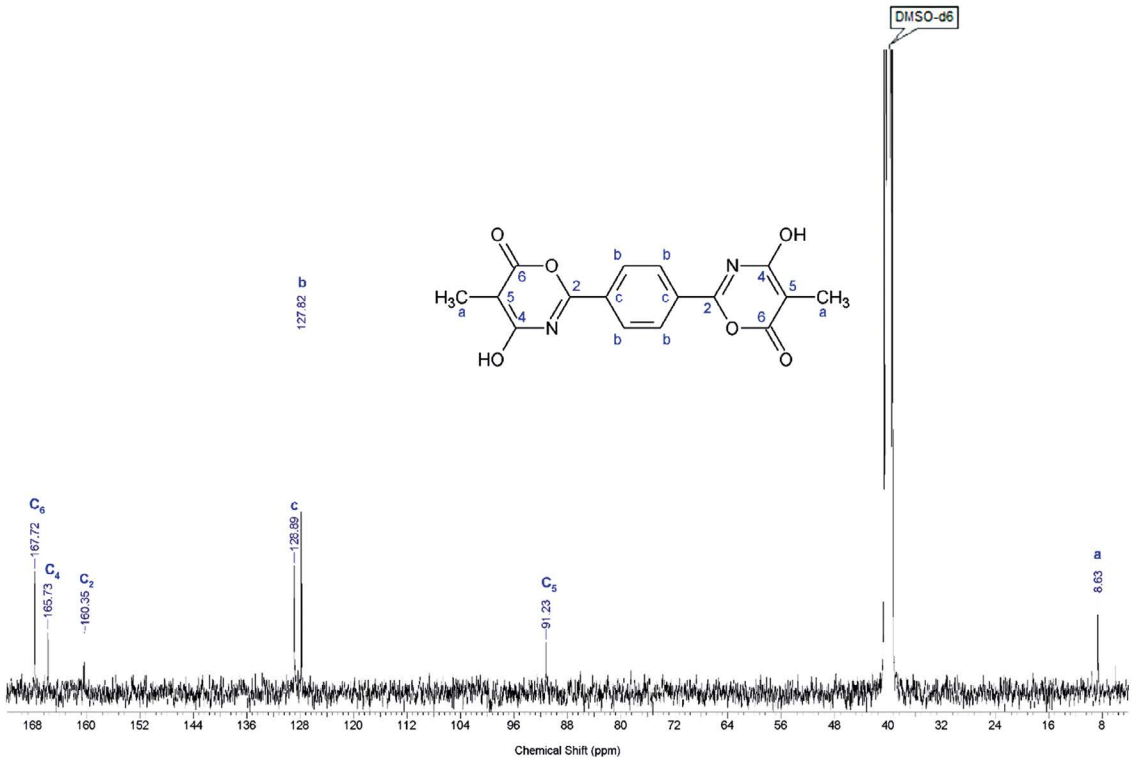


Рисунок 3. **Спектр ядерного магнитного резонанса ^{13}C 2,2′-бензол-1,4-диилбис(4-гидрокси-5-метил-6*H*-1,3-оксазин-6-она)**

Figure 3. **^{13}C nuclear magnetic resonance spectrum of 2,2′-benzene-1,4-diylbis(4-hydroxy-5-methyl-6*H*-1,3-oxazine-6-one)**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан, реализован и оптимизирован лабораторный метод синтеза бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) **IV, V (a-b)** на основе реакции бензол-1,4-дикарбоксамида и бензол-1,3-дикарбоксамида с замещенными малонилхлоридами **III (a-b)**. Целевые соединения были получены с высоким выходом (89–92 %) в абсолютном 1,2-дихлорэтане, что свидетельствует о высокой эффективности разработанного метода.

Строение синтезированных бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов) **IV, V (a-b)** было надежно доказано с помощью спектроскопии ЯМР на ядрах ^{1}H и ^{13}C.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ansari N., Khodagholi F., Amini M. 2-Ethoxy-4,5-diphenyl-1,3-oxazine-6-one activates the Nrf2/HO-1 axis and protects against oxidative stress-induced neuronal death. *European Journal of Pharmacology*. 2011;658(2–3):84–90. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.02.028.
2. Qamar R., Saeed A., Saeed M., Ashraf Z., Abbas Q., Hassan M., Albericio F. Synthesis, carbonic anhydrase inhibitory activity and antioxidant activity of some 1,3-oxazine derivatives. *Drug Development Research*. 2018;10:1–10. DOI: 10.1002/ddr.21464.
3. Zinad D. S., Mahal A., Mohapatra R. K., Sarangi A. K., Pratama M. R. F. Medicinal chemistry of oxazines as promising agents in drug discovery. *Chemical Biology & Drug Design*. 2019;(1):16–47. DOI: 10.1111/cbdd.13633.
4. Mathew B. P., Kumar A., Sharma S., Shukla P. K., Nath M. An eco-friendly synthesis and antimicrobial activities of dihydro-2*H*-benzo- and naphtho-1,3-oxazine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;45(4):1502–1507. DOI: 10.1016/j.ejmech.2009.12.058.
5. Chylińska J. B., Janowiec M., Urbański T. Antibacterial activity of dihydro-1,3-oxazine derivatives condensed with aromatic rings in positions 5, 6. *British Journal of Pharmacology*. 1971;43(3):649–657. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1971.tb07194.x.
6. Zinad D. S., Mahal A., Salman G. A. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 1,3-Oxazine Derivatives. *Organic Preparations and Procedures International*. 2021;53(6):578–584. DOI: 10.1080/00304948.2021.1975486.
7. Asif M., Imran M. Pharmacological profile of oxazine and its derivatives: a mini review. *International Journal of New Chemistry*. 2020;7(1):60–73. DOI: 10.22034/IJNC.2020.116058.1061.
8. Kusakabe Y., Nagatsu J., Shibuya M., Kawaguchi O., Hirose C., Shirato S. Minimycin, a new Antibiotic. *The Journal of Antibiotics*. 1972;25(1):44–47. DOI: 10.7164/antibiotics.25.44.
9. Levshukova P. O., Kolesnik D. A., Dosina M. O., Yakovlev I. P., Tunguskova L. A., Kuvaeva E. V., Semakova T. L., Ksenofontova G. V., Pokhodnya Yu. G. The reaction of 4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazin-6-ones with amidines – a route to access new 1,3,5-triazine derivatives. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2024;60(1/2):48-51. DOI: 10.1007/s10593-024-03292-5.
10. Dorokhov V. A., Bogdanov V. S., Gordeev M. F. 5-Acyl-4-amino-2-phenyl-1,3-oxazin-6-ones. *Russian Chemical Bulletin*. 1995;44(7):1276–1277. DOI: 10.1007/BF00700903.
11. Maier G., Schäfer U. Versuche zur Darstellung von Azacyclobutadienen. *Liebigs Annalen der Chemie*. 1980;13:798–813. DOI: 10.1002/anie.197404251.
12. Boger D. L., Wysocki R. J. A study of the scope of the [4 + 2] cycloaddition reactions of unactivated 1,3-oxazin-6-ones. *The Journal of Organic Chemistry*. 1989;54(3):714–718. DOI: 10.1021/jo00264a041.
13. Alajarín M., Vidal A., Sánchez-Andrada P., Tovar F., Ochoa G. Conversion of N-Acyl-4-acyloxy-β-lactams into 1,3-Oxazin-6-ones: Two Consecutive Pseudopericyclic Processes. *Organic Letters*. 2000;2(7):965–968. DOI: 10.1021/ol0056168.
14. Niu B., Jiang B., Yu L.-Z., Shi M. Base-promoted [3 + 3] cyclization of cyclopropenones and cyclopropenethiones with amides for the synthesis of 6*H*-1,3-oxazin-6-ones and 6*H*-1,3-thiazin-6-ones. *Organic Chemistry Frontiers*. 2018;8(5):1267–1271. DOI: 10.1039/C8QO00091C.
15. Zahedifar M., Sheibani H. Unexpected Products from Mesoionic 1,3-Thiazinium and Oxazinium Olates: A Novel Access to 3,5-Diaryl-1,3-thiazine-2,4,6-trione and Alkoxy-3,5-diphenyl-3*H*-1,3-oxazine-2,6-dione Derivatives. *Australian Journal of Chemistry*. 2014;67(9):1201–1204. DOI: 10.1071/CH14095.
16. Захс В. Э., Яковлев И. П., Ивин Б. А. Оксопроизводные 1,3-оксазинов (обзор). *Химия гетероциклических соединений*. 1987;11:1443–1462.
17. Комаров А. В., Яковлев И. П., Новиков Д. В., Захс В. Э. Реакции 2-стирил-5-метил(фенил)-4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов с некоторыми нуклеофильными реагентами. *Журнал общей химии*. 2003;73(12):2047–2052.
18. Ищенко Р. О., Яковлев И. П., Лалаев Б. Ю., Овсянникова Л. Н. Взаимодействие диамидов фталевых кислот с малонилдихлоридами – новый путь синтеза бис(4-гидрокси-6*H*-1,3-оксазин-6-онов). *Бутлеровские сообщения*. 2012;29(3):63–65.

REFERENCES

1. Ansari N., Khodagholi F., Amini M. 2-Ethoxy-4,5-diphenyl-1,3-oxazine-6-one activates the Nrf2/HO-1 axis and protects against oxidative stress-induced neuronal death. *European Journal of Pharmacology*. 2011;658(2–3):84–90. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.02.028.
2. Qamar R., Saeed A., Saeed M., Ashraf Z., Abbas Q., Hassan M., Albericio F. Synthesis, carbonic anhydrase inhibitory activity and antioxidant activity of some 1,3-oxazine derivatives. *Drug Development Research*. 2018;10:1–10. DOI: 10.1002/ddr.21464.
3. Zinad D. S., Mahal A., Mohapatra R. K., Sarangi A. K., Pratama M. R. F. Medicinal chemistry of oxazines as promising agents in drug discovery. *Chemical Biology & Drug Design*. 2019;(1):16–47. DOI: 10.1111/cbdd.13633.
4. Mathew B. P., Kumar A., Sharma S., Shukla P. K., Nath M. An eco-friendly synthesis and antimicrobial activities of dihydro-2*H*-benzo- and naphtho-1,3-oxazine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;45(4):1502–1507. DOI: 10.1016/j.ejmech.2009.12.058.
5. Chylińska J. B., Janowiec M., Urbański T. Antibacterial activity of dihydro-1,3-oxazine derivatives condensed with aromatic rings in positions 5, 6. *British Journal of Pharmacology*. 1971;43(3):649–657. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1971.tb07194.x.

6. Zinad D. S., Mahal A., Salman G. A. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 1,3-Oxazine Derivatives. *Organic Preparations and Procedures International*. 2021;53(6):578–584. DOI: 10.1080/00304948.2021.1975486.
7. Asif M., Imran M. Pharmacological profile of oxazine and its derivatives: a mini review. *International Journal of New Chemistry*. 2020;7(1):60–73. DOI: 10.22034/IJNC.2020.116058.1061.
8. Kusakabe Y., Nagatsu J., Shibuya M., Kawaguchi O., Hirose C., Shirato S. Minimycin, a new Antibiotic. *The Journal of Antibiotics*. 1972;25(1):44–47. DOI: 10.7164/antibiotics.25.44.
9. Levshukova P. O., Kolesnik D. A., Dosina M. O., Yakovlev I. P., Tunguskova L. A., Kuvaeva E. V., Semakova T. L., Ksenofontova G. V., Pokhodnya Yu. G. The reaction of 4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazin-6-ones with amidines – a route to access new 1,3,5-triazine derivatives. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2024;60(1/2):48-51. DOI: 10.1007/s10593-024-03292-5.
10. Dorokhov V. A., Bogdanov V. S., Gordeev M. F. 5-Acyl-4-amino-2-phenyl-1,3-oxazin-6-ones. *Russian Chemical Bulletin*. 1995;44(7):1276–1277. DOI: 10.1007/BF00700903.
11. Maier G., Schäfer U. Versuche zur Darstellung von Azacyclobutadienen. *Liebigs Annalen der Chemie*. 1980;13:798–813. DOI: 10.1002/anie.197404251.
12. Boger D. L., Wysocki R. J. A study of the scope of the [4 + 2] cycloaddition reactions of unactivated 1,3-oxazin-6-ones. *The Journal of Organic Chemistry*. 1989;54(3):714–718. DOI: 10.1021/jo00264a041.
13. Alajarín M., Vidal A., Sánchez-Andrada P., Tovar F., Ochoa G. Conversion of N-Acyl-4-acyloxy-β-lactams into 1,3-Oxazin-6-ones: Two Consecutive Pseudopericyclic Processes. *Organic Letters*. 2000;2(7):965–968. DOI: 10.1021/ol0056168.
14. Niu B., Jiang B., Yu L.-Z., Shi M. Base-promoted [3 + 3] cyclization of cyclopropenones and cyclopropenethiones with amides for the synthesis of 6*H*-1,3-oxazin-6-ones and 6*H*-1,3-thiazin-6-ones. *Organic Chemistry Frontiers*. 2018;8(5):1267–1271. DOI: 10.1039/C8QO00091C.
15. Zahedifar M., Sheibani H. Unexpected Products from Mesoionic 1,3-Thiazinium and Oxazinium Olates: A Novel Access to 3,5-Diaryl-1,3-thiazine-2,4,6-trione and Alkoxy-3,5-diphenyl-3*H*-1,3-oxazine-2,6-dione Derivatives. *Australian Journal of Chemistry*. 2014;67(9):1201–1204. DOI: 10.1071/CH14095.
16. Zakhs V. E., Yakovlev I. P., Ivin B. A. Oxo derivatives of 1,3-oxazines (review). *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 1987;11:1149-1166. (In Russ.)
17. Komarov A. V., Yakovlev I. P., Novikov D. V., Zakhs V. E. Reactions of 4-hydroxy-5-methyl(phenyl)-2-styryl-6*H*-1,3-oxazin-6-ones with nucleophiles. *Russian Journal of General Chemistry*. 2003;73(12):1936–1941. (In Russ.)
18. Ishchenko R. O., Yakovlev I. P., Lalaev B. Yu., Ovsyannikova L. N. Interaction of phthalic acids diamides with malonic acids chlorides – a new way of synthesis of bis(4-hydroxy-6*H*-1,3-oxazin-6-ones). *Butlerov Communications*. 2012;29(3):63–65. (In Russ.)

Обзорная статья / Review article

УДК 615.322

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2078

Check for updates

CC BY 4.0

Биосинтетическая активность гардении жасминовидной *Gardenia jasminoides* J. Ellis в культурах *in vitro* (обзор)

А. С. Бугаев, В. С. Ражновская, Н. С. Пивоварова, М. Н. Повыдыш✉

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

✉ **Контактное лицо:** Повыдыш Мария Николаевна. **E-mail:** maria.povydysh@pharminnotech.com

ORCID: А. С. Бугаев – https://orcid.org/0009-0004-9911-9411;
В. С. Ражновская – https://orcid.org/0009-0002-5818-3754;
Н. С. Пивоварова – https://orcid.org/0000-0003-3020-8526;
М. Н. Повыдыш – https://orcid.org/0000-0002-7768-9059.

Статья поступила: 10.04.2025 **Статья принята в печать:** 07.10.2025 **Статья опубликована:** 10.10.2025

Резюме

Введение. Гардения жасминовидная (*Gardenia jasminoides* Ellis) — вечнозеленый кустарник из семейства *Rubiaceae*, естественно произрастающий в Китае и Японии и активно культивируемый в качестве декоративного растения во многих регионах мира. В данном обзоре приведены данные о результатах исследований накопления биологически активных веществ (БАВ) в различных культурах, возможности индукции их биосинтеза и биологической активности БАВ, выделенных из культур гардении жасминовидной.

Текст. В настоящее время из интактного растения *G. jasminoides* выделено и идентифицировано около 162 соединений, среди которых флавоноиды, иридоидные гликозиды, желтый пигмент гардении, монотерпеноиды, сесквитерпеноиды, тритерпеноиды, органические кислоты и их производные. Наиболее важными биологически активными компонентами *G. jasminoides* являются иридоидные гликозиды и желтые пигменты – производные кроцина. Использование культур растительных клеток является одним из наиболее перспективных подходов к получению БАВ растительного происхождения, поскольку данный метод характеризуется меньшей зависимостью от климатических и экологических факторов, обеспечивает более точное управление процессом и позволяет сокращать производственный цикл, что способствует эффективному масштабированию производства. Рядом исследователей были получены каллусные и суспензионные культуры, а также культуры побегов и модифицированных корней *G. jasminoides*. С целью повышения продукции основных классов биологически активных веществ – иридоидных гликозидов, полифенольных соединений и каротиноидов – в каллусных, суспензионных и побеговых культурах гардении жасминовидной был проведен ряд исследований по введению в питательные среды специфических добавок. Было показано, что культуры клеток *G. jasminoides* обладают высокой антиоксидантной активностью благодаря фенольным соединениям, таким как феруловая и хлорогеновая кислоты. Экстракты каллусной культуры показали значительно большую супероксиддисмутазную активность, чем экстракты листьев. В то же время только экстракты каллусных культур проявляли антимикробную активность против *Escherichia coli* и *Bacillus cereus*.

Заключение. Обзор литературных данных позволяет заключить, что культуры *G. jasminoides in vitro* обеспечивают стабильное и усиленное производство ценных вторичных метаболитов (иридоидных гликозидов, полифенолов, каротиноидов), превосходящее показатели интактных растений, что открывает перспективы промышленного получения БАВ и препаратов на их основе.

Ключевые слова: гардения жасминовидная, *Gardenia jasminoides*, химические компоненты, биологическая активность, каротиноиды, иридоидные гликозиды

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

Вклад авторов. А. С. Бугаев – сбор и обработка литературных данных, подготовка текста статьи. В. С. Ражновская – сбор литературных данных. М. Н. Повыдыш, Н. С. Пивоварова – обсуждение результатов, разработка концепции исследования.

© Бугаев А. С., Ражновская В. С., Пивоварова Н. С., Повыдыш М. Н., 2025
© Bugaev A. S., Razhnovskaya V. S., Pivovarova N. S., Povydysh M. N., 2025

Для цитирования: Бугаев А. С., Ражновская В. С., Пивоварова Н. С., Повыдыш М. Н. Биосинтетическая активность гардении жасминовидной *Gardenia jasminoides* J. Ellis в культурах *in vitro*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):41–50. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2078

Biosynthetic activity of *Gardenia jasminoides* J. Ellis in *in vitro* cultures (review)

Artem S. Bugaev, Varvara S. Razhnovskaya, Nadezhda S. Pivovarova, Maria N. Povydysh✉

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Maria N. Povydysh. **E-mail:** maria.povydysh@pharminnotech.com

ORCID: Artem S. Bugaev – https://orcid.org/0009-0004-9911-9411;
Varvara S. Razhnovskaya – https://orcid.org/0009-0002-5818-3754;
Nadezhda S. Pivovarova – https://orcid.org/0000-0003-3020-8526;
Maria N. Povydysh – https://orcid.org/0000-0002-7768-9059.

Received: 10.04.2025 **Accepted:** 07.10.2025 **Published:** 10.10.2025

Abstract

Introduction. *Gardenia jasminoides* Ellis is an evergreen shrub of the *Rubiaceae* family, naturally growing in China and Japan, and cultivated as an ornamental plant in many regions of the world. This review presents data on the results of studies of the accumulation of biologically active substances in various *in vitro* cultures, the possibility of inducing their biosynthesis, and the biological activity of substances isolated from *Gardenia jasminoides* cell cultures.

Text. To date, about 162 compounds have been isolated and identified from *G. jasminoides*, including flavonoids, iridoid glycosides, gardenia yellow pigment, monoterpenoids, sesquiterpenoids, triterpenoids, organic acids and their derivatives. The most important biologically active constituents of *G. jasminoides* are iridoid glycosides and yellow pigments – crocin derivatives. The use of plant cell cultures is one of the most promising approaches to obtaining biologically active substances of plant origin, since this method is characterized by less dependence on climatic and environmental factors, provides more precise process control and allows for a shorter production cycle, which contributes to the effective scaling of production. A number of researchers have obtained callus and suspension cultures, as well as shoot and modified root cultures of *G. jasminoides*. In order to increase the production of the main classes of biologically active substances – iridoid glycosides, polyphenolic compounds and carotenoids in callus, suspension and shoot cultures of *G. jasminoides*, a number of studies were conducted on the introduction of specific additives into nutrient media. It was shown that *G. jasminoides* cell cultures have high antioxidant activity due to phenolic compounds such as ferulic and chlorogenic acids. Callus culture extracts showed significantly greater superoxide dismutase activity than leaf extracts. At the same time, only callus culture extracts exhibited antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*.

Conclusion. A review of the literature data allows us to conclude that in vitro *G. jasminoides* cultures provide stable and enhanced production of valuable secondary metabolites (iridoid glycosides, polyphenols, carotenoids), exceeding the indicators of intact plants, which opens up prospects for the industrial production of biologically active substances and phytopreparations.

Keywords: *Gardenia jasminoides*, chemical components, biological activity, carotenoids, iridoid glycosides

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. Artem S. Bugaev – collection and processing of literary data, preparation of the text of the article. Varvara S. Razhnovskaya – collection of literary data. Maria N. Povydysh, Nadezhda S. Pivovarova – discussion of the results, development of research components.

For citation: Bugaev A. S., Razhnovskaya V. S., Pivovarova N. S., Povydysh M. N. Biosynthetic activity of *Gardenia jasminoides* J. Ellis in *in vitro* cultures. *Drug development & registration*. 2025;14(4):41–50. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2078

ВВЕДЕНИЕ

Гардения жасминовидная (*Gardenia jasminoides* Ellis) – вечнозеленый кустарник из семейства *Rubiaceae*, естественно произрастающий в Китае и Японии и активно культивируемый в качестве декоративного растения во многих регионах мира [1]. Гардения жасминовидная является ценным источником многих вторичных метаболитов, таких как фенольные соединения, иридоиды, хинины и каротиноиды [2].

Экстракты *G. jasminoides* используются для лечения кровотечений, сосудистых заболеваний, нервных расстройств, зубной боли, панкреатита, гепатита, жел-

тухи, ран, ожогов, травм мышц, раздражения кожи, а также в качестве антиангиогенного средства и для лечения диабета [3–5].

Процесс культивирования растений требует значительного времени, а их развитие на протяжении полного жизненного цикла подвержено влиянию климатических условий, экологической обстановки, насекомых и микробных заболеваний. Это делает получение вторичных метаболитов из природных объектов малоэффективным. В связи с этим целесообразен поиск альтернативных методов получения биологически активных веществ (БАВ). Одним из наиболее перспективных подходов является использование культур растительных клеток, поскольку данный метод характеризуется меньшей зависимостью от климатических и экологических факторов, обеспечивает более точное управление процессом и позволяет сокращать производственный цикл, что способствует эффективному масштабированию производства [6] Считается, что в культурах клеток высших растений *in vitro* процессы вторичного метаболизма и его регуляция отличаются от таковых у интактных растений, поэтому состав вторичных соединений в интактном растении и в полученной из него культуре клеток может существенно различаться [7]. Это позволяет предположить появление ценных видов биологической активности у культур клеток, что было показано в ряде исследований [8–10].

Были получены каллусные и суспензионные культуры *G. jasminoides* Ellis, а также культуры побегов на различных питательных средах. Каллусогенез и индукция суспензионных культур происходили на средах, обогащенных регуляторами роста, обеспечивающими активное клеточное деление и поддержание жизнеспособности клеток. Культуры побегов успешно формировались на средах, оптимизированных для морфогенеза и пролиферации растительных клеток [11, 1]. Также была получена культура генетически трансформированных корней (hairy roots) [12].

В данном обзоре приведены данные о результатах исследований накопления биологически активных веществ в различных культурах, возможности индукции их биосинтеза и биологической активности БАВ, выделенных из культур гардении жасминовидной.

Гардения жасминовидная: химические компоненты и биологическая активность

В настоящее время из *G. jasminoides* выделено и идентифицировано около 162 соединений, среди которых флавоноиды, иридоидные гликозиды, желтый пигмент гардении, монотерпеноиды, сесквитерпеноиды, тритерпеноиды, органические кислоты и их производные (таблица 1). Наиболее важными биологически активными компонентами *G. jasminoides* являются иридоидные гликозиды и желтые пигменты – производные кроцина [13].

Таблица 1. Биологически активные соединения, обнаруженные в *G. jasminoides*

Table 1. Biologically active compounds found in *G. jasminoides*

Группа БАВ BAS group	**Основные компоненты** Main substances	**Литература** References
Флавоноиды Flavonoids	Рутин, кверцетин, катехин, 5,7,3›,5′-тетрагидрокси-6,4′-диметоксифлавон, 5,7,3′-тригидрокси-6,4′,5′-триметоксифлавон, кемпферол, 3-гидрокси-урс-12-ен-11-кетон, 5,4′-дигидроксил-7,3′,5′-триметоксифлавон, 5,7,3′,4′,5′-пентаметоксифлавон и 3,5,6,4′-тетрагидрокси-3′,5′-диметоксифлавон Rutin, quercetin, catechin, 5,7,3′,5′-tetrahydroxy-6,4′-dimethoxyflavone, 5,7,3′-trihydroxy-6,4′,5′-trimethoxyflavone, kaempferol, 3-hydroxy-urs-12-en-11-ketone, 5,4′-dihydroxyl-7,3′,5′-trimethoxyflavone, 5,7,3′,4′,5′-pentamethoxyflavone and 3,5,6,4′-tetrahydroxy-3′,5′-dimethoxyflavone	[14–16, 39]
Иридоидные гликозиды Iridoid glycosides	Генипин, генипозид, жасмигенипозид A, жасмигенипозид B, генипин 1-O-β-D-изомальтозид, метиловый эфир деацетил-асперулозидной кислоты, иксорозид, шанжисид, 6′′-O-транс-феруloилгенипин гентиобиозид, 6′-O-транс-*n*-кумароилгенипозид, 10-O-сукциноилгенипозид, 6′-O-ацетилгенипозид, 10-O-(4′′-O-метилсукциноил)генипозид Genipin, geniposide, jasmigeniposide A, jasmigeniposide B, genipin 1-O-β-D-isomaltoside, deacetyl-asperuloside acid methyl ester, ixoroside, shanzhiside, 6′′-O-trans-feruloyl-genipin genentiobioside, 6′-O-trans-*p*-coumaroylgeniposide, 10-O-succinoyl geniposide, 6′-O-acetylgeniposide, 10-O-(4′-O-methylsuccinoyl) geniposide	[13, 15, 17–26, 28]
Каротиноиды Carotenoids	Кроцины-1-4, кроцетин, неокроцины A-J, 13-цис-кроцетин-8′-O-β-D-гентиобиозид Crocins-1-4, crocetin, neocrocins A-J, 13-cis-crocetin-8′-O-β-D-gentiobioside	[2, 4, 16, 23]

Окончание таблицы 1

Группа БАВ **BAS group**	**Основные компоненты** **Main substances**	**Литература** **References**
Монотерпеноиды Monoterpinoids	Жасминодиол, жасминозид H, 6′-O-синапоилжасминозид A, 6′-O-синапоилжасминозид C, жасминозид I Jasminodiol, jasminoside H, 6′-O-sinapoyljasminoside A, 6′-O-sinapoyljasminoside C, jasminoside I	[15, 19, 20, 23, 24]
Сесквитерпеноиды Sesquiterpenoids	(1R,7R,8S,10R)-7,8,11-тригидроксигуаи-4-ен-3-он-8-O-β-D-гликопиранозид, (1R,7R,10S)-11-O-β-D-гликопиранозил-4-гуайен-3-он, (1R,7R,10S)-7-гидрокси-11-O-β-D-гликопиранозил-4-гуайен-3-он (1R,7R,8S,10R)-7,8,11-trihydroxyguai-4-en-3-one-8-O-β-D-glucopyranoside, (1R,7R,10S)-11-O-β-D-glucopyranosyl-4-guai-en-3-one, and (1R,7R,10S)-7-hydroxy-11-O-β-D-glucopyranosyl-4-guai-en-3-one	[26]
Тритерпеноиды Triterpenoids	Урсоловая кислота, олеаноловая кислота, секаубритриол, 27-O-p-(E)-кумароилоксиурсоловая кислота, гарденизид A, гарденизид B, гарденизид C, 3-O-β-D-глюкуронопиранозид-6›-O-метиловый эфир, олеаноловой кислоты 3-O-β-D-глюкуропиранозид, герагенин-3-O-β-D-глюкуронопиранозид-6′-O-метиловый эфир, чикусецусапонин IVa метиловый эфир, чикусецусапонин, чикусецусапонин IVa бутиловый эфир, сиарезиноловая кислота, 28-O-β-D-глюкопиранозиловый эфир, β-ситостерин, цикусецусапонин IVa, 3β,23-дигидроксиурс-12-ен-28-оевая кислота, 3β,19α-дигидроксиурс-12-ен-28-оевая кислота, 3β,19α,23-тригидроксиурс-12-ен-28-оевая кислота Ursolic acid, oleanolic acid, secaubritriol, 27-O-p-(E)-coumaroyloxyursolic acid, gardiniside A, gardiniside B, gardiniside C, 3-O-β-D-glucuronopyranoside-6′-O-methyl ester, oleanolic acid 3-O-β-D-glucuronopyranoside, geragenin-3-O-β-D-glucuronopyranoside-6′-O-methyl ester, chicusecusaponin IVa methyl ester, chicusecusaponin, chicusecusaponin, chicusecusaponin IVa butyl ester, siaresinolic acid, 28-O-β-D-glucopyranosyl ester, β-sitosterol, chikusetsusaponin IVa, 3β,23-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid, 3β,19α-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid, 3β,19α,23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid, 3β,19α,23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid	[15, 36]
Фенольные кислоты и их производные Phenolic acids and their derivatives	4-O-β-D-(6′-синапоил)глюкопиранозид, метил 5-O-каффеоил-3-O-синапоилквинат, этил 5-O-каффеоил-3-O-синапоилквинат, метил 5-O-каффеоил-4-O-синапоилквинат, этил 5-O-каффеоил-4-O-синапоилквинат, метил 3,5-ди-O-каффеоил-4-O-(3-гидрокси-3-метил)глутароилквинат, 3,5-дикаффеоилхиновая кислота, 4,5-дикаффеоилхиновая кислота, кофейная кислота, этил 5-O-каффеоилхинат, 3,4-дигидроксибензойная кислота, 3,4-дикаффеоилхиновая кислота, 3,5-D-O-каффеоил-4-O-(3-гидрокси-3-метил)-глутароилхинная кислота, 5-O-каффеоил-4-O-синапоилхинная кислота, (+)-лионирезинол-3a-O-b-глюкопиранозид, 3-каффеоил-4-синапоилхиновая кислота, 3,4-дикаффеоил-5-(3-гидрокси-3-метилглутароил)хинная кислота, каффеоил-синапоилхинная кислота, шикимовая кислота, 3,4-диметокси-бензойная кислота, дибутилфталат, галловая кислота 4-O-β-D-(6′-sinapoyl)glucopyranoside, methyl 5-O-caffeoyl-3-O-sinapoylquinate, ethyl 5-O-caffeoyl-3-O-sinapoylquinate, methyl 5-O-caffeoyl-4-O-sinapoylquinate, ethyl 5-O-caffeoyl-4-O-sinapoylquinate, methyl 3, 5-di-O-caffeoyl-4-O-(3-hydroxy-3-methyl)glutaroylquinate, 3,5-dicaffeoylquinic acid, 4,5-dicaffeoylquinic acid, caffeic acid, ethyl 5-O-caffeoylquinate, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dicaffeoylquinic acid, 3,5-D-O-caffeoyl-4-O-(3-hydroxy-3-methyl)-glutaroylquinic acid, 5-O-caffeoyl-4-O-sinapoylquinic acid, (+)-lioniresinol-3a-O-b-glucopyranoside, 3-caffeoyl-4-sinapoylquinic acid, 3,4-dicaffeoyl-5-(3-hydroxy-3-methylglutaroyl) cinnamic acid, caffeoyl-sinapoylquinic acid, shikimic acid, 3,4-dimethoxy-benzoic acid, dibutyl phthalate, gallic acid	[13–16, 27, 30, 31]

Химические компоненты G. jasminoides в культурах in vitro

Полифенольные соединения

В каллусных культурах были обнаружены коричная, розмариновая, *n*-гидроксибензойная, протокатеховая, галловая, кофейная, сиреневая, *n*-кумаровая, ванилиновая, синаповая и феруловая кислоты и катехин [31, 32].

В суспензионных культурах было идентифицировано семь производных хлорогеновой кислоты: 3-кофеилхинная, 4-кофеилхинная, 5-кофеилхинная, 3,5-дикофеилхинная, 4,5-дикофеилхинная, 3,5-дикофеил-4-О-(3-гидрокси-3-метил)-глутароилхинная и малонил-4,5-О-дикофеилхинная [6, 33]. Культура генетически трансформированных корней (hairy roots) накапливает хлорогеновую, феруловую и кофейную кислоты в количествах, в 100 раз превышающих таковое в корнях интактного растения. Показано также, что накопление хлорогеновой кислоты в каллусных культурах и культурах побегов гардении значительно увеличивается при действии белого света [12].

Клетки *G. jasminoides* в каллусной культуре подвергали обработке салициловой кислотой и метилжасмонатом для увеличения выхода хлорогеновой кислоты и ее производных [15]. Данные соединения значительно увеличивали выход хлорогеновой кислоты и ее производных, причем метилжасмонат был более эффективен. Клетки, культивируемые при добавлении 200 μM метилжасмоната, показали наибольшее общее содержание и выход хлорогеновой кислоты и ее производных – 20,98 ± 1,1 мг/г и 232,32 ± 9,1 мг/л соответственно, что превышает показатели контрольной группы в 19,51 и 14,14 раза [15]. Кроме того, сумма производных хлорогеновой кислоты, выделенная из клеток под воздействием 200 μM метилжасмоната, обладала значительно более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с интактными плодами *G. jasminoides*. Проведенное исследование подтвердило, что культура клеток данного растения в сочетании с обработкой метилжасмонатом обладает перспективным потенциалом для производства натуральных хлорогеновой кислоты и ее производных [15].

Показано, что культуры побегов накапливают хлорогеновую кислоту, кверцетин, кемпферол и рутин в значительно больших количествах по сравнению с листьями интактного растения. Культуры побегов также накапливали протокатеховую и *n*-кумаровую кислоты. Рутин накапливается в больших количествах в дифференцированных, чем в недифференцированных культурах корней гардении *in vitro*.

Наибольшее содержание флавоноидов было обнаружено в побегах, выращенных *in vitro* на среде WPM (woody plant medium) с добавлением бензиладенина в концентрации 2,0 мг/л. Однако применение среды Gamborg B5 с 2,0 мг/л бензиладенина приводило к снижению общего уровня флавоноидов. Что касается полифенольных соединений, то их общее максимальное количество зафиксировано в побегах, полученных на среде Мурасиге – Скуга (МС) с бензиладенином в концентрации 0,5 мг/л [12].

Выявлено влияние зеатина и тидиазурона на накопление фенольных соединений и флавоноидов в каллусных культурах гардении. Каллус, выращенный на среде с 4 мг/л зеатина, содержал максимальное количество общего фенола и общих флавоноидов. При этом каллус, выращенный с добавлением 4 мг/л тидиазурона, продемонстрировал более высокую антиоксидантную активность. ВЭЖХ-анализ фенольных кислот показал, что хлорогеновая, розмариновая и коричная кислоты достигали наибольшей концентрации в каллусе, выращенном на 4 мг/л тидиазурона. Каллус, выращенный с 4 мг/л тидиазурона, продемонстрировал также высокое содержание рутина и кемпферола. Однако наибольшее накопление апигенин-7-глюкозида было обнаружено в каллусной культуре с 4 мг/л зеатина [35].

Кроме того, сообщается, что среда WPM, содержащая 2,5 мг/л салициловой кислоты и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты или 1-нафтилуксусную кислоту, демонстрировала более высокие показатели содержания фенольных соединений, флавоноидов и, как следствие, антиоксидантной активности [36].

Показано, что применение 2 мг/л фенилаланина положительно повлияло на содержание флавоноидов, при этом применение 3 мг/л фенилаланина увеличило содержание рутина [34].

Иридоидные гликозиды

В каллусных культурах гардении отмечено значительное накопление иридоидов генипозида (до 4,59 %) и генипина (до 44,82 %) (таблица 2) [11].

Каротиноиды

Полиеновая дикарбоновая кислота кроцетин и ее дигентиобиозиловый эфир кроцин – это каротиноиды, применяемые в качестве натуральных красителей в пищевых продуктах благодаря их водорастворимости, разнообразию оттенков и стабильности при изменении pH. В условиях растущего спроса на натуральные пищевые красители метод клеточных культур используется для производства ценных метаболитов в различных растениях. Традиционными источниками кроцина являются дорогая пряность шафран и зрелые плоды гардении. Экономические факторы и сезонная доступность ограничивают эти источники, поэтому культура *in vitro G. jasminoides* Ellis рассматривается как перспективный альтернативный источник кроцина и его производных.

Показано, что каллусные культуры накапливают желтый пигмент кроцин в количествах, сопоставимых с таковым в плодах гардении жасминовидной [11, 31]. При этом высокая концентрация (9 %) сахарозы

в среде оказывает значительное влияние на выработку желтого пигмента, хотя и несколько подавляет рост каллуса [31].

Также положительное влияние на накопление красителя оказывала модифицированная питательная среда МС пониженным содержанием нитратов и фосфатов, дополненная индол-3-масляной кислотой (1 мг/л) и кинетином (1 мг/л) [33].

В экспериментах *in vitro* было изучено применение промоторов для повышения синтеза кроцина, а также проведен отбор клеточных линий с его высоким уровнем производства. Выявлено, что каталаза (120 и 240 ЕД/л) и аскорбиновая кислота (75 мг/л) способствуют накоплению этого вещества. Кроме того, предварительные результаты, полученные на клетках, отобранных по яркому желтому или оранжевому оттенку, продемонстрировали многократное увеличение кроцина. Интенсивность светового воздействия оказалась значимым фактором, влияющим как на рост каллуса, так и на выход кроцина. Несмотря на установление оптимальных условий среды для индукции каллуса, клеточного роста и образования кроцина, его конечный выход все же оказался ниже, чем в спелых плодах в представленных исследованиях [33].

С целью повышения продукции основных классов биологически активных веществ – иридоидных гликозидов, полифенольных соединений и каротиноидов – в каллусных, суспензионных и побеговых культурах гардении жасминовидной был проведен ряд исследований по введению в питательные среды специфических добавок. Данные о добавках, позволивших достичь значительной индукции биосинтеза БАВ, представлены в таблице 3.

Таблица 2. Наименования и структурные формулы наиболее значимых компонентов культур *G. jasminoides*

Table 2. Names and structural formulas of the most significant components of *G. jasminoides in vitro* cultures

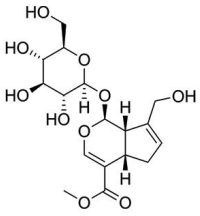
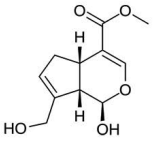
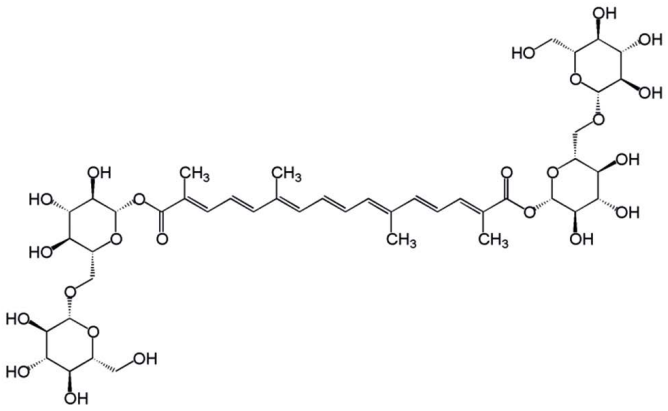
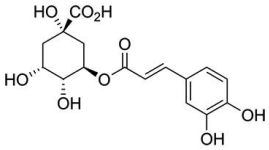
Соединение Compound	**Формула** Chemical structure	**Литература** References
Генипозид Geniposide		[11, 28, 29]
Генипин Genipin		[11, 28, 29]
Кроцин Crocin		[28, 29, 31]
Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid		[6, 28]

Таблица 3. Влияние компонентов питательной среды на накопление БАВ в культурах *G. jasminoides*

Table 3. Effect of medium components on the accumulation of biologically active substances in *G. jasminoides* cultures

БАВ BAS	Тип культуры Culture type	Добавка Supplement	Концентрация Concentration	Литература References
Генипозид Geniposide	Каллус callus	Гидролизат казеина Casein hydrolysate	100 мг/л 100 mg/l	[11]
Сумма иридоидных гликозидов Sum of iridoid glycosides	Каллус Callus	Сахароза Sucrose	5–8 %	[13]
		Нитрат аммония Ammonium nitrate	60 ммоль/л 60 mM/l	
Кроцин и кроцетины Crocin and crocetins	Каллус Callus	Индол-3-масляная кислота Indole-3-butyric acid	1 мг/л 1 mg/l	[25, 26, 31]
		Кинетин Kinetin	1 мг/л 1 mg/l	
Кроцин Crocin	Каллус Callus	Гидролизат казеина Casein hydrolysate	100 мг/л 100 mg/l	[11]
		Сахароза Sucrose	9 %	[31]
		Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	75 мг/л 75 mg/l	[28, 29]
		Каталаза Catalase	120 ед./л 120 units/l	
Сумма полифенольных соединений Total polyphenolic compounds	Культура побегов Shoot culture	6-(γ,γ-диметил-аллил-амино)пурин 6-(γ,γ-dimethyl allyl amino)purine	1 мг/л 1 mg/l	[14]
Рутин, апигенин-7-глюкозид, кемпферол Rutin, apigenin-7-glucoside, kaempferol	Каллус Callus	Зеатин Zeatine	4 мг/л 4 mg/l	[35]
Рутин, сумма полифенольных соединений Rutin, sum of polyphenolic compounds	Каллус Callus	Фенилаланин Phenylalanine	5 мг/л 5 mg/l	[34]
Феруловая, кофеиновая, синаповая кислоты Ferulic, caffeic, sinapic acids	Каллус Callus	Путресцин Putrescine	0,5 мг/л 0.5 mg/l	[32]
Сумма флавоноидов Total flavonoids	Каллус Callus	Метилжасмонат Methyl jasmonate	0,22 мг/л 0.22 mg/l	[38]
	Суспензия Suspension	Порошок дрожжей Yeast powder	7,5 %	[41, 42]
Сумма флавоноидов и сумма полифенольных соединений Total flavonoids and total polyphenolic compounds	Каллус Callus	Салициловая кислота Salicylic acid	2,5 мг/л 2.5 mg/l	[39]
		Зеатин Zeatin	4 мг/л 4 mg/l	[38]
		Тидиазурон Thidiazuron	4 мг/л 4 mg/l	
	Культура побегов Shoot culture	6-Бензиладенин 6-Benzyladenine	2 мг/л 2 mg/l	[32]
Хлорогеновая кислота и ее производные Chlorogenic acid and its derivatives	Суспензия Suspension	Метилжасмонат Methyl jasmonate	200 ммоль 200 mmol	[6, 36]
	Суспензия Suspension	Салициловая кислота Salicylic acid	200 ммоль 200 mmol	

Биологическая активность

Антиоксидантная активность

Клеточные культуры *G. jasminoides* демонстрируют высокую антиоксидантную активность благодаря наличию феруловой, хлорогеновой кислоты, рутина и других фенольных соединений. Эти вещества эффективно нейтрализуют свободные радикалы, защищая клетки от окислительного стресса. Сообщается, что экстракты каллуса *G. jasminoides* (около 30 ЕД/мл) демонстрируют значительно более высокую супероксиддисмутазную активность по сравнению с экстрактами листьев растения, выращенных *in vivo* (примерно 10 ЕД/мл) [34, 41–49].

Антимикробная активность

Экстракты листьев *G. jasminoides*, полученные *in vivo*, не проявляют антибактериальной активности по отношению к четырем типам бактерий: *Escherichia coli, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. В то же время экстракты каллусных культур, выращенных на средах MS и WPM с добавлением α-нафталинуксусной кислоты, продемонстрировали ингибирующее действие против *Escherichia coli* и *Bacillus cereus*, но не оказывали аналогичного эффекта на *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* [34, 42, 45, 49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный обзор литературных данных позволяет заключить, что культуры *in vitro G. jasminoides* Ellis представляют собой перспективную альтернативу традиционным методам получения биологически активных веществ. Использование клеточных, суспензионных и побеговых культур позволяет не только обеспечить стабильное и контролируемое производство вторичных метаболитов, таких как иридоидные гликозиды, полифенольные соединения и каротиноиды, но и значительно повысить их накопление по сравнению с интактными растениями. Оптимизация состава питательных сред и применение специфических добавок (например, метилжасмоната, салициловой кислоты, фенилаланина и т. д.) способствуют существенному стимулированию синтеза целевых веществ, что открывает широкие возможности для промышленного производства натуральных препаратов с антиоксидантной и антимикробной активностью. Результаты исследования подтверждают потенциал клеточных технологий в обеспечении устойчивого производства биоактивных компонентов, востребованных в фармацевтической, пищевой и косметической промышленности. Дальнейшие исследования, направленные на совершенствование методов культивирования и масштабирование процесса, а также изучение молекулярных механизмов регуляции синтеза вторичных метаболитов, позволят еще более эффективно использовать возможности культур *in vitro* для получения высокоэффективных биопродуктов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Al-Juboory K. H., Skirvin R. M., Williams D. J. Callus induction and adventitious shoot regeneration of gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis) leaf explants. *Scientia Horticulturae*. 1998;72(3–4):171–178. DOI: 10.1016/S0304-4238(97)00060-5.
2. Lee J.-H., Lee D.-U., Jeong C.-S. *Gardenia jasminoides* Ellis ethanol extract and its constituents reduce the risks of gastritis and reverse gastric lesions in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2009;47(6):1127–1131. DOI: 10.1016/j.fct.2009.01.037.
3. Lelono R. A. A., Tachibana S., Itoh K. Isolation of antifungal compounds from *Gardenia jasminoides*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2009;12(13):949–956. DOI: 10.3923/pjbs.2009.949.956.
4. Hwang S. M., Lee Y. J., Yoon J. J., Lee S. M., Kang D. G., Lee H. S. *Gardenia jasminoides* inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced vascular inflammation in endothelial cells. *Phytotherapy Research*. 2010;24(S2):214–219. DOI: 10.1002/ptr.3099.
5. Manickam B., Sreedharan R., Elumalai M. 'Genipin' – the natural water soluble cross-linking agent and its importance in the modified drug delivery systems: An overview. *Current Drug Delivery*. 2014;11(1):139–145. DOI: 10.2174/15672018113106660059.
6. Liu Z.-B., Chen J.-G., Yin Z.-P., Shangguan X.-C., Peng D.-Y., Lu T., Lin P. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation increase content and yield of chlorogenic acid and its derivatives in *Gardenia jasminoides* cell suspension cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2018;134:79–93. DOI: 10.1007/s11240-018-1401-1.
7. Popova E. V., Nosov A. V., Titova M. V., Kochkin D. V., Fomenkov A. A., Kulichenko I. E., Nosov A. M. Advanced biotechnologies: Collections of plant cell cultures as a basis for development and production of medicinal preparations. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2021;68(3):385–400. DOI: 10.1134/S102144372103016X.
8. Povydysh M. N., Titova M. V., Ivanov I. M., Klushin A. G., Kochkin D. V., Galishev B. A., Popova E. V., Ivkin D. Y., Luzhanin V. G., Krasnova M. V., Demakova N. V., Nosov A. M. Effect of phytopreparations based on bioreactor-grown cell biomass of *Dioscorea deltoidea, Tribulus terrestris* and *Panax japonicus* on carbohydrate and lipid metabolism in type 2 diabetes mellitus. *Nutrients*. 2021;13(11):3811. DOI: 10.3390/nu13113811.
9. Povydysh M. N., Titova M. V., Ivkin D. Y., Krasnova M. V., Vasilevskaya E. R., Fedulova L. V., Ivanov I. M., Klushin A. G., Popova E. V., Nosov A. M. The hypoglycemic and hypocholesterolemic activity of *Dioscorea deltoidea, Tribulus terrestris* and *Panax japonicus* cell culture biomass in rats with high-fat diet-induced obesity. *Nutrients*. 2023;15(3):656. DOI: 10.3390/nu15030656.
10. Lagunin A., Povydysh M., Ivkin D., Luzhanin V., Krasnova M., Okovityi S., Nosov A., Titova M., Tomilova S., Filimonov D., Poroikov V. Antihypoxic action of Panax japo-

nicus, Tribulus terrestris and Dioscorea deltoidea cell cultures: In silico and animal studies. *Molecular Informatics*. 2020;39(11):2000093. DOI: 10.1002/minf.202000093.
11. Salim S. A., Hamza S. Y., Habeeb M. S. Enhancement of *Gardenia jasminoides* Ellis friable callus growth and its constituents of some bioactive compounds. *Plant Archives*. 2019;19(2):398–402.
12. Ebrahim H. S., El Ashry A. A., Rabie S. A. A., Ismail I. A., El-Bahr M. K., Gabr A. M. M. Establishment of hairy root cultures by Agrobacterium rhizogenes mediated transformation of *Gardenia jasminoides* Variegata for enhancing phenolic and antioxidant accumulation capacity. *Egyptian Pharmaceutical Journal*. 2025;24(1):131–140. DOI: 10.21608/epj.2025.402973.
13. Chen L., Li M., Yang Z., Tao W., Wang P., Tian X., Li X., Wang W. *Gardenia jasminoides* Ellis: Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological and industrial applications of an important traditional Chinese medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;257:112829. DOI: 10.1016/j.jep.2020.112829.
14. Uddin R., Saha M. R., Subhan N., Hossain H., Jahan I. A., Akter R., Alam A. HPLC-analysis of polyphenolic compounds in *Gardenia jasminoides* and determination of antioxidant activity by using free radical scavenging assays. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2014;4(3):273–281. DOI: 10.5681/apb.2014.040.
15. Wang L., Liu S., Zhang X., Xing J., Liu Z., Song F. A strategy for identification and structural characterization of compounds from *Gardenia jasminoides* by integrating macroporous resin column chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with ion-mobility spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2016;1452:47–57. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.05.026.
16. Luo Y.-J., Zuo Y.-M., Zhang Z.-L., Cai M.-T., Luo G.-M. Study on chemical constituents of *Gardenia jasminoides* (III). *Zhong Yao Cai*. 2014;37:1196–1199.
17. Oshima T., Sagara K., Yoshida T., Tong Y. Y., Zhang G. D., Chen Y. H. Determination of geniposide, gardenoside, geniposidic acid and genipin-1-β-gentiobioside in *Gardenia jasminoides* by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 1988;455:410–414. DOI: 10.1016/s0021-9673(01)82148-8.
18. Zhou T., Zhao W., Fan G., Chai Y., Wu Y. Isolation and purification of iridoid glycosides from *Gardenia jasminoides* Ellis by isocratic reversed-phase two-dimensional preparative high-performance liquid chromatography with column switch technology. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2007;858(1–2):296–301. DOI: 10.1016/j.jchromb.2007.08.031.
19. Akihisa T., Watanabe K., Yamamoto A., Zhang J., Matsumoto M., Fukatsu M. Melanogenesis inhibitory activity of monoterpene glycosides from Gardeniae Fructus. *Chemistry and Biodiversity*. 2012;9(8):1490–1499. DOI: 10.1002/cbdv.201200030.
20. Peng K., Yang L., Zhao S., Chen L., Zhao F., Qiu F. Chemical constituents from the fruit of *Gardenia jasminoides* and their inhibitory effects on nitric oxide production. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2013;23(4):1127–1131. DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.11.099.
21. Chang W.-L., Wang H.-Y., Shi L.-S., Lai J.-H., Lin H.-C. Immunosuppressive iridoids from the fruits of *Gardenia jasminoides*. *Journal of Natural Products*. 2005;68(11):1683–1685. DOI: 10.1021/np0580816.
22. Zhou T., Liu H., Wen J., Fan G., Chai Y., Wu Y. Fragmentation study of iridoid glycosides including epimers by liquid chromatography-diode array detection/electrospray ionization mass spectrometry and its application in metabolic fingerprint analysis of *Gardenia jasminoides* Ellis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2010;24(17):2520–2528. DOI: 10.1002/rcm.4643.
23. Chen Q. C., Zhang W. Y., Youn U., Kim H., Lee I., Jung H.-J., Na M., Min B.-S., Bae K. Iridoid glycosides from Gardeniae Fructus for treatment of ankle sprain. *Phytochemistry*. 2009;70(6):779–784. DOI: 10.1016/j.phytochem.2009.03.008.
24. Yu Y., Xie Z.-L., Gao H., Ma W.-W., Dai Y., Wang Y., Zhong Y., Yao X.-S. Bioactive iridoid glucosides from the fruit of *Gardenia jasminoides*. *Journal of Natural Products*. 2009;72(8):1459–1464. DOI: 10.1021/np900176q.
25. Zhang H., Feng N., Xu Y.-T., Li T.-X., Gao X.-M., Zhu Y., Song Y. S., Wang Y.-N., Wu H.-H. Chemical constituents from the flowers of wild *Gardenia jasminoides* J.Ellis. *Chemistry and Biodiversity*. 2017;14(5):201600437. DOI: 10.1002/cbdv.201600437.
26. Yu Y., Feng X.-L., Gao H., Xie Z.-L., Dai Y., Huang X.-J., Kurihara H., Ye W.-C., Zhong Y., Yao X.-S. Chemical constituents from the fruits of *Gardenia jasminoides* Ellis. *Fitoterapia*. 2012;83(3):563–567. DOI: 10.1016/j.fitote.2011.12.027.
27. Okunji C. V., Caldwell S. A., McPhail L., et al. Phenolic constituents from *Gardenia jasminoides* and their effects on hepatocellular carcinoma. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;136:243–248.
28. Liu X., Yuan J., Zhang J., et al. Chemical constituents of *Gardenia jasminoides* Ellis and their bioactivity. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2022;54:19–0.
29. Zhang Z., Feng H., Wu X., et al. Chemical and biological activities of *Gardenia jasminoides* fruits. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2018;126(2):143–152.
30. Kim H. J., Kim E. J., Seo S. H., Shin C.-G., Jin C., Lee Y. S. Vanillic acid glycoside and quinic acid derivatives from Gardeniae Fructus. *Journal of Natural Products*. 2006;69(4):600–603. DOI: 10.1021/np050447r.
31. Farzinebrahimi R., Mat Taha R., Rashid K., Syafawati Yaacob J. The effect of various media and hormones via suspension culture on secondary metabolic activities of (Cape Jasmine) *Gardenia jasminoides* Ellis. The *Scientific World Journal*. 2014;2014:407284. DOI: 10.1155/2014/407284.
32. El-Sayeda I. M., El-Ziatb R. A., Muradc S. A., Tahaa L. S., Mahgouba M. H. Optimization of micropropagation protocol and secondary metabolites of *Gardenia jasminoides* plant. *Plant Archives*. 2020;20(2):9183–9189.
33. George P. S., Ravishankar G. A. Induction of crocin and crocetins in callus cultures of *Gardenia jasminoides* Ellis. *Food biotechnology*. 1995;9(1–2):29–38.
34. Bergonzi M. C., Righeschi C., Isacchi B., Bilia A. R. Identification and quantification of constituents of *Gardenia jasminoides* Ellis (Zhizi) by HPLC-DAD–ESI–MS. *Food Chemistry*. 2012;134(2):1199–1204. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.02.157.
35. Al-Maameri A. A. K., Almyali A. A. H. Effect of putrescine and type of light in callus of *Gardenia jasminoides* L. content from some effective medical compounds. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2020;871(1):012017.

36. Liu Z., Mohsin A., Wang Z., Zhu X., Zhuang Y., Cao L., Guo M., Yin Z. Enhanced biosynthesis of chlorogenic acid and its derivatives in methyl-jasmonate-treated *Gardenia jasminoides* cells: A study on metabolic and transcriptional responses of cells. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021;8:604957. DOI: 10.3389/fbioe.2020.604957.
37. El-Ashry A. A. E.-L., Gabr A. M. M., Arafa N. M., El-Bahr M. K. Rutin accumulation in gardenia calli cultures as a response to phenyl alanine and salicylic acid. *Bulletin of the National Research Centre*. 2019;43:141.
38. Gabr A. M. M., Arafa N. M., El-Ashry A. A. E.-L., El-Bahr M. K. Impact of Zeatin and Thidiazuron on Phenols and Flavonoids Accumulation in Callus Cultures of Gardenia (*Gardenia jasminoides*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2017;20(7):328–335. DOI: 10.3923/pjbs.2017.328.335.
39. Reza F. Elicitation study on total phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of Gardenia jasminoides cell cultures. [Dissertation.] University of Malaya. 2017.
40. Tian Y., Huang X., Xu L., et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Gardenia jasminoides* Ellis fruit extract. *Phytochemistry Reviews*. 2014;13:467–476.
41. Zhu W., Li G., Zhou J. et al. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Gardenia jasminoides* fruits. *Journal of Food Science*. 2020;85(4):944–951.
42. Zhang L., Yang G., Li Z., et al. Bioactive components from *Gardenia jasminoides* and their mechanisms of action for oxidative stress protection. *Journal of Functional Foods*. 2019;56:297–303.
43. Yu L., Liu Y., Gao S., et al. Anti-tumor and antioxidant effects of *Gardenia jasminoides* fruit extract. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2020;374:209–220.
44. Zhao J., Guo J., Zuo Y., et al. Review on the pharmacological effects of *Gardenia jasminoides*. *Phytochemistry Reviews*. 2018;17:361–371.
45. Wang J., Yang Y., Zhang W., et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Gardenia jasminoides* Ellis on human health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;112:108677.
46. Zeng W., Li W., Feng H., et al. Investigating the protective effects of *Gardenia jasminoides* on oxidative stress-related diseases. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;249:112451.
47. Yang H., Zhang Y., Li T., et al. Cytotoxicity and anti-inflammatory activity of *Gardenia jasminoides*. *Phytomedicine*. 2019;55:12–19.
48. Wang M., Zhang Q., Li M., et al. Antidiabetic and antioxidant effects of *Gardenia jasminoides* fruits in type 2 diabetes rats. *Journal of Diabetes Research*. 2016;2016:9534741.
49. Zhang L., Yang X., Fu S., et al. Investigating the antimicrobial and antioxidant properties of *Gardenia jasminoides* fruit extract. *Journal of Functional Foods*. 2021;77:104357.

Оригинальная статья / Research article

УДК 543.544.943.3.068.7; 582.711.16

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2193

Check for updates

CC BY 4.0

Морфологическая и химическая вариабельность фенотипов родиолы розовой, культивируемой на северо-западе России

Е. В. Бабушкина, Н. А. Дудецкая, Е. В. Жохова, А. А. Латыпов, Н. Р. Луцева, А. В. Клемпер, М. Н. Повыдыш, Н. В. Скляревская✉

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

✉ **Контактное лицо:** Скляревская Нелли Владимировна. **E-mail:** nelly.sklyarevskaya@pharminnotech.com

ORCID: Е. В. Бабушкина – https://orcid.org/0009-0002-4243-706X;
Н. А. Дудецкая – https://orcid.org/0000-0002-2304-3236;
Е. В. Жохова – https://orcid.org/0000-0002-9763-096X;
А. А. Латыпов – https://orcid.org/0009-0005-0394-2209;
Н. Р. Луцева – https://orcid.org/0009-0002-5183-784X;
А. В. Клемпер – https://orcid.org/0000-0003-2995-7570;
М. Н. Повыдыш – https://orcid.org/0000-0002-7768-9059;
Н. В. Скляревская – https://orcid.org/0000-0002-3735-4510.

Статья поступила: 30.09.2025 **Статья принята в печать:** 28.11.2025 **Статья опубликована:** 28.11.2025

Резюме

Введение. В последние годы возросла актуальность использования лекарственных растений в составе лечебно-профилактических препаратов, способных регулировать адаптивные модификации, направленные на поддержание психических и физических функций человека в условиях постоянно изменяющихся природных и социальных факторов. Одним из интересных растений в лекарственном отношении является родиола розовая (*Rhodiola rosea* L.) – представитель семейства толстянковых (*Crassulaceae*). Данный вид является очень полиморфным как морфологически, так и с точки зрения химического состава. Основной сырьевой базой являются горы Южной Сибири (Алтай, Саяны), Тува, Забайкалье. Но отечественных сырьевых баз недостаточно, поэтому актуальна проблема их расширения и выявления среди культивируемых популяций фенотипов с высоким содержанием биологически активных веществ.

Цель. Установить морфометрические характеристики различных фенотипов родиолы розовой, культивируемой на северо-западе России и провести сравнительный анализ вторичных метаболитов в образцах подземных органов родиолы розовой разных фенотипов с использованием высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ).

Материалы и методы. Объектами исследования были 24 образца корневищ и корней родиолы розовой разных фенотипов, заготовленных в 2024 г. в фазы цветения – плодоношения в питомнике лекарственных растений СПХФУ (Ленинградская обл., Всеволожский р-н, 38 км Приозерского шоссе). Извлечения из сырья получали, используя ультразвуковую ванну «Сапфир-4,0-ТТЦ» (Россия). В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%-й. ВЭТСХ-анализ выполняли на приборе CAMAG (Швейцария) с использованием пластин MERCK HPTLC plates silica gel 60 F 254 размером 20 × 10 см.

Результаты и обсуждение. Полученные растворы изучали методом ВЭТСХ в системе растворителей хлороформ – спирт 96%-й – вода (25 : 16 : 1). После проведения сканирующей денситометрии при 254 нм сравнивали денситограммы отдельных треков между собой для того, чтобы выявить фенотипы родиолы розовой с большим содержанием биологически активных соединений. В результате сравнения треков 24 образцов подземных органов *Rhodiola rosea* в числе перспективных для последующего исследования и культивирования предложены образцы женского (№ 1, 7, 8 и 14) и мужского (№ 15, 18, 21, 23 и 24) пола высотой от 23 до 41 см.

Заключение. Были установлены морфометрические характеристики различных фенотипов родиолы розовой, культивируемой в условиях северо-запада России. В результате анализа спиртовых извлечений из корневищ и корней *Rhodiola rosea* методом ВЭТСХ было установлено, что большим содержанием вторичных метаболитов (фенилпропаноидов и простых фенолов) отличаются образцы как женского, так и мужского пола. Высота растений варьировала от 23 до 41 см.

© Бабушкина Е. В., Дудецкая Н. А., Жохова Е. В., Латыпов А. А., Луцева Н. Р., Клемпер А. В.,Повыдыш М. Н., Скляревская Н. В., 2025

© Babushkina E. V., Dudetskaya N. A., Zhokhova E. V., Latypov A. A., Lutseva N. R., Klemper A. V., Povydysh M. N., Sklyarevskaya N. V., 2025

Ключевые слова: *Rhodiola rosea*, родиола розовая, фенотипы, ВЭТСХ

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

Вклад авторов. Е. В. Бабушкина – заготовка сырья, методологическая помощь. Н. А. Дудецкая – выполнение эксперимента, методологическая помощь. Е. В. Жохова – методологическая помощь, обсуждение результатов. А. А. Латыпов – получение спиртовых извлечений. Н. Р. Луцева – заготовка сырья, получение спиртовых извлечений. Н. В. Скляревская – заготовка сырья, выполнение эксперимента и интерпретирование результатов. М. Н. Повыдыш – методологическая помощь, обсуждение результатов. А. В. Клемпер – заготовка сырья, методологическая помощь. Н. В. Скляревская, М. Н. Повыдыш, Е. В. Жохова и Н. А. Дудецкая подготовили текст рукописи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Бабушкина Е. В., Дудецкая Н. А., Жохова Е. В., Латыпов А. А., Луцева Н. Р., Клемпер А. В., Повыдыш М. Н., Скляревская Н. В. Морфологическая и химическая вариабельность фенотипов родиолы розовой, культивируемой на северо-западе России. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):51–59. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2193

Morphological and chemical variability of phenotypes of *Rhodiola rosea* cultivated in north-west Russia

Evgenia V. Babushkina, Natalia A. Dudetskaya, Elena V. Zhokhova, Aidar A. Latypov, Natalya R. Lutseva, Aleksey V. Klemper, Maria N. Povydysh, Nelli V. Sklyarevskaya✉

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Nelli V. Sklyarevskaya. **E-mail:** nelly.sklyarevskaya@pharminnotech.com

ORCID: Evgenia V. Babushkina – https://orcid.org/0009-0002-4243-706X;
Natalia A. Dudetskaya – https://orcid.org/0000-0002-2304-3236;
Elena V. Zhokhova – https://orcid.org/0000-0002-9763-096X;
Aidar A. Latypov – https://orcid.org/0009-0005-0394-2209;
Natalya R. Lutseva – https://orcid.org/0009-0002-5183-784X;
Aleksey V. Klemper – https://orcid.org/0000-0003-2995-7570;
Maria N. Povydysh – https://orcid.org/0000-0002-7768-9059;
Nelli V. Sklyarevskaya – https://orcid.org/0000-0002-3735-4510.

Received: 30.09.2025 **Accepted:** 28.11.2025 **Published:** 28.11.2025

Abstract

Introduction. In recent years, the use of medicinal plants in therapeutic and prophylactic preparations capable of regulating adaptive modifications aimed at maintaining human mental and physical functions in the face of constantly changing natural and social factors has become increasingly important. One interesting plant for medicinal use is *Rhodiola rosea* L., a member of the Crassulaceae family. This species is highly polymorphic both morphologically and chemically. The main raw material sources are the mountains of southern Siberia (Altai, Sayan), Tuva, and Transbaikalia. However, domestic raw material sources are insufficient, making it necessary to expand them and identify phenotypes with high levels of biologically active substances among cultivated populations.

Aim. To establish the morphometric characteristics of different phenotypes of *Rhodiola rosea* cultivated in Northwest Russia and to conduct a comparative analysis of secondary metabolites in samples of underground organs of *Rhodiola rosea* of different phenotypes using high-performance thin-layer chromatography (HPTLC).

Materials and methods. The study subjects were 24 samples of *Rhodiola rosea* rhizomes and roots of various phenotypes, collected in 2024 during the flowering and fruiting phases at the medicinal plant nursery of the St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University (Leningrad Region, Vsevolozhsk District, 38 km of Priozerskoye Highway). Extracts from the raw materials were obtained using a Sapphire-4.0-TTC ultrasonic bath (Russia). 70 % ethyl alcohol was used as the extractant. HPTLC analysis was performed on a CAMAG instrument (Switzerland) using MERCK HPTLC plates silica gel 60 F 254 (20 × 10 cm).

Results and discussion. 70 % ethyl alcohol was used as the extractant. The resulting solutions were analyzed by HPTLC in a solvent system of chloroform, 96 % alcohol, and water (25 : 16 : 1). After scanning densitometry at 254 nm, the densitograms of individual tracks were compared to identify *Rhodiola rosea* phenotypes with higher levels of biologically active compounds. A comparison of the tracks of 24 *Rhodiola rosea* underground organ samples revealed female samples (No. 1, 7, 8 and 14) and male (No. 15, 18, 21, 23 and 24) samples, ranging in height from 23 to 41 cm, were proposed as promising for further study and cultivation.

Conclusion. Morphometric characteristics of various phenotypes of *Rhodiola rosea* cultivated in the north-west of Russia were established. HPTLC analysis of alcohol extracts from *Rhodiola rosea* rhizomes and roots of different phenotypes revealed both female and male samples had higher levels of secondary metabolites (phenylpropanoids and simple phenols). The height of the plants ranged from 23 to 41 cm.

Keywords: *Rhodiola rosea*, phenotypes, HPTLC

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. Evgenia V. Babushkina – procurement of raw materials, methodological assistance. Natalia A. Dudetskaya – experiment execution, methodological assistance. Elena V. Zhokhova – methodological assistance, discussion of results. Aidar A. Latypov – preparation of alcohol extracts. Natalya R. Lutseva – procurement of raw materials, preparation of alcohol extracts. Nelli V. Sklyarevskaya – procurement of raw materials, experiment execution, and interpretation of results. Maria N. Povydysh provided methodological assistance and discussed the results.Aleksey V. Klemper – procurement of raw materials, methodological assistance. Nelli V. Sklyarevskaya, Maria N. Povydysh, Elena V. Zhokhova and Natalia A. Dudetskaya drafted the manuscript. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Babushkina E. V., Dudetskaya N. A., Zhokhova E. V., Latypov A. A., Lutseva N. R., Klemper A. V., Povydysh M. N., Sklyarevskaya N. V. Morphological and chemical variability of phenotypes of *Rhodiola rosea* cultivated in north-west Russia. *Drug development & registration*. 2025;14(4):51–59. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2193

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос об эффективных адаптогенных средствах растительного происхождения остается актуальным. В качестве адаптогенного средства официнальная медицина рекомендует к применению корневища и корни родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.). За фармакологическую активность отвечает разнообразный набор вторичных метаболитов, основными из которых являются фенилпропаноиды (розавин, розарин, розин), простые фенолы (тирозол, салидрозид), каротиноиды [1–10]. Вид имеет широкий евразийский аркто-высокогорный ареал, широко распространен в России, арктической и горной Европе, Монголии, Китае и Северной Америке. На территории России основным центром распространения родиолы розовой являются горы Южной Сибири: Алтай, Кузнецкий Алатау, Западные и Восточные Саяны, горы Тувы. Оптимальными местообитаниями родиолы служат долины ручьев и рек, влажные высокогорные луга [11]. В зависимости от мест и условий обитания у родиолы розовой в значительных пределах изменяются такие фенотипические признаки, как высота побегов, форма, размеры и цвет листьев, количество цветков, мощность корневой системы. Химический состав растения, включающий первичные и вторичные метаболиты, является итогом реализации генотипа и частью проявления фенотипа [12]. Выявление фенотипа, наиболее перспективного для промышленного культивирования, является актуальной задачей в связи с сокращением популяции *R. rosea* на территории Российской Федерации.

Цель исследования – установить морфометрические характеристики различных фенотипов родиолы розовой, культивируемой на северо-западе России и провести сравнительный анализ вторичных метаболитов в образцах подземных органов родиолы розовой разных фенотипов с использованием высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись 24 образца корневищ и корней родиолы розовой разных фенотипов (таблица 1). Образцы родиолы розовой были выращены в открытом грунте из семян, полученных из Финляндии, Германии, Норвегии, Италии. Подземные органы *R. rosea* заготовлены в фазы цветения – плодоношения на седьмой год жизни растений в 2024 г. в питомнике лекарственных растений СПХФУ.

Образцы корневищ и корней родиолы розовой сушили при 70 °С методом инфракрасной сушки. Влажность сырья составляла от 5,97 до 7,20 %. Высушенное сырье измельчали на электрорезке ТУ 37-53, тип 622-1-М, просеивали через сито с отверстиями диаметром 0,25 мм. Извлечения из сырья с использованием в качестве экстрагента спирта этилового 70%-го получали по методике Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания с применением ультразвуковой ванны «Сапфир-4,0-ТТЦ» (Россия)[1].

ВЭТСХ-анализ выполняли на приборе CAMAG (Швей-цария) с использованием пластин MERCK HPTLC plates silica gel 60 F 254 размером 20 × 10 см. Образцы наносили на пластины методом распыления в виде полос длиной 8 мм с отступом справа 20 мм и 8 мм от нижнего края с помощью полуавтоматического аппликатора Linomat 5. Элюирование проводили в вертикальной автоматической камере с двумя желобками Twin Trough Chamber CAMAG ADC 2 с насыщением 20 мин (с фильтровальной бумагой). Изображения получали с помощью CAMAG TLC Visualizer 2. Сканирующую денситометрию проводили на спектроденситометре CAMAG Scanner 3. Обработ-

[1] Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. ФС.2.5.0036.15 «Родиолы розовой корневища и корни». Доступно по: https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/1201/ Ссылка активна на 16.09.2025.

ку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения VisionCATS [13–16].

Извлечения наносили на пластинки для ВЭТСХ Merck HPTLC plates Silica gel 60 F 254 по 20–30 мкл с помощью полуавтоматического аппликатора. Параллельно наносили растворы стандартных образцов салидрозида по 12 (рисунок 1) и 20 мкл (рисунок 2) (концентрация 1,00 мг/мл, содержание не менее 98 %, Sigma Aldrich, США), тирозола по 12 (см. рисунок 1) и 20 мкл (см. рисунок 2) (концентрация 1,08 мг/мл, содержание не менее 98 %, Sigma Aldrich, США) и розарина по 5 (см. рисунок 2) и 12 мкл (см. рисунок 1) (концентрация 1,04 мг/мл, содержание не менее 98 %, Sigma Aldrich, США). Далее пластины помещали в автоматическую камеру Twin Trough Chamber CAMAG ADC с системой растворителей хлороформ – спирт 96%-й – вода (25 : 16 : 1). Элюирование прекращалось автоматически, когда фронт растворителей достигал 85 мм от линии старта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе для характеристики фенотипов родиолы розовой проводили морфометрические исследования: измеряли длину побега, размеры, край и цвет листовой пластинки (таблица 1).

На следующем этапе проводили ВЭТСХ-анализ. После детектирования хроматограмм с помощью системы CAMAG TLC Visualizer 2 в видимом и УФ-свете при длинах волн 254 и 366 нм в различных образцах корневищ и корней родиолы розовой обнаружили от 3 до 10 зон адсорбции (см. рисунки 1 и 2). Во всех изучаемых пробах были обнаружены салидрозид и розарин (см. рисунки 1 и 2), тирозол идентифицировали в образцах 10, 15, 18, 20, 21 и 23 (см. рисунок 2).

После хроматографирования была проведена сканирующая денситометрия измерением отраженного света в режиме абсорбции при 254 и 366 нм. Сравнивали денситограммы отдельных треков меж-

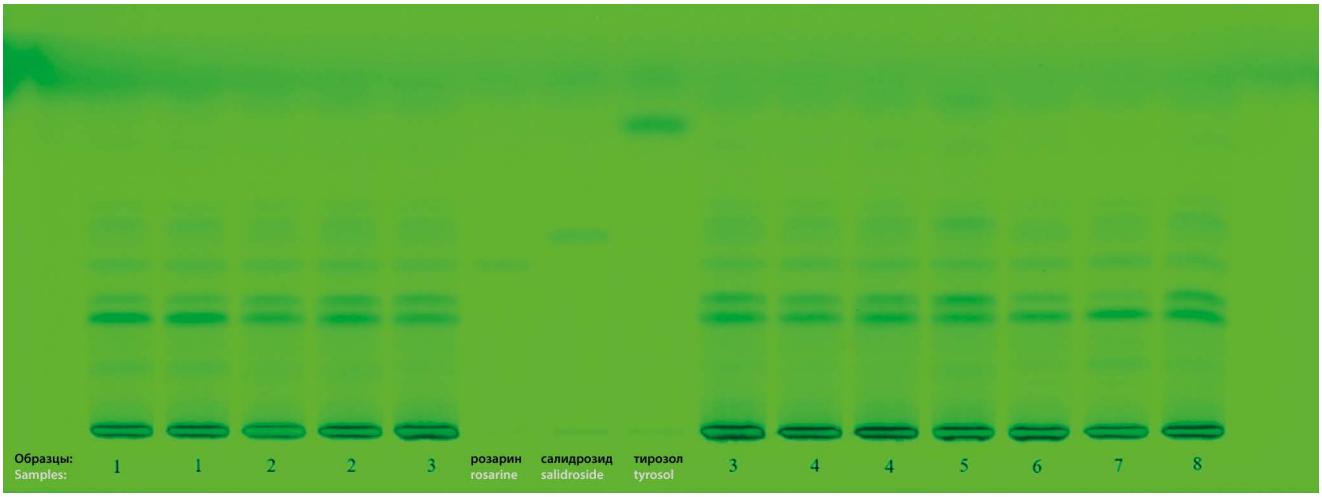


Рисунок 1. Хроматограмма образцов 1–8 (фотография при 254 нм)

Figure 1. Chromatogram of samples 1–8 (picture at 254 nm)

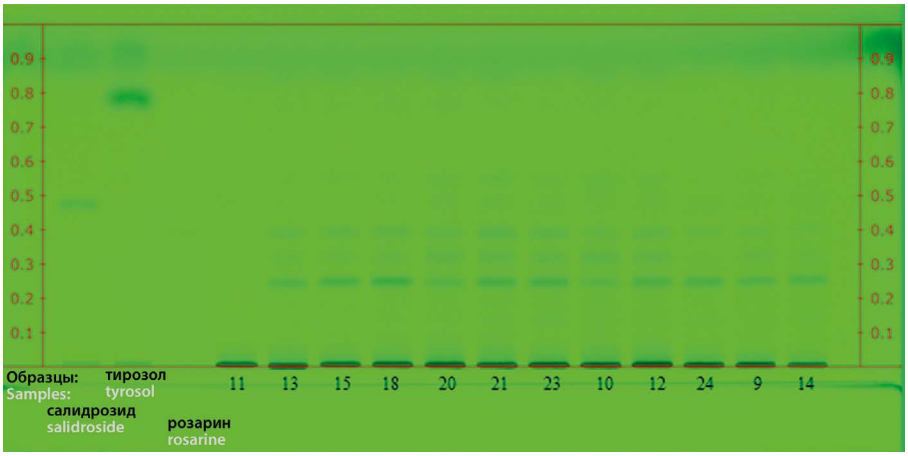


Рисунок 2. Хроматограмма образцов 9–15, 18, 20, 21, 23, 24 (фотография при 254 нм)

Figure 2. Chromatogram of samples 9–15, 18, 20, 21, 23, 24 (picture at 254 nm)

ду собой по интенсивности поглощения и количеству зон адсорбции. Большее содержание биологически активных веществ было обнаружено в женских (№ 14) и мужских (№ 12, 15, 18, 21, 23 и 24) экземплярах (рисунки 3, 4, 5). Самая высокая интенсивность поглощения и количество зон адсорбции отмечены среди объектов женского пола: образцы 1, 7 и 8 (рисунки 6, 7).

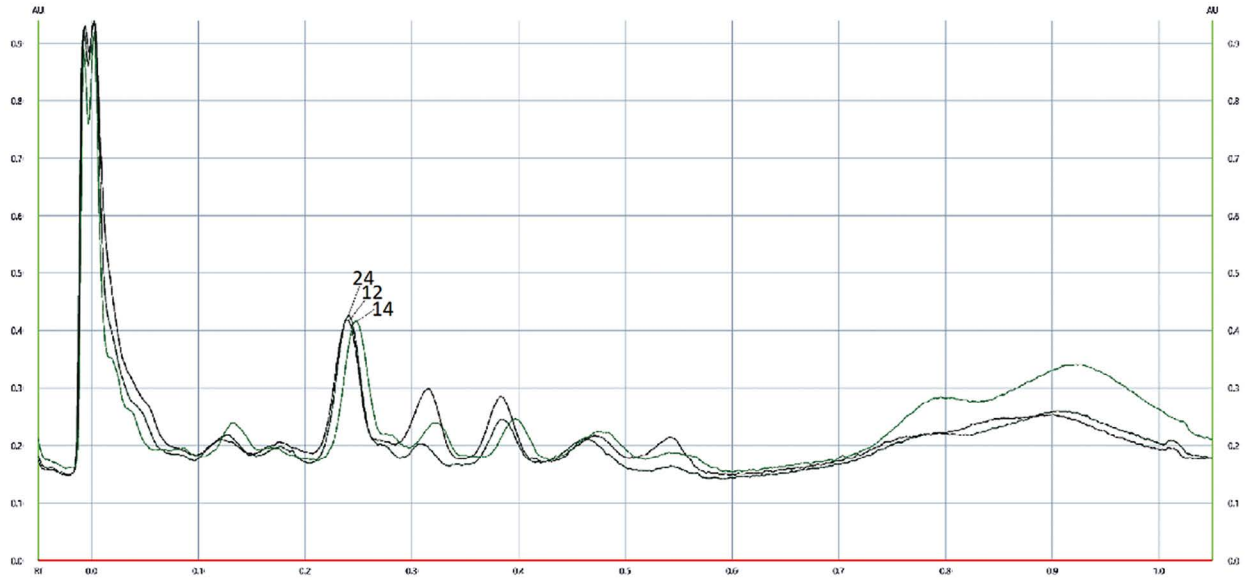


Рисунок 3. Денситограмма образцов корневищ и корней родиолы розовой № 12, 14, 24

Figure 3. Densitogram of samples rhizomes and roots of *Rhodiola rosea* № 12, 14, 24

Таблица 1. Характеристика фенотипов родиолы розовой

Table 1. Characteristics of *Rhodiola rosea* phenotypes

№ образца, пол Sample number, gender	Длина побега, см Length of the shoot, cm	Лист Leaf		
		длина, см length, cm	ширина, см width, cm	край листовой пластинки, цвет leaf blade edge, color
1. Женский 1. Female	41,0 ± 3,0	1,9 ± 0,2	0,40 ± 0,03	цельный, зеленый entire, green
2. Мужской 2. Male	31,0 ± 2,0	2,0 ± 0,2	0,50 ± 0,03	пильчатый по всей длине, зеленый serrated along the entire length, green
3. Женский 3. Female	32,0 ± 2,0	2,0 ± 0,2	0,50 ± 0,04	пильчатый по всей длине, светло-зеленый serrated along the entire length, light green
4. Женский 4. Female	18,0 ± 1,0	2,2 ± 0,2	1,00 ± 0,09	цельный, темно-зеленый, красный по краям entire, dark green, red around the edges
5. Женский 5. Female	17,0 ± 1,0	4,0 ± 0,3	1,30 ± 0,11	пильчатый ближе к верхушке, сизый serrated near the top, bluish
6. Женский 6. Female	33,0 ± 3,0	2,3 ± 0,2	0,60 ± 0,05	мелкопильчатый ближе к верхушке, зеленый finely serrated near the top, green
7. Женский 7. Female	39,0 ± 2,0	3,0 ± 0,2	0,60 ± 0,04	пильчатый ближе к верхушке, светло-зеленый serrated near the top, light green
8. Женский 8. Female	38,0 ± 2,0	2,2 ± 0,2	0,40 ± 0,03	пильчатый ближе к верхушке, зеленый serrated near the top, green
9. Женский 9. Female	54,0 ± 4,0	3,5 ± 0,3	1,00 ± 0,10	пильчатый ближе к верхушке, светло-зеленый serrated near the top, light green
10. Мужской 10. Male	29,0 ± 3,0	2,7 ± 0,2	0,90 ± 0,08	цельный или с редкими зубчиками ближе к верхушке, сизый entire or with rare teeth near the top, bluish
11. Мужской 11. Male	42,0 ± 3,0	2,9 ± 0,2	1,10 ± 0,10	цельный или с редкими зубчиками ближе к верхушке, сизый entire or with rare teeth near the top, bluish

Окончание таблицы 1

12. Мужской 12. Male	23,0 ± 2,0	2,5 ± 0,2	0,90 ± 0,08	цельный или с редкими зубчиками ближе к верхушке, сизый entire or with rare teeth near the top, bluish
13. Мужской 13. Male	40,0 ± 3,0	3,8 ± 0,3	1,00 ± 0,10	пильчатый ближе к верхушке, сизый serrated near the top, bluish
14. Женский 14. Female	34,0 ± 3,0	3,3 ± 0,3	0,85 ± 0,08	цельный или с редкими зубчиками ближе к верхушке, светло-желто-зеленый entire or with rare teeth near the top, light-yellow-green
15. Мужской 15. Male	34,0 ± 3,0	2,2 ± 0,2	0,88 ± 0,07	пильчатый ближе к верхушке, сизый serrated near the top, bluish
16. Женский 16. Female	41,0 ± 4,0	2,8 ± 0,2	0,70 ± 0,06	пильчатый ближе к верхушке, светло-желто-зеленый serrated near the top, light-yellow-green
17. Обоеполый 17. Hermaphrodite	28,0 ± 2,0	2,4 ± 0,2	0,60 ± 0,06	цельный, сизый entire, bluish
18. Мужской 18. Male	26,0 ± 2,0	2,5 ± 0,2	0,62 ± 0,06	пильчатый ближе к верхушке, светло-зеленый serrated near the top, light green
19. Женский 19. Female	33,0 ± 3,0	2,1 ± 0,2	0,67 ± 0,06	пильчатый ближе к верхушке, светло-зеленый serrated near the top, light green
20. Мужской 20. Male	30,0 ± 3,0	2,0 ± 0,2	0,71 ± 0,07	цельный, сизый entire, bluish
21. Мужской 21. Male	27,0 ± 2,0	2,5 ± 0,2	0,75 ± 0,07	цельный или с редкими зубчиками ближе к верхушке, сизый entire or with rare teeth near the top, bluish
22. Женский 22. Female	23,0 ± 2,0	1,9 ± 0,2	0,73 ± 0,07	пильчатый ближе к верхушке, светло-зеленый serrated near the top, light green
23. Мужской 23. Male	29,0 ± 2,0	2,0 ± 0,2	0,58 ± 0,05	пильчатый ближе к верхушке, сизый serrated near the top, bluish
24. Мужской 24. Male	33,0 ± 3,0	2,9 ± 0,2	0,55 ± 0,05	пильчатый ближе к верхушке, желто-зеленый serrated near the top, yellow-green

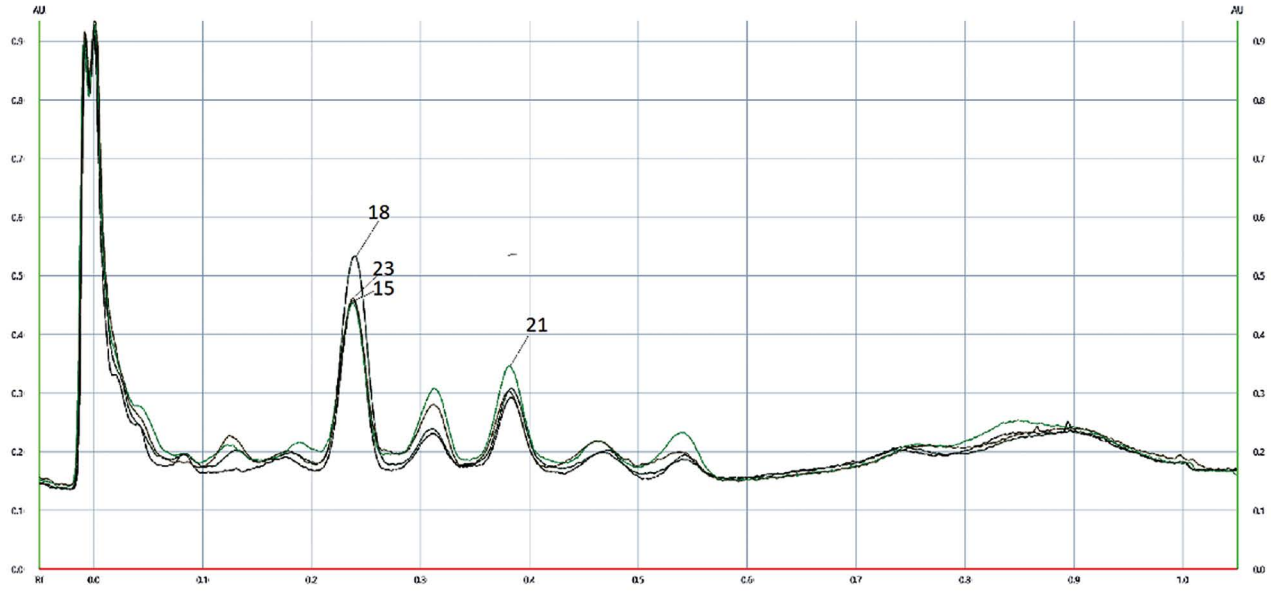


Рисунок 4. Денситограмма образцов корневищ и корней родиолы розовой № 15, 18, 21, 23

Figure 4. Densitogram of samples rhizomes and roots of *Rhodiola rosea* № 15, 18, 21, 23

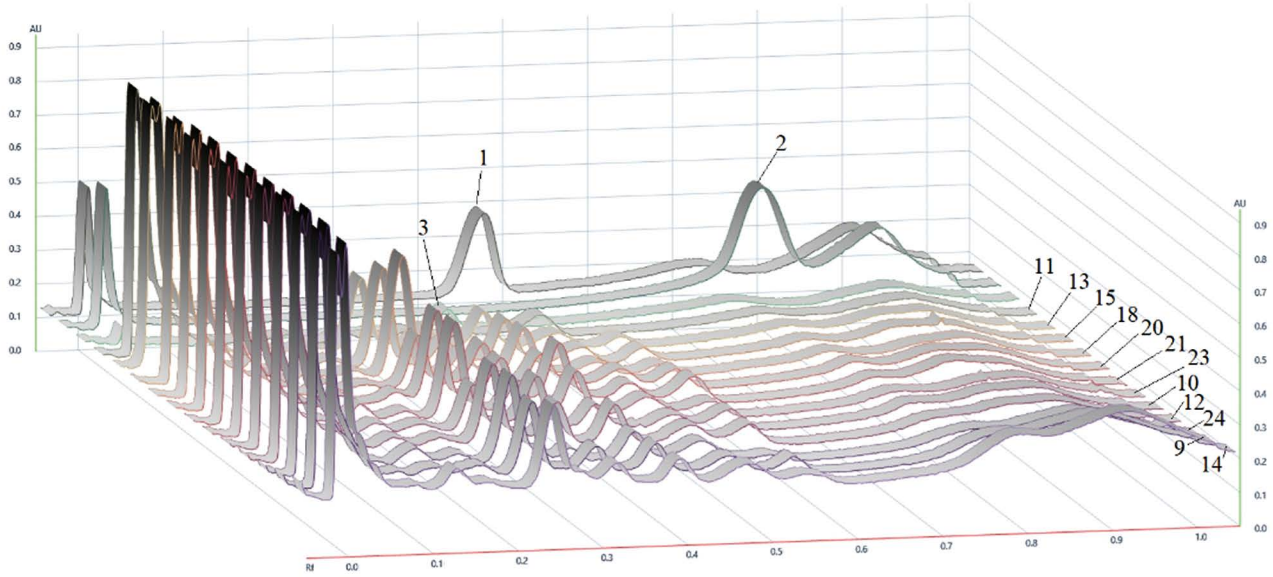


Рисунок 5. **3D-денситограмма треков стандартных образцов салидрозида (1), тирозола (2), розарина (3) и образцов корневищ и корней родиолы розовой № 9–15, 18, 20, 21, 23, 24**

Figure 5. **3D densitogram of tracks of standard samples of salidroside, tyrosol, rosarin and samples of rhizomes and roots of *Rhodiola rosea* № 9-15, 18, 20, 21, 23, 24**

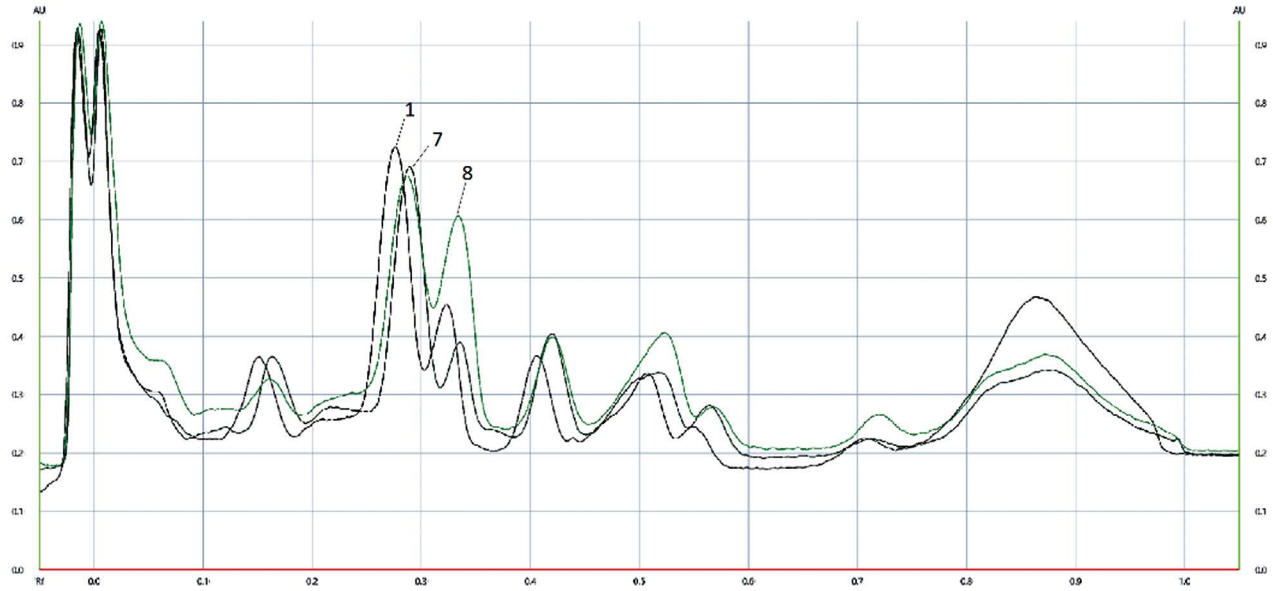


Рисунок 6. **Денситограмма образцов корневищ и корней родиолы розовой № 1, 7, 8**

Figure 6. **Densitogram of samples rhizomes and roots of *Rhodiola rosea* № 1, 7, 8**

При сравнении треков 24 образцов корневищ и корней родиолы розовой на данном этапе исследования было установлено, что перспективными для последующего изучения и культивирования среди женских экземпляров являются образцы растений № 1, 7, 8, 14 высотой от 34 до 41 см, среди мужских – образцы № 15, 18, 21, 23 и 24 высотой от 23 до 34 см.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были установлены морфометрические характеристики различных фенотипов родиолы розовой, культивируемой в условиях северо-запада России. В результате анализа спиртовых извлечений из корневищ и корней *Rhodiola rosea* методом ВЭТСХ было

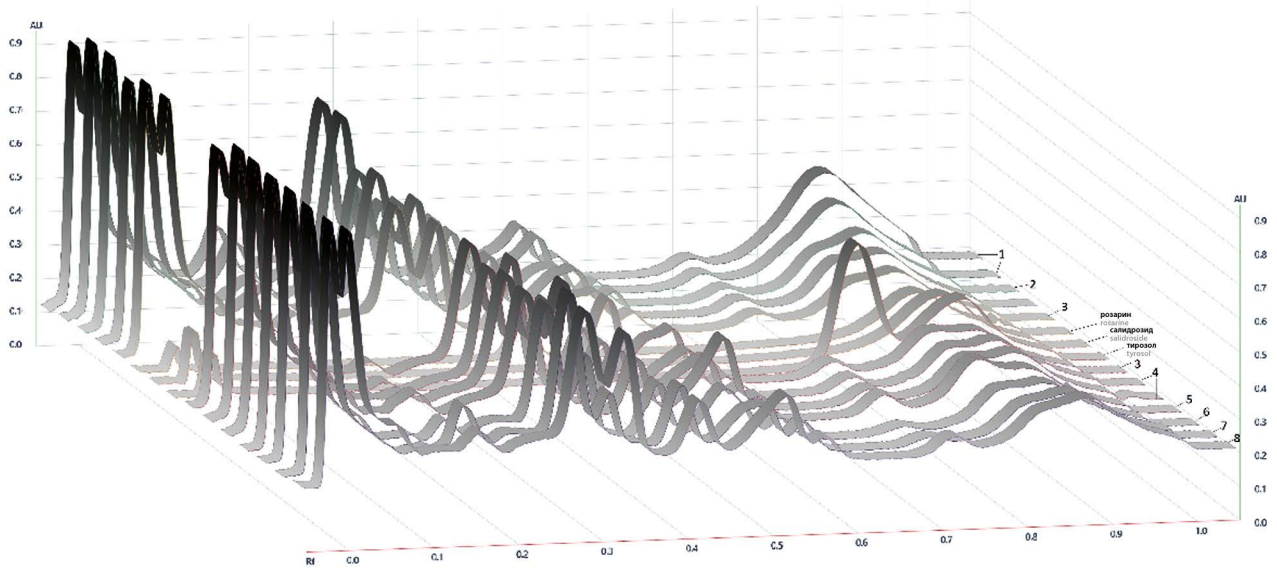


Рисунок 7. 3D-денситограмма треков стандартных образцов розарина, салидрозида, тирозола и образцов корневищ и корней родиолы розовой № 1–8

Figure 7. 3D densitogram of tracks of standard samples of rosarin, salidroside, tyrosol and samples of rhizomes and roots of *Rhodiola rosea* № 1–8

установлено, что большим содержанием вторичных метаболитов (фенилпропаноидов и простых фенолов) отличались образцы как женского, так и мужского пола. Высота растений варьировала от 23 до 41 см.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куркин В. А. Родиола розовая (золотой корень): стандартизация и создание лекарственных препаратов. 2-е изд., перераб. и доп. Самара: ООО «Офорт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России; 2020. 240 с.
2. Masi F., Chianese G., Hofstetter R. K., Cavallaro A. L., Riva A., Werz O., Taglialatela-Scafati O. Phytochemical profile and anti-inflammatory activity of a commercially available Rhodiola rosea root extract. *Fitoterapia*. 2023;166:105439. DOI: 10.1016/j.fitote.2023.105439.
3. Сергеева И. Ю., Заушинцена А. В., Брюхачев Е. Н. Фотосинтетические пигменты и фенольный потенциал родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) различных эколого-географических популяций. *Техника и технология пищевых производств*. 2020;50(3):393–403. DOI: 10.21603/2074-9414-2020-3-393-403.
4. Liu Y., Xu Sh.-Q., Mei Y., Pan J., Guan W., Li M.-M., Kuang H.-X., Yang B.-Y. Two new compounds from *Rhodiola rosea* and their anti-hypoxic activities. *Phytochemistry Letters*. 2024;60:6-9. DOI: 10.1016/j.phytol.2024.01.007.
5. Sęczyk Ł., Sugier D., Dervişoğlu G., Özdemir F. A., Kołodziej B. Phytochemical profile, in vitro bioaccessibility, and anticancer potential of golden root (Rhodiola rosea L.) extracts. *Food Chemistry*. 2023;404(Part B):134779. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.134779.
6. Elameen A., Kosman V. M., Thomsen M., Pozharitskaya I. N., Shikov A. N. Variability of Major Phenyletanes and Phenylpropanoids in 16-Year-Old *Rhodiola rosea* L. Clones in Norway. *Molecules*. 2020;25(15):3463. DOI: 10.3390/molecules25153463.
7. Amsterdam J. D., Panossian A. G. Rhodiola rosea L. as a putative botanical antidepressant. *Phytomedicine*. 2016;23(7):770–783. DOI: 10.1016/j.phymed.2016.02.009.
8. Anghelescu I.-G., Edwards D., Seifritz E., Kasper S. Stress management and the role of *Rhodiola rosea*: a review. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*. 2018;22(4):242–252. DOI: 10.1080/13651501.2017.1417442.
9. Bai X.-L., Deng X.-L., Wu G.-J., W.-J. Li, Jin S. *Rhodiola* and salidroside in the treatment of metabolic disorders. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2019;19(19):1611–1626. DOI: 10.2174/1389557519666190903115424.
10. Peschel W., Kump A., Zomborszki Z. P., Pfosser M. Phenylpropenoid content in high-altitude cultivated *Rhodiola rosea* L. provenances according to plant part, harvest season and age. *Industrial Crops and Products*. 2018;111(12):446–456. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.10.007.
11. Софронов Р. Р., Егорова А. А., Чичигинарова Ю. В. Современное состояние ценопопуляций *Rhodiola rosea* L. на хребтах Сетте-Дабан и Сунтар-Хаята (северо-восточная Якутия). *Природные ресурсы Арктики и Субарктики*. 2016;3(83):112–116.
12. Абрамчук А. В. Морфологические признаки Родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) в зависимости от плотности посадки. *Вестник биотехнологии*. 2018;2:1–7.
13. Скляревская Н. В., Алексеева Ю. С., Понкратова А. О., Жохова Е. В. Исследование корневищ и корней родиолы розовой методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):173–179. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-3-173-179.
14. Cañigueral S., Frommenwiler D., Reich E., Vila R. High performance thin-layer chromatography (HPTLC) in the quality control of herbal products. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences*. 2018;VIII:119–136.

15. Dimpfel W., Schombert L., Panossian A. G. Assessing the Quality and Potential Efficacy of Commercial Extracts of *Rhodiola rosea* L. by Analyzing the Salidroside and Rosavin Content and the Electrophysiological Activity in Hippocampal Long-Term Potentiation, a Synaptic Model of Memory. Frontiers in Pharmacology. 2018;9:425. DOI: 10.3389/fphar.2018.00425.
16. Khokhlova K, Zdoryk O. Authentication of *Rhodiola rosea*, *Rhodiola quadrifida* and *Rhodiola rosea* liquid extract from the Ukrainian market using HPTLC chromatographic profiles. *Natural Product Research*. 2020;34(19):2842–2846. DOI: 10.1080/14786419.2019.1591398.

REFERENCES

1. Kurkin V. A. *Rhodiola rosea* (golden root): standardization and development of drugs. 2nd ed., revised. and additional. Samara: LLC «Etching»; FSBEI HE Samara State Medical University of the Ministry of Health of Russia; 2020. 240 p. (In Russ.)
2. Masi F., Chianese G., Hofstetter R. K., Cavallaro A. L., Riva A., Werz O., Taglialatela-Scafati O. Phytochemical profile and anti-inflammatory activity of a commercially available Rhodiola rosea root extract. *Fitoterapia*. 2023;166:105439. DOI: 10.1016/j.fitote.2023.105439.
3. Sergeeva I. Yu., Zaushintsena A. V., Bryukhachev E. N. Photosynthetic pigments and phenolic potential of *Rhodiola rosea* L. in various ecological and geographical populations. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020;50(3):393–403. (In Russ.) DOI: 10.21603/2074-9414-2020-3-393-403.
4. Liu Y., Xu Sh.-Q., Mei Y., Pan J., Guan W., Li M.-M., Kuang H.-X., Yang B.-Y. Two new compounds from *Rhodiola rosea* and their anti-hypoxic activities. *Phytochemistry Letters*. 2024;60:6-9. DOI: 10.1016/j.phytol.2024.01.007.
5. Sęczyk Ł., Sugier D., Dervişoğlu G., Özdemir F. A., Kołodziej B. Phytochemical profile, in vitro bioaccessibility, and anticancer potential of golden root (Rhodiola rosea L.) extracts. *Food Chemistry*. 2023;404(Part B):134779. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.134779.
6. Elameen A., Kosman V. M., Thomsen M., Pozharitskaya I. N., Shikov A. N. Variability of Major Phenyletanes and Phenylpropanoids in 16-Year-Old *Rhodiola rosea* L. Clones in Norway. *Molecules*. 2020;25(15):3463. DOI: 10.3390/molecules25153463.
7. Amsterdam J. D., Panossian A. G. Rhodiola rosea L. as a putative botanical antidepressant. *Phytomedicine*. 2016;23(7):770–783. DOI: 10.1016/j.phymed.2016.02.009.
8. Anghelescu I.-G., Edwards D., Seifritz E., Kasper S. Stress management and the role of *Rhodiola rosea*: a review. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*. 2018;22(4):242–252. DOI: 10.1080/13651501.2017.1417442.
9. Bai X.-L., Deng X.-L., Wu G.-J., W.-J. Li, Jin S. *Rhodiola* and salidroside in the treatment of metabolic disorders. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2019;19(19):1611–1626. DOI: 10.2174/1389557519666190903115424.
10. Peschel W., Kump A., Zomborszki Z. P., Pfosser M. Phenylpropenoid content in high-altitude cultivated *Rhodiola rosea* L. provenances according to plant part, harvest season and age. *Industrial Crops and Products*. 2018;111(12):446–456. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.10.007.
11. Sofronov R. R., Egorova A. A., Chichiginarova Yu. V. The current state of coenopopulations of *Rhodiola rosea* L. on the Sette-Daban and Suntar-Khayata ranges (northeastern Yakutia). *Arctic and Subarctic Natural Resources*. 2016;3(83):112–116. (In Russ.)
12. Abramchuk A. V. Morphological features of *Rhodiola rosea* L. depending on planting density. *Bulletin of Biotechnology*. 2018;2:1–7. (In Russ.)
13. Sklyarevskaya N. V., Alexeeva Yu. S., Ponkratova A. O., Zhokhova E. V. Research of *Rhodiola rosea* Rhizomes and Roots Using High Performance Thin Layer Chromatography. *Drug development & registration*. 2022;11(3):173–179. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-3-173-179.
14. Cañigueral S., Frommenwiler D., Reich E., Vila R. High performance thin-layer chromatography (HPTLC) in the quality control of herbal products. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences*. 2018;VIII:119–136.
15. Dimpfel W., Schombert L., Panossian A. G. Assessing the Quality and Potential Efficacy of Commercial Extracts of *Rhodiola rosea* L. by Analyzing the Salidroside and Rosavin Content and the Electrophysiological Activity in Hippocampal Long-Term Potentiation, a Synaptic Model of Memory. Frontiers in Pharmacology. 2018;9:425. DOI: 10.3389/fphar.2018.00425.
16. Khokhlova K, Zdoryk O. Authentication of *Rhodiola rosea*, *Rhodiola quadrifida* and *Rhodiola rosea* liquid extract from the Ukrainian market using HPTLC chromatographic profiles. *Natural Product Research*. 2020;34(19):2842–2846. DOI: 10.1080/14786419.2019.1591398.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.1

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2077

Check for updates

CC BY 4.0

Изучение вопросов поддержания стабильности термочувствительных систем на основе полоксамеров при автоклавировании

Е. О. Бахрушина✉, А. М. Афонина, В. С. Пыжов, И. Б. Михел

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:** bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru

ORCID: Е. О. Бахрушина – https://orcid.org/0000-0001-8695-0346;
А. М. Афонина – https://orcid.org/0009-0009-5123-066X;
В. С. Пыжов – https://orcid.org/0000-0003-2174-7157;
И. Б. Михел – https://orcid.org/0000-0002-2866-0049.

Статья поступила: 20.04.2025 **Статья принята в печать:** 26.09.2025 **Статья опубликована:** 26.09.2025

Резюме

Введение. Парентеральные и офтальмологические *in-situ*-системы должны быть стерильными. Выбор метода стерилизации – ключевой этап в разработке стерильных стимулочувствительных систем, так как неподходящий метод может привести к разрушению гелеобразующего полимера и активной субстанции и потере активности. К сожалению, стабильность термочувствительных систем на основе полоксамеров при стерилизации, а также способы их стабилизации с помощью протективных агентов изучены недостаточно.

Цель. Целью исследования было изучение стабильности систем на основе полоксамеров при автоклавировании, а также поиск и разработка методов их защиты от негативных последствий стерилизации.

Материалы и методы. В эксперименте использовали полоксамеры Kolliphor® P 407, Kolliphor® P 188, Kolliphor® P 338, Kollisolv® P 124 компании BASF (США), эмуксол-268, проксанол-168, предоставленные компанией АО «НИОПИК» (Россия). В качестве протективных агентов были выбраны динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (ООО ПКФ «ХимАвангард», Россия) и ксилит (ООО «Компания «Сладкий мир», Россия). Образцы автоклавировали при температуре 121 °C в течение 20 мин. Оценка стабильности проводилась по показателям: внешний вид, pH, кинематическая вязкость и температура фазового перехода.

Результаты и обсуждение. Автоклавирование различных комбинаций полоксамеров оказало незначительное влияние на параметры стабильности составов. Добавление ЭДТА в высоких концентрациях приводило к увеличению вязкости, а также снижению pH и гелеобразующей способности составов. После стерилизации во всех образцах с ЭДТА наблюдалось образование осадка геля, однако в течение 5 дней исходный внешний вид составов восстанавливался. Остальные параметры оставались стабильными после автоклавирования. Добавление ксилита оказывало незначительное влияние на исходные показатели полоксамеров, и после стерилизации составы сохраняли стабильность.

Заключение. Результаты проведенных экспериментов показали, что автоклавирование – подходящий метод для стерилизации систем на основе различных комбинаций полоксамеров. Следует избегать добавления ЭДТА, особенно в высоких концентрациях, из-за негативного влияния на ключевые параметры *in-situ*-систем и риска образования осадка при автоклавировании. Ксилит не нарушает стабильность полоксамеров при стерилизации. В то же время необходимы дальнейшие исследования для оценки потенциала ЭДТА и ксилита в качестве протективных агентов для стабилизации других стимулочувствительных систем.

Ключевые слова: полоксамер, автоклавирование, *in-situ*-системы, стерилизация, ЭДТА, ксилит

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

Вклад авторов. Е. О. Бахрушина, А. М. Афонина, В. С. Пыжов разработали методологию и концепцию исследования. А. М Афонина, И. Б. Михел занимались сбором и анализом литературных данных. А. М. Афонина, Е. О. Бахрушина участвовали в написании текста статьи. Е. О. Бахрушина, А. М. Афонина занимались обработкой данных. Е. О. Бахрушина руководила работой. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

© Бахрушина Е. О., Афонина А. М., Пыжов В. С., Михел И. Б., 2025
© Bakhrushina E. O., Afonina A. M., Pyzhov V. S., Mikhel I. B., 2025

Для цитирования: Бахрушина Е. О., Афонина А. М., Пыжов В. С., Михел И. Б. Изучение вопросов поддержания стабильности термочувствительных систем на основе полоксамеров при автоклавировании. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):60–67. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2077

Study of the issues of maintaining stability of poloxamer-based systems during autoclaving

Elena O. Bakhrushina✉, Alina M. Afonina, Victor S. Pyzhov, Iosif B. Mikhel

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:** bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru

ORCID: Elena O. Bakhrushina – https://orcid.org/0000-0001-8695-0346;
Alina M. Afonina – https://orcid.org/0009-0009-5123-066X;
Victor S. Pyzhov – https://orcid.org/0000-0003-2174-7157;
Iosif B. Mikhel – https://orcid.org/0000-0002-2866-0049.

Received: 20.04.2025 **Accepted:** 26.09.2025 **Published:** 26.09.2025

Abstract

Introduction. Parenteral and ophthalmic *in situ* systems must be sterile. The selection of sterilization method is a key step in the development of sterile stimuli-sensitive systems, as an inappropriate method can lead to the degradation of the gel-forming polymer and the API, resulting in a loss of activity. Unfortunately, the stability of poloxamer-based thermosensitive systems during sterilization, as well as methods for their stabilization using protective agents, remains insufficiently studied.

Aim. The aim of the study was to investigate the stability of poloxamer-based systems during autoclaving and to develop methods for protecting them from the adverse effects of sterilization.

Materials and methods. Poloxamers used in the experiment included Kolliphor® P 407, Kolliphor® P 188, Kolliphor® P 338, and Kollisolv® P 124 (BASF, USA), as well as Emuxol-268 and Proxanol-168, provided by JSC "NIOPIK" (Russia). Disodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (LLC PCF "KhimAvangard", Russia) and xylitol ("Sladkiy Mir" LTD, Russia) were selected as protective agents. The samples were autoclaved at 121 °C for 20 minutes. Stability was evaluated based on the following parameters: appearance, pH, kinematic viscosity, and sol-gel transition temperature.

Results and discussion. Autoclaving of various combinations of poloxamers had a negligible effect on the stability parameters of the formulations. The addition of EDTA at high concentrations led to an increase in viscosity, as well as a decrease in pH and gel-forming ability of the formulations. After sterilization, gel precipitation was observed in all samples containing EDTA, but the original appearance of the formulations was restored within 5 days. The other parameters remained stable after autoclaving. The addition of xylitol had a negligible effect on the initial properties of the poloxamers, and the formulations retained stability after sterilization.

Conclusion. The results of the experiments showed that autoclaving is a suitable method for sterilization of systems based on various combinations of poloxamers. The addition of EDTA, especially at high concentrations, should be avoided due to its negative impact on the key parameters of *in situ* systems and the risk of gel precipitation during autoclaving. Xylitol does not affect the stability of poloxamers during sterilization. However, further research is needed to evaluate the potential of EDTA and xylitol as protective agents for the stabilization of other stimuli-sensitive systems.

Keywords: poloxamer, autoclaving, *in situ* systems, sterilization, EDTA, xylitol

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, Alina M. Afonina, Victor S. Pyzhov developed the concept and research methodology. Alina M. Afonina, Iosif B. Mikhel were engaged in the collection and analysis of literature data. Elena O. Bakhrushina, Alina M. Afonina participated in writing the text of the article. Elena O. Bakhrushina, Alina M. Afonina were engaged in data processing. Elena O. Bakhrushina supervised the work. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Bakhrushina E. O., Afonina A. M., Pyzhov V. S., Mikhel I. B. Study of the issues of maintaining stability of poloxamer-based systems during autoclaving. *Drug development & registration*. 2025;14(4):60–67. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2077

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы активно ведутся разработки *in-situ*-систем доставки лекарственных препаратов. Основой таких систем являются гелеобразующие полимеры, способные осуществлять фазовый переход в месте введения под действием различных физических, физико-химических или химических факторов. В качестве стимулов наиболее часто используются изменения температуры, pH и ионного состава [1, 2]. Многие авторы дополнительно выделяют также системы, способные к стимулочувствительному гелеобразованию путем инверсии фаз (фазочувствительные), активации при попадании влаги (влагоактивизируемые), фоточувствительные, а также образуемые в ходе окислительно-восстановительных реакций и в присутствии ферментов [3]. Для *in-situ*-систем возможны пероральный, буккальный, ректальный, вагинальный, цервикальный, интраназальный, парентеральный, включая интратуморальный, способы введения [1, 2, 4, 5].

Благодаря значительным преимуществам по сравнению с традиционными лекарственными формами стимулочувствительные системы обладают большими перспективами использования в офтальмологии, гинекологии, стоматологии, онкологии [1, 6–8].

Полоксамеры – одни из наиболее популярных полимеров для разработки термочувствительных *in-situ*-систем [9]. Они представляют собой триблок-сополимер поли(этиленоксид)-b-поли(пропиленоксид)-b-поли(этиленоксид) (ПЭО-ППО-ПЭО). В водной среде полоксамеры образуют мицеллы, в которых гидрофобные домены ППО, взаимодействуя друг с другом посредством ван-дер-ваальсовых сил, формируют гидрофобное ядро, а гидрофильные домены ПЭО образуют гидрофильную оболочку [10, 11]. Гелеобразование происходит в результате десольвации полимера и агрегации мицелл при температуре выше нижней критической температуры растворения (НКТР) [11, 12].

В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ) XV издания инъекционные и глазные лекарственные формы должны быть стерильными. Основная цель стерилизации – освободить лекарственное средство от живых микроорганизмов и их спор. Выбор метода стерилизации – ключевой этап в разработке стерильных *in-situ*-систем, так как неподходящий метод может привести к разрушению гелеобразующего полимера и активной фармацевтической субстанции (АФС) и потере активности [10].

Автоклавирование – высокоэффективный метод стерилизации, удобный для крупномасштабного производства [10, 13]. Однако высокие температуры могут вызывать разрывы основной цепи полимера. Образующиеся в результате этого макрорадикалы способны подвергаться деполимеризации, участвовать в меж- и внутримолекулярном переносе. Образование сшивок может происходить, если в основной цепи присутствуют двойные связи. В присутствии кислорода возможно окисление, сшивание или деградация полимера с образованием кислородсодержащих групп вдоль полимерной цепи или на концах. Также возможна гидролитическая деградация полимера в водной среде [13–15].

К сожалению, стабильность при автоклавировании термочувствительных систем на основе полоксамеров изучена недостаточно, и данные, полученные различными научными группами, расходятся между собой. Так, в работе Бурака и др., в которой гели на основе полоксамера 407 подвергали автоклавированию при 121 °C в течение 20 мин или при 105 °C в течение 30 мин, после стерилизации наблюдалось снижение вязкости, повышение температуры гелеобразования и снижение температурного коэффициента. Такие изменения связаны с деградацией полимера в результате термического воздействия в кислородсодержащей среде [14].

В другом исследовании автоклавирование гидрогеля полоксамера 407 вызвало снижение температуры гелеобразования, но не повлияло на реологические свойства составов [16].

В работе Феррейра и др. после автоклавирования геля плюроника F-127 наблюдали лишь незначительные снижения температуры и времени гелеобразования. Хотя изначально после стерилизации составы демонстрировали свойства ньютоновской жидкости, через 15 дней реологические свойства геля были восстановлены [15].

Таким образом, на сегодняшний день научное сообщество не имеет консолидированной позиции по поводу стабильности блок-сополимеров ПЭО и ППО после стерилизации автоклавированием, что, несомненно, требует дальнейшего изучения.

Один из возможных способов стабилизации *in-situ*-систем в процессе стерилизации – использование протективных агентов. ЭДТА связывает ионы 2-валентных и 3-валентных металлов, которые способствуют образованию свободных радикалов, тем самым обеспечивая защиту полимеров от окисления [17]. Добавление ЭДТА к гелю гидроксипропилметилцеллюлозы позволило минимизировать потери вязкости в процессе автоклавирования [18].

Ксилит относится к полиолам, которые обеспечивают защиту полимера от гидролиза. Они способны упорядочивать структуру воды в гидратной оболочке полимера, увеличивая количество водородных связей между молекулами воды. Это приводит к обезвоживанию молекул полимера, что делает их менее конформационно гибкими и, соответственно, более стабильными [19, 20]. В исследовании Джарри и др. полиолы продемонстрировали протективное действие по отношению к хитозану [21].

Целью исследования является оценка стабильности систем на основе полоксамеров при автоклавировании, а также поиск и разработка методов их защиты от негативных последствий стерилизации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Испытания проводились на следующих видах полоксамеров: Kolliphor® P 407 (P407), Kolliphor® P 188 (P188), Kolliphor® P 338 (P338), Kollisolv® P 124 (P124) компании BASF (США), эмуксол-268 (Э268), проксанол-168 (П168) компании АО «НИОПИК» (Россия). Составы приготовленных гелей Р1–Р6 представлены в таблице 1.

В качестве протективных агентов были использованы ксилит (ООО «Компания «Сладкий мир», Россия) и динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (ООО ПКФ «ХимАвангард», Россия), которые добавляли к системам на основе полоксамеров Р407 и Р188, а также Р407 и Э268. Составы данных гелей представлены в таблице 2.

Термочувствительные гели были изготовлены путем растворения и диспергирования компонентов в воде очищенной в стеклянном химическом стакане с помощью магнитной мешалки IKA C-MAG HS 7 digital (IKA, Германия) в течение 15 мин, после чего образцы помещали в холодильник на 24 ч (+5 °С). Все измерения проводились в течение 7 дней с момента приготовления составов, чтобы исключить возможное влияние времени хранения на реологические свойства гелей. Каждый из составов Р1–Р6 готовили в 5 повторностях, Е1–Е6 и Х1–Х6 – в 4 повторностях.

Стерилизация проводилась в автоклаве (Tuttnauer 2540 EL, Германия) при 121 °С под давлением 120 кПа в течение 20 мин.

Стабильность полученных композиций оценивалась до и после стерилизации по показателям: внешнему виду, pH, кинематической вязкости и температуре фазового перехода.

Внешний вид и прозрачность определялась путем визуального осмотра составов на белом и черном фоне.

Измерение pH проводилось с помощью pH-метра (OHAUS Starter 2100, США).

Температуру фазового перехода ($T_{фп}$) определяли при постепенном нагревании составов до 42 °С на водяной бане (ODA-MH13, Россия). Верхний предел обоснован наиболее высокой физиологической температурой человека (в норме) при воспалительных процессах (заболевании/травме). Скорость нагревания составляла 2 °С / 5 мин (1 °С / 2,5 мин). Температура, при которой образец переставал течь, регистрировалась как температура фазового перехода ($T_{фп}$).

Определение кинематической вязкости выполняли с помощью капиллярного стеклянного вискозиметра ВПЖ-2 (Россия) при температуре 25 °С в соответствии с методикой, представленной в ОФС.1.2.1.0015 «Вязкость» ГФ РФ XV. Расчет кинематической вязкости (v) в мм^2/с выполнен по формуле, указанной в паспорте прибора:

$$v = g9{,}807KT,$$

где K – постоянная вискозиметра, равная 0,3259 мм^2/с^2; T – время истечения жидкости, с; g – ускорение свободного падения в месте измерения, равное 9,80665 м/с^2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерений показателей стабильности термочувствительных систем на основе полоксамеров до и после автоклавирования представлены в таблице 3.

Таблица 1. Составы гелей на основе полоксамеров для определения стабильности при автоклавировании

Table 1. Poloxamer-based gel formulations for stability evaluation under autoclaving

Компоненты Components	Содержание компонентов в составе, г Components content, g					
	Р1	**Р2**	**Р3**	**Р4**	**Р5**	**Р6**
Р407	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
Р188		2,0				
Р338			2,0			
Р124				2,0		
Э268 E268					2,0	
П168 P168						2,0
Вода очищенная Purified water	до 100,0 ad 100,0	до 100,0 ad 100,0	до 100,0 ad 100,0	до 100,0 ad 100,0	до 100,0 ad 100,0	до 100,0 ad 100,0

Примечание. Р407 – Kolliphor® P 407; Р188 – Kolliphor® P 188; Р338 – Kolliphor® P 338; Р124 – Kollisolv® P 124; Э268 – эмуксол-268; П168 – проксанол-168.

Note. P407 – Kolliphor® P 407; P188 – Kolliphor® P 188; P338 – Kolliphor® P 338; P124 – Kollisolv® P 124; Э268 – emuxol-268; П168 – proxanol-168.

Таблица 2. Составы гелей на основе полоксамеров с добавлением протективных агентов: ЭДТА (E1–E6) и ксилита (X1–X6)

Table 2. Poloxamer-based gel formulations with the addition of protective agents: EDTA (E1–E6) and xylitol (X1–X6)

Образец Sample	Содержание компонентов, г Components content, g					
	P407	P188	Э268 E268	ЭДТА EDTA	Ксилит Xylitol	Вода очищенная Purified water
E1	18,0	2,0		0,5		до 100,0 ad 100,0
E2	18,0	2,0		1,0		до 100,0 ad 100,0
E3	18,0	2,0		3,0		до 100,0 ad 100,0
E4	18,0		2,0	0,5		до 100,0 ad 100,0
E5	18,0		2,0	1,0		до 100,0 ad 100,0
E6	18,0		2,0	3,0		до 100,0 ad 100,0
X1	18,0	2,0			0,5	до 100,0 ad 100,0
X2	18,0	2,0			1,0	до 100,0 ad 100,0
X3	18,0	2,0			3,0	до 100,0 ad 100,0
X4	18,0		2,0		0,5	до 100,0 ad 100,0
X5	18,0		2,0		1,0	до 100,0 ad 100,0
X6	18,0		2,0		3,0	до 100,0 ad 100,0

Таблица 3. Оценка параметров стабильности гелей полоксамеров P1–P6 до и после автоклавирования (*n* = 5)

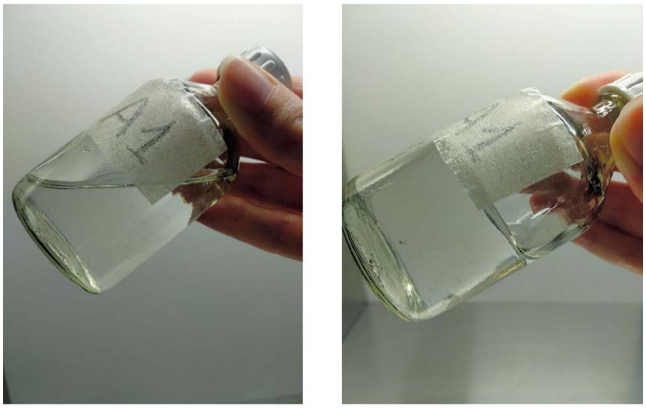
Table 3. Evaluation of stability parameters of poloxamer gels P1–P6 before and after autoclaving (*n* = 5)

Состав Formulation	Параметры стабильности до и после стерилизации Stability parameters before and after sterilization					
	pH		Вязкость, мм²/с Viscosity, mm²/s		$T_{фп}$, °C T_{phi}, °C	
	До Before	После After	До Before	После After	До Before	После After
P1	7,05 ± 0,04	7,04 ± 0,02	52,02 ± 1,17	50,15 ± 3,35	29 ± 0	29 ± 0
P2	6,91 ± 0,11	6,86 ± 0,06	45,29 ± 3,50	48,05 ± 3,81	37,4 ± 0,55	37,6 ± 0,55
P3	6,87 ± 0,08	6,81 ± 0,05	82,80 ± 11,11	83,94 ± 10,77	26,8 ± 0,45	26,8 ± 0,45
P4	6,91 ± 0,13	6,95 ± 0,14	56,34 ± 4,33	54,12 ± 2,35	30,6 ± 0,89	30,2 ± 0,45
P5	7,06 ± 0,01	7,05 ± 0,02	51,96 ± 4,26	52,31 ± 1,19	31,4 ± 0,55	31,4 ± 0,55
P6	6,98 ± 0,03	6,97 ± 0,06	50,94 ± 1,91	53,22 ± 2,17	35,8 ± 0,45	35,8 ± 0,45

Вязкость является одним из важнейших показателей, характеризующих изменение структуры и свойств полимера после стерилизации. Деградация полимера, возникающая в процессе автоклавирования, как правило, сопровождается снижением вязкости геля [14]. Автоклавирование оказало незначительное влияние на кинематическую вязкость составов, изменения показателей после стерилизации не превышают 10 %.

Изменение температуры гелеобразования после стерилизации может привести к потере *in-situ*-системой ключевого свойства – способности превращаться в гель в месте введения [22]. Отсутствие значительных изменений в $T_{фп}$ после автоклавирования говорит о сохранении термочувствительных свойств составов.

Автоклавирование также оказало незначительное влияние на pH изучаемых композиций, изменений во внешнем виде составов не наблюдалось (рисунок 1).



А
A

Б
B

Рисунок 1. Внешний вид геля P1 до (А) и после (Б) стерилизации

Figure 1. Appearance of gel P1 before (A) and after (B) sterilization

После автоклавирования во всех составах с ЭДТА наблюдался синерезис (рисунок 2), однако через 5 дней первоначальный внешний вид составов восстановился.

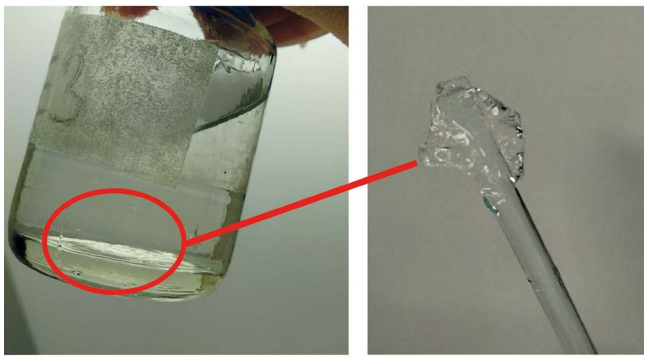


Рисунок 2. Внешний вид образцов, претерпевших обратимый синерезис после автоклавирования

Figure 2. Appearance of samples that have undergone reversible syneresis after autoclaving

Добавление ЭДТА вызвало значительное снижение pH, пропорциональное концентрации ЭДТА, что связано с наличием карбоксильных групп в структуре молекулы (таблица 4).

У гелей с высокой концентрацией ЭДТА (3 %) наблюдалось увеличение вязкости (с 45,29 ± 3,50 для P2 до 57,27 ± 2,98 для E3 – увеличение на 26,45 %; с 51,96 ± 4,26 для P5 до 69,61 ± 4,55 для E6 – увеличение на 33,97 %). При этом снижалась гелеобразующая способность составов: образование геля не наблюдалось при постепенном нагревании составов до 42 °C. По-видимому, под действием ЭДТА происходит снижение сольватации молекул полимера, что способствует взаимодействию гидрофобных доменов ППО и образованию мицелл. Однако дальнейшая агрегация мицелл с образованием геля затруднена из-за снижения взаимодействий между гидрофильными элементами короны мицелл [23].

Обратимый синерезис – характерное явление для гидрогелей, он может быть спровоцирован высокой температурой автоклавирования. После полного остывания уплотненная структура геля полностью восстанавливается в занимаемом объеме, связывая дисперсионную среду, что отмечается визуально [24]. При этом необходимо отметить, что в литературе подробно не описаны случаи синерезиса сополимеров ПЭО и ППО, – таким образом, этот вопрос, безусловно, требует дальнейшего изучения [25, 26]. Автоклавирование оказало незначительное влияние на pH, вязкость и $T_{\text{золь-гель}}$ составов.

В отличие от ЭДТА значения параметров полоксамеров с различными концентрациями ксилита незначительно отличались от тех, что не содержали данный протективный агент. Составы остались стабильными после автоклавирования (таблица 5).

Таблица 4. Оценка параметров стабильности гелей полоксамеров с добавлением протективного агента ЭДТА (E1–E6) до и после автоклавирования (n = 4)

Table 4. Evaluation of the stability parameters of poloxamer gels with the addition of the protective agent EDTA (E1–E6) before and after autoclaving (n = 4)

Состав Formulation	Параметры стабильности до и после стерилизации Stability parameters before and after sterilization					
	pH		Вязкость, мм²/с Viscosity, mm²/s		$T_{фп}$, °C T_{phi}, °C	
	До Before	После After	До Before	После After	До Before	После After
E1	5,14 ± 0,03	5,16 ± 0,08	43,16 ± 3,22	47,43 ± 2,8	38,25 ± 0,5	38 ± 0,1
E2	4,76 ± 0,05	4,81 ± 0,07	53,69 ± 3,60	53,40 ± 5,64	38,5 ± 1,0	38,25 ± 0,5
E3	4,50 ± 0,04	4,51 ± 0,02	57,27 ± 2,98	52,73 ± 2,47	–	–
E4	5,00 ± 0,1	4,96 ± 0,04	42,01 ± 0,49	44,25 ± 4,37	32,5 ± 0,58	31,75 ± 0,5
E5	4,73 ± 0,04	4,61 ± 0,12	49,20 ± 4,93	47,48 ± 1,19	33,25 ± 0,5	33,5 ± 0,5
E6	4,52 ± 0,04	4,41 ± 0,04	69,61 ± 4,55	71,53 ± 4,31	–	–

Таблица 5. Оценка параметров стабильности гелей полоксамеров с добавлением протективного агента ксилита (X1–X6) до и после автоклавирования (n = 4)

Table 5. Evaluation of the stability parameters of poloxamer gels with the addition of the protective agent xylitol (X1–X6) before and after autoclaving (n = 4)

Состав Formulation	Параметры стабильности до и после стерилизации Stability parameters before and after sterilization					
	pH		Вязкость, мм²/с Viscosity, mm²/s		$T_{фп}$, °C T_{phi}, °C	
	До Before	После After	До Before	После After	До Before	После After
X1	6,98 ± 0,15	6,94 ± 0,15	42,86 ± 1,11	43,16 ± 4,30	37,25 ± 0,96	37 ± 0
X2	6,94 ± 0,15	7,07 ± 0,09	43,04 ± 3,67	44,26 ± 1,26	37,25 ± 0,5	38 ± 0,82
X3	7,02 ± 0,07	7,02 ± 0,05	48,23 ± 2,65	42,78 ± 2,81	37,75 ± 0,96	38,25 ± 0,96
X4	7,05 ± 0,12	7,00 ± 0,11	51,19 ± 3,17	49,40 ± 6,79	31,75 ± 0,96	31,25 ± 0,96
X5	7,06 ± 0,09	7,00 ± 0,09	48,14 ± 2,71	49,39 ± 3,26	32 ± 0,6	31,5 ± 0,58
X6	6,98 ± 0,05	6,9 ± 0,06	56,9 ± 5,88	60,17 ± 2,83	31,75 ± 0,5	31,5 ± 1

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных экспериментов была изучена стабильность термочувствительных систем на основе различных типов полоксамеров при автоклавировании. Результаты измерения основных скрининговых параметров – внешнего вида, pH, температуры фазового перехода, кинематической вязкости – продемонстрировали отсутствие значительных изменений в ходе стерилизации. Из этого можно сделать вывод, что автоклавирование – подходящий метод для стерилизации *in-situ*-систем на основе полоксамеров.

Добавление ЭДТА в высоких концентрациях негативно влияет на ключевые параметры *in-situ*-гелей, приводя к потере термочувствительности, а также повышению вязкости. При разработке стимулочувствительных составов с ЭДТА важно избегать использования его в больших концентрациях, а также учитывать риск образования осадка в процессе стерилизации.

Добавление ксилита не нарушает стабильность систем на основе полоксамеров при автоклавировании. С учетом стабильности полоксамеров при стерилизации без использования протективных агентов необходимо провести дальнейшие исследования, направленные на изучение возможности применения ЭДТА и ксилита для стабилизации других стимулочувствительных полимеров.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kolawole O. M., Cook M. T. In situ gelling drug delivery systems for topical drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2023;184:36–49. DOI: 10.1016/j.ejpb.2023.01.007.
2. Gupta C., Juyal V., Nagaich U. Formulation, optimization, and evaluation of in-situ gel of moxifloxacin hydrochloride for ophthalmic drug delivery. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019;11(4):147–158. DOI: 10.22159/ijap.2019v11i4.30388.
3. Bakhrushina E. O., Mikhel I. B., Buraya L. M., Moiseev E. D., Zubareva I. M., Belyatskaya A. V., Evzikov G. Y., Bondarenko A. P., Krasnyuk Jr. I. I., Krasnyuk I. I. Implantation of in situ gelling systems for the delivery of chemotherapeutic agents. *Gels*. 2024;10(1):44. DOI: 10.3390/gels10010044.
4. Kumbhar A. B., Rakde A. K., Chaudhari P. D. In situ gel forming injectable drug delivery system. *International Journal of Pharmarmaceutical Sciences and Research*. 2013;4(2):597–609. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.4(2).597-09.
5. 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. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):54–63. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63. [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. *Drug development & registration*. 2021;10(4):54–63. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63.]
6. Shaaban O. M., Fetih G. N., Abdellah N. H., Ismail S., Ibrahim M. A., Ibrahim E. A. Pilot randomized trial for treatment of bacterial vaginosis using *in situ* forming metronidazole vaginal gel. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2011;37(7):874–881. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2010.01457.x.
7. Ruan H., Yu Y., Guo X., Jiang Q., Luo Y. The possibility of healing alveolar bone defects with simvastatin thermosensitive gel: in vitro/in vivo evaluation. *Drug Design, Development and Therapy*. 2018;12:1997–2003. DOI: 10.2147/DDDT.S163986.
8. Fakhari A., Subramony J. A. Engineered in-situ depot-forming hydrogels for intratumoral drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2015;220:465–475. DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.11.014.
9. Venkatesh M. P., Kumar T. P., Pai D. R. Targeted drug delivery of methotrexate in situ gels for the treatment of rheumatoid arthritis. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2020;28(12):1548–1557. DOI: 10.1016/j.jsps.2020.10.003.
10. Asasutjarit R., Thanasanchokpibull S., Fuongfuchat A., Veeranondha S. Optimization and evaluation of thermoresponsive diclofenac sodium ophthalmic in situ gels. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011;411(1–2):128–135. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2011.03.054.

11. Soliman K. A., Ullah K., Shah A., Jones D. S., Singh T. R. R. Poloxamer-based in situ gelling thermoresponsive systems for ocular drug delivery applications. *Drug Discovery Today*. 2019;24(8):1575–1586. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.05.036.
12. 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;14:507–515. DOI: 10.1080/10717540701606426.
13. Memisoglu-Bilensoy E., Hincal A. A. Sterile, injectable cyclodextrin nanoparticles: effects of gamma irradiation and autoclaving. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;311(1–2):203–208. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.12.013.
14. Burak J., Grela K. P., Pluta J., Karolewicz B., Marciniak D. M. Impact of sterilisation conditions on the rheological properties of thermoresponsive pluronic F-127-based gels for the ophthalmic use. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*. 2018;75(2):471–481. DOI: 10.32383/appdr/146102.
15. Ferreira I., Marques A. C., Cardoso Costa P., Amaral M. H. Effects of steam sterilization on the properties of stimuli-responsive polymer-based hydrogels. *Gels*. 2023;9(5):385. DOI: 10.3390/gels9050385.
16. Beard M. C., Cobb L. H., Grant C. S., Varadarajan A., Henry T., Swanson E. A., Kundu S., Priddy L. B. Autoclaving of Poloxamer 407 hydrogel and its use as a drug delivery vehicle. *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*. 2021;109(3):338–347. DOI: 10.1002/jbm.b.34703.
17. Basumallick L., Ji J. A., Naber N., Wang Y. J. The fate of free radicals in a cellulose based hydrogel: detection by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009;98:2464–2471. DOI: 10.1002/jps.21632.
18. Ji J. A., Ingham E., Wang J. Y. Effect of EDTA and methionine on preventing loss of viscosity of cellulose-based topical gel. *AAPS PharmSciTech*. 2009;10(2):678–683. DOI: 10.1208/s12249-009-9258-6.
19. Liu F. F., Ji L., Zhang L., Dong X. Y., Sun Y. Molecular basis for polyol-induced protein stability revealed by molecular dynamics simulations. *The Journal of chemical physics*. 2010;132(22):225103. DOI: 10.1063/1.3453713.
20. Kumar V., Singh S. N., Kalonia D. S. Mechanism of stabilization of proteins by poly-hydroxy co-solvents: concepts and implications in formulation development. *American Pharmaceutical Review*. 2012;15(3):05–10.
21. Jarry C., Leroux J. C., Haeck J., Chaput C. Irradiating or autoclaving chitosan/polyol solutions: effect on thermogelling chitosan-β-glycerophosphate systems. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2002;50(10):1335–1340. DOI: 10.1248/cpb.50.1335.
22. Bakhrushina E. O., Afonina A. M., Mikhel I. B., Demina N. B., Plakhotnaya O. N., Belyatskaya A. V., Krasnyuk I. I., Jr., Krasnyuk I. I. Role of sterilization on in situ gel-forming polymer stability. *Polymers*. 2024;16(20):2943. DOI: 10.3390/polym16202943.
23. 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.
24. Yilmazer S., Schwaller D., Mésini P. J. Beyond Sol-Gel: Molecular Gels with Different Transitions. *Gels*. 2023;9(4):273. DOI: 10.3390/gels9040273.
25. Rao M. R., Gaikwad P., Misal P., Gandhi S. V. Phyto-cosmeceutical gel containing curcumin and quercetin loaded mixed micelles for improved anti-oxidant and photoprotective activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2024;237:113837. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2024.113837.
26. Rao M. R., Deshpande S., Deshpande P. Dapsone-Loaded Mixed Micellar Gel for Treatment OF Acne Vulgaris. *AAPS PharmSciTech*. 2023;24(5):109. DOI: 10.1208/s12249-023-02564-1.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.07

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2126

Check for updates

CC BY 4.0

Реологическое изучение инъекционных жидких имплантатов

Е. О. Бахрушина[1]✉, А. И. Заренкова[1], О. В. Кытько[1], Е. И. Карпова[2], И. А. Мяделец[3], Ю. Л. Васильев[1]

[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 автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации [ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет)]. 117997, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

[3] Общество с ограниченной ответственностью «Медалл Эстетика». 197110, Россия, г. Санкт-Петербург, Левашовский пр-т, д. 24, литера А, пом. 1Н

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

ORCID: Е. О. Бахрушина – https://orcid.org/0000-0001-8695-0346;
А. И. Заренкова – https://orcid.org/0009-0006-4661-0607;
О. В. Кытько – https://orcid.org/0000-0001-5472-415X;
Е. И. Карпова – https://orcid.org/0000-0003-0510-1022;
И. А. Мяделец – https://orcid.org/0009-0002-4891-5659;
Ю. Л. Васильев – https://orcid.org/0000-0003-3541-6068.

Статья поступила: 18.06.2025 **Статья принята в печать:** 02.10.2025 **Статья опубликована:** 03.10.2025

Резюме

Введение. Гиалуроновая кислота (ГК) – это полисахарид, относящийся к гликозаминогликанам. Благодаря высокой биосовместимости и способности удерживать влагу ГК широко применяется в косметологии и медицине. Популярность гелей на основе ГК растет, особенно в инъекционной косметологии для коррекции возрастных изменений, составляя значительную часть эстетических процедур. В результате ухода иностранных производителей с рынка России появилась необходимость разработки отечественных аналогов. Исследование реологических свойств гелей помогает оптимизировать составы для медицинского применения, обеспечивая эффективность и безопасность новых продуктов.

Цель. Изучить, как концентрация ГК и вспомогательные компоненты влияют на реологические свойства гелей. Также исследование направлено на выявление связи этих свойств с клинической эффективностью.

Материалы и методы. Объекты исследования: филлеры линеек Stylage® – Stylage® HydroMax, Stylage® L, Stylage® L lidocaine, Stylage® XL, Stylage® XL lidocaine, Repart® Ġ – Repart G Normal, Repart G Deep. Образцы исследовали методом ротационной вискозиметрии.

Результаты и обсуждение. Была установлена взаимосвязь между клиническими характеристиками жидких имплантов и их реологическими свойствами. В ходе проведенных исследований определены следующие оптимальные диапазоны: мукоадгезия – от 100 до 200 Па, пластическая вязкость – от 0,2 до 1,0 Па · с при скорости сдвига 0–100 $с^{-1}$ и при температуре 25 ± 1 °С, предел текучести – от 50 до 150 Па при скорости сдвига 0–100 $с^{-1}$ и при температуре 25 ± 1 °С, тиксотропность – полная.

Заключение. В результате исследование показало, что вязкость важна для инъекционного введения и распределения препарата в тканях. Высокая мукоадгезия в гинекологии и урологии определяет фиксацию имплантата в тканях. Однако чрезмерная мукоадгезивность может вызывать образование подкожных агломератов, что ограничивает использование таких средств на лице. Связь предела текучести с качественными характеристиками имплантов не была установлена.

Ключевые слова: гиалуроновая кислота, реология, жидкие кожные имплантаты, мукоадгезия, пластическая вязкость, предел текучести, тиксотропность

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

Вклад авторов. Ю. Л. Васильев, О. В. Кытько, Е. И. Карпова, И. А. Мяделец – постановка задачи, составление плана экспериментальных работ. Е. О. Бахрушина – разработка дизайна эксперимента. А. И. Заренкова – измерение реологических характеристик образцов. Е. О. Бахрушина, А. И. Заренкова – интерпретация и визуализация данных вискозиметрии.

© Бахрушина Е. О., Заренкова А. И., Кытько О. В., Карпова Е. И., Мяделец И. А., Васильев Ю. Л., 2025
© Bakhrushina E. O., Zarenkova A. I., Kytko O. V., Karpova E. I., Myadelets I. A., Vasiliev Yu. L., 2025

Ю. Л. Васильев, О. В. Кытько, Е. И. Карпова, И. А. Мяделец – предоставление экспериментальных образцов, характеристика их клинических свойств. Е. О. Бахрушина, А. И. Заренкова, Ю. Л. Васильев – обсуждение результатов, написание текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Бахрушина Е. О., Заренкова А. И., Кытько О. В., Карпова Е. И., Мяделец И. А., Васильев Ю. Л. Реологическое изучение инъекционных жидких имплантатов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):68–78. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2126

Rheological study of injectable liquid implants

Elena O. Bakhrushina[1]✉, Anastasia I. Zarenkova[1], Olesya V. Kytko[1], Elena I. Karpova[2], Irina A. Myadelets[3], Yuriy L. Vasiliev[1]

[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] Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «N. I. Pirogov Russian National Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation (FSAEI HE N. I. Pirogov RNRMU MOH Russia). 1, Ostrovityanova str., Moscow, 117997, Russia
[3] Limited Liability Company "Medall Estetika". Room 1N, 24A, Saint-Petersburg, Levashovsky prospekt, , 197110, Russia

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

ORCID: Elena O. Bakhrushina – https://orcid.org/0000-0001-8695-0346;
Anastasia I. Zarenkova – https://orcid.org/0009-0006-4661-0607;
Olesya V. Kytko – https://orcid.org/0000-0001-5472-415X;
Elena I. Karpova – https://orcid.org/0000-0003-0510-1022;
Irina A. Myadelets – https://orcid.org/0009-0002-4891-5659;
Yuriy L. Vasiliev – https://orcid.org/0000-0003-3541-6068.

Received: 18.06.2025 **Accepted:** 02.10.2025 **Published:** 03.10.2025

Abstract

Introduction. Hyaluronic acid (HA) is a polysaccharide belonging to glycosaminoglycans. Due to its high biocompatibility and ability to retain moisture, HA is widely used in cosmetology and medicine. The popularity of HA-based gels is growing, especially in injection cosmetology for the correction of age-related changes, making up a significant part of aesthetic procedures. As a result of the departure of foreign manufacturers from the Russian market, there is a need to develop domestic analogues. The study of the rheological properties of gels helps to optimize formulations for medical use, ensuring the effectiveness and safety of new products.

Aim. To study how the concentration of HA and excipients affect the rheological properties of gels. The study is also aimed at identifying the relationship between these properties and clinical effectiveness.

Materials and methods. Objects of study: fillers of the Stylage® line – Stylage® HydroMax, Stylage® L, Stylage® L lidocaine, Stylage® XL, Stylage® XL lidocaine, and Repart® G line – Repart G Normal, Repart G Deep. The samples were examined by rotational viscometry.

Results and discussion. We established a relationship between the clinical characteristics of liquid implants and their rheological properties. In the course of the studies, we determined the following optimal ranges: mucoadhesion – from 100 to 200 Pa, plastic viscosity – from 0,2 to 1,0 Pa · s at a shear rate of 0–100 s^{-1} at a temperature of 25 ± 1 °C, flow stress – from 50 to 150 Pa at a shear rate of 0–100 s^{-1} at a temperature of 25 ± 1 °C, thixotropy – complete.

Conclusion. As a result, the study showed that viscosity is important for injection and distribution of the drug in tissues. High mucoadhesion in gynecology and urology determines the fixation of the implant in the tissues. However, excessive mucoadhesion can cause the formation of subcutaneous agglomerates, which limits the use of such products on the face. The relationship between the flow stress and the quality characteristics of the implants was not established.

Keywords: hyaluronic acid, rheology, liquid implants, mucoadhesion, plastic viscosity, flow stress, thixotropy

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 L. Vasiliev, Olesya V. Kytko, Elena I. Karpova, Irina A. Myadelets – formulation of the problem, preparation of the experimental plan. Elena O. Bakhrushina – development of the experimental design. Anastasia I. Zarenkova – measurement of rheological characteristics of the samples. Elena O. Bakhrushina, Anastasia I. Zarenkova – interpretation and visualization of viscometry data. Yuriy L. Vasiliev, Olesya V. Kytko, Elena I. Karpova, Irina A. Myadelets – provision of experimental samples, characterization of their clinical properties. Elena O. Bakhrushina, Anastasia I. Zarenkova, Yuriy L. Vasiliev – discussion of the results, writing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Bakhrushina E. O., Zarenkova A. I., Kytko O. V., Karpova E. I., Myadelets I. A., Vasiliev Yu. L. Rheological study of injectable liquid implants. *Drug development & registration*. 2025;14(4):68–78. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2126

ВВЕДЕНИЕ

Гиалуроновая кислота (ГК) – это полисахарид, относящийся к гликозаминогликанам (ГАГ), состоящий из повторяющихся дисахаридных единиц из N-ацетилглюкозамина и D-глюкуроновой кислоты. Молекулярная масса ГК колеблется от 10^5 до 10^7 Дальтон (Да), в то время как другие ГАГ имеют гораздо более низкую молекулярную массу. Средняя молекулярная масса ГК может влиять на ее физико-химические свойства, что важно учитывать при использовании ее в разработке новых продуктов [1–3].

В биологических системах гиалуроновая кислота играет важную роль благодаря своим уникальным свойствам, таким как высокая биосовместимость и способность удерживать влагу. Традиционно ГК получали из птичьих гребней, а именно куриных. Однако такая ГК может вызывать аллергические реакции из-за наличия в ней животных примесей и поэтому все меньше используется. Современные методы все чаще прибегают к биотехнологическому процессу ферментации с помощью бактерий, таких как *Staphylococcus equi*, что позволяет уменьшить риски возникновения иммунных реакций при использовании такой ГК [4].

В последние годы интерес к гиалуроновой кислоте значительно возрос в различных областях, включая косметологию, медицину и фармацевтику [5]. Гели на основе гиалуроновой кислоты находят широкое применение в инъекционной косметологии, дерматологии и офтальмологии, что обусловлено их способностью эффективно восстанавливать объемы тканей и улучшать гидратацию кожи [6]. В результате более глубокого изучения процессов старения лица и увеличения количества различных жидких имплантов (филлеров) для мягких тканей, доступных на рынке, использование кожных наполнителей изменилось. Инъекции для коррекции возрастных дефектов на лице стали использоваться не только для поверхностных мягких тканей, таких как кожа и подкожно-жировая клетчатка, но и для глубоких анатомических слоев лица и других частей тела. Так, инъекции филлеров на основе ГК – одна из самых популярных эстетических процедур во всем мире для увеличения объема лица и коррекции морщин. По данным Международного общества эстетической пластической хирургии (ISAPS), в 2023 году было проведено почти 35 миллионов эстетических процедур. Более половины всех процедур были неинвазивными, 29 % из которых – инъекции гиалуроновой кислоты. Таким образом, это вторая по распространенности нехирургическая процедура после инъекций ботулотоксина. Популярность филлеров на основе гиалуроновой кислоты среди других наполнителей мягких тканей, таких как полимолочная кислота, полиметилметакрилат, аутологичный жир, гидроксиапатит кальция и коллаген, связана с низким уровнем осложнений, длительностью присутствия в тканях (6–24 месяца), относительно невысокой ценой и возможностью коррекции при помощи инъекций гиалуронидазы [4, 7].

В настоящее время на мировом рынке представлено множество марок филлеров, и их характеристики, такие как концентрация ГК, степень сшивания, биофизические и реологические характеристики, чрезвычайно разнообразны для соответствия различным клиническим показаниям, однако производители не всегда подробно описывают их. По этой причине большинство врачей не знают об их различиях и выбирают продукты для различных показаний в зависимости от своего личного клинического опыта. Именно поэтому изучение реологии филлеров стало источником знаний, различающих кожные наполнители на основе гиалуроновой кислоты и помогающих врачам с выбором продукта.

С 2022 года, с уходом многих иностранных производителей с российского рынка, вследствие дефектуры явно обозначается необходимость создания отечественных аналогов зарубежных филлеров. Важным аспектом разработки и применения гелей является их реологическое поведение, которое определяет, как материал будет вести себя при различных деформациях и нагрузках. Реология гелей на основе гиалуроновой кислоты напрямую влияет на их функциональность, удобство использования и результативность, что делает ее ключевым фактором при создании новых фармацевтических композиций.

Таким образом, **целью данного исследования** является понимание влияния различных факторов, а именно концентрации гиалуроновой кислоты и присутствия вспомогательных компонентов, на реологические свойства гелей, такие как мукоадгезия, пластическая вязкость, предел текучести, тиксотропия, а также выявление корреляции между реологическими свойствами филлеров и эффективностью их применения. Полученные результаты будут способствовать оптимизации состава гелей для эффективного применения в различных отраслях и возможности создания новых продуктов для медицинского применения и лекарственных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основу дизайна эксперимента лег анализ реологических свойств жидких подкожных имплантов линеек Stylage® – Stylage® HydroMax, Stylage® L, Stylage® L lidocaine, Stylage® XL, Stylage® XL lidocaine; Repart® Ġ – Repart G Normal, Repart G Deep. Данные препараты различаются концентрацией гиалуроновой кислоты, наличием лидокаина и вспомогательными веществами. Подробнее их характеристики представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Область и способ применения жидких подкожных имплантов линеек Stylage® и Repart® Ġ

Table 1. Injection area and method of administration of liquid subcutaneous implants of the Stylage® and Repart® Ġ lines

Название Filler's Brands	**Характеристика** Characteristics	**Область применения** Injection area
Stylage L / Stylage L lidocaine	Прозрачные рассасывающиеся монофазные гели на основе гиалуроновой кислоты неживотного происхождения, выпущенные французской компанией Laboratoires VIVACY и изготовленные с использованием запатентованной технологии сшивания Inter-Penetrating Network-Like (IPN-Like), формирующей конкретные реологические характеристики каждого препарата STYLAGE®, подходящие для определенной области и обеспечивающие желаемые результаты при введении. В качестве сшивающего агента используется 1,4-бутандиолдиглицидиловый эфир (BDDE) Transparent, absorbable, monophasic gels based on hyaluronic acid of non-animal origin, produced by the French company Laboratoires VIVACY and manufactured using the patented cross-linking technology «Inter-Penetrating Network-Like» (IPN-Like), forming the specific rheological characteristics of each STYLAGE® filler, suitable for a specific area and providing the desired results upon injection. 1,4-butanediol diglycidyl ether (BDDE) is used as a cross-linking agent	Коррекция глубоких морщин (инъекции в глубокие слои дермы) носогубной складки, носа, морщин-марионеток, а также восстановление или увеличение объема мягких тканей на тыльной стороне кистей рук Correction of deep wrinkles (injections into the deep dermis) of the nasolabial fold, nose, marionette wrinkles, as well as for the restoration or augmentation of soft tissue volume on the back of the hands
Stylage XL / Stylage XL lidocaine		Коррекция дефектов в области висков, скул, линии подбородка и самого подбородка (инъекции в глубокие слои дермы или подкожную ткань) Correction of defects in the area of the temples, cheekbones, jawline and the chin (injections into the deep dermis or subcutaneously)
Stylage HydroMax		Препарат для мезотерапии лица, шеи, рук и зоны декольте: осветление, гидратация и повышение эластичности кожи (инъекции в средние и глубокие слои дермы) Mesotherapy of the face, neck, neckline area and back of the hand: lighten, improve skin moisturization and elasticity (injections into the middle to deep dermis)
Repart® Ġ Normal	Бесцветные, прозрачные и вязкоупругие гели, состоящие из поперечно связанного гиалуроната натрия биоферментативного происхождения, выпущенные российской компании «ИНГАЛ» для проведения процедур контурной инъекционной пластики мягких тканей урогенитальной области у мужчин и женщин с эстетическими и терапевтическими целями. В качестве сшивающего агента используется полиэтиленгликольдиглицидиловый эфир Colorless, transparent and viscoelastic gels consisting of cross-linked sodium hyaluronate of bioenzymatic origin, produced by the Russian company «INGAL» for the procedures of contour injection plastic surgery of soft tissues of the urogenital area in men and women for aesthetic and therapeutic purposes. Polyethylene glycol diglycidyl ether is used as a cross-linking agent	Филлер низкой плотности, предназначенный для коррекции дефектов урогенитальной области (введение в поверхностные слои кожи, подкожной клетчатки, слизистые и подслизистые слои) Low density filler is used for correction of defects in the urogenital area (injection into the superficial layers of the skin, subcutaneously, mucous and submucous layers)
Repart® Ġ Deep		Филлер средней плотности, предназначенный для коррекции дефектов урогенитальной области (введение в подкожные и подслизистые слои) Medium density filler is used for correction of defects in the urogenital area (injection into the subcutaneous and submucosal layers)

Для исследования реологических параметров гелей применяли вискозиметр модели Lamy Rheology RM 200 (LAMY RHEOLOGY, Франция) с использованием программного обеспечения Rheomatic-T (LAMY RHEOLOGY, Франция) для обработки экспериментальных данных по реологической модели Кэссона, подходящей для гелей [8]. Для измерения использовали систему «цилиндр в цилиндре» MS-DIN 33, объем загрузки образца составляет 10 мл. По полученным данным были построены кривые вязкости и кривые течения.

Мукоадгезия определялась по собственному авторскому методу [9] по анализу кривых течения в диапазоне скорости сдвига от 0 до 20 $с^{-1}$ при постоянной температуре 35 ± 1 °C. Тиксотропия определялась по кривым вязкости в диапазоне скорости сдвига от 0 до 100 $с^{-1}$ при 25 ± 1 °C. Характер и величина мукоадгезии и тиксотропии оценивались по форме реологической кривой, а также по максимальным значениям напряжения сдвига (для мукоадгезии) и динамической вязкости (для тиксотропии), возникавшим в ходе эксперимента.

Для заключения по реологическим оптимумам был проведен опрос врачей-косметологов о преимуществах и особенностях введения препарата. Таким образом, результаты реологического анализа соотносились с потребительскими характеристиками.

Таблица 2. Характеристика исходных жидких подкожных имплантов

Table 2. Characteristics of the original liquid subcutaneous implants

Название препарата Filler's Brands	**Состав на 1 мл геля** Composition per 1 ml of gel
Stylage HydroMax	Поперечно сшитая (BDDE) гиалуроновая кислота, 12,5 мг. Фосфатный буфер и сорбит – pH 7,2 q.s., 1 г. Предварительно заполненный шприц объемом 1 мл Cross-linked (BDDE) hyaluronic acid 12,5 mg. Phosphate buffer and sorbitol – pH 7,2 q.s. 1 g. 1 ml pre-filled syringe
Stylage XL	Поперечно сшитая (BDDE) гиалуроновая кислота, 26 мг. Фосфатный буфер и маннитол – pH 7,2 q.s., 1 г. Предварительно заполненный шприц объемом 1 мл Cross-linked (BDDE) hyaluronic acid 26 mg. Phosphate buffer and mannitol – pH 7,2 q.s. 1 g. 1 ml pre-filled syringe
Stylage XL lidocaine	Поперечно сшитая (BDDE) гиалуроновая кислота, 26 мг. Лидокаина гидрохлорид, 3 мг. Фосфатный буфер и маннитол – pH 7,2 q.s., 1 г. Предварительно заполненный шприц объемом 1 мл Cross-linked (BDDE) hyaluronic acid 26 mg. Lidocaine hydrochloride 3 mg. Phosphate buffer and mannitol – pH 7,2 q.s. 1g. 1 ml pre-filled syringe
Stylage L	Поперечно сшитая (BDDE) гиалуроновая кислота, 24 мг. Фосфатный буфер и маннитол – pH 7,2 q.s., 1 г. Предварительно заполненный шприц объемом 1 мл Cross-linked (BDDE) hyaluronic acid 24 mg. Phosphate buffer and mannitol – pH 7,2 q.s. 1g. 1 ml pre-filled syringe
Stylage L lidocaine	Поперечно сшитая (BDDE) гиалуроновая кислота, 24 мг. Лидокаина гидрохлорид, 3 мг. Фосфатный буфер и маннитол – pH 7,2 q.s., 1 г. Предварительно заполненный шприц объемом 1 мл Cross-linked (BDDE) hyaluronic acid 24 mg. Lidocaine hydrochloride 3 mg. Phosphate buffer and mannitol – pH 7,2 q.s. 1g. 1 ml pre-filled syring
Repart G Normal	Натрия гиалуронат, 20 мг. Натрия дигидрофосфат, 0,1 мг. Динатрия гидрофосфат, 0,6 мг. Натрия хлорид, 4,5 мг. Вода для инъекций – до объема 1 мл Sodium hyaluronate 20 mg. Sodium dihydrophosphate 0.1 mg. Disodium phosphate 0.6 mg. Sodium chloride 4.5 mg. Water for injection – up to a volume of 1 ml
Repart G Deep	Натрия гиалуронат, 24 мг. Натрия дигидрофосфат, 0,1 мг. Динатрия гидрофосфат, 0,6 мг. Натрия хлорид, 4,5 мг. Вода для инъекций – до объема 1 мл Sodium hyaluronate 24 mg. Sodium dihydrophosphate 0.1 mg. Disodium phosphate 0.6 mg. Sodium chloride 4.5 mg. Water for injection – up to a volume of 1 ml

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены реограммы, построенные по результатам измерений в диапазоне скорости сдвига от 0 до 100 $с^{-1}$ при постоянной температуре 25 ± 1 °C. Все числовые значения представлены в таблице 3.

Все реограммы наглядно показывают, насколько гели могут восстанавливать свою вязкость после подачи и снятия напряжения сдвига. Наиболее ровные кривые вязкости наблюдались в образцах, соответствующих рисункам 1, В, Д, Е, в таких случаях считалось, что тиксотропия полная. В образцах, соответствующих рисункам 1, А, Б, Г, Ж, наблюдалась петля гистерезиса, что также свидетельствует о тиксотропном поведении систем. Во всех случаях происходило восстановление вязкости после снятия напряжения сдвига и релаксации гелей. Это является очень важным, критическим параметром для инъекционных жидких имплантов, поскольку после экструзии из преднаполненного шприца после введения гель должен сформироваться подкожно и обеспечивать длительную стабильность трехмерной структуры.

Значения динамической вязкости, аппроксимированные на пластическую вязкость по модели Кэссона, для изучаемых образцов оказались различными (от 0,196 до 1,09 Па · с). При этом у большинства образцов пластическая вязкость по модели Кэссона определялась в диапазоне от 0,2 до 0,6 Па · с и только у Stylage L lidocaine и Repart G Deep она была больше 1,0 Па · с. Безусловно, значение вязкости системы играет большую роль в простоте ввода препарата через канюлю шприца, но в то же время в некоторой степени определяет длительность сохранения трехмерной гелевой структуры после подкожного введения. Важно также отметить, что для вышеобозначенных препаратов со стороны клинических специалистов не было нареканий по поводу сложности введения (таблица 3).

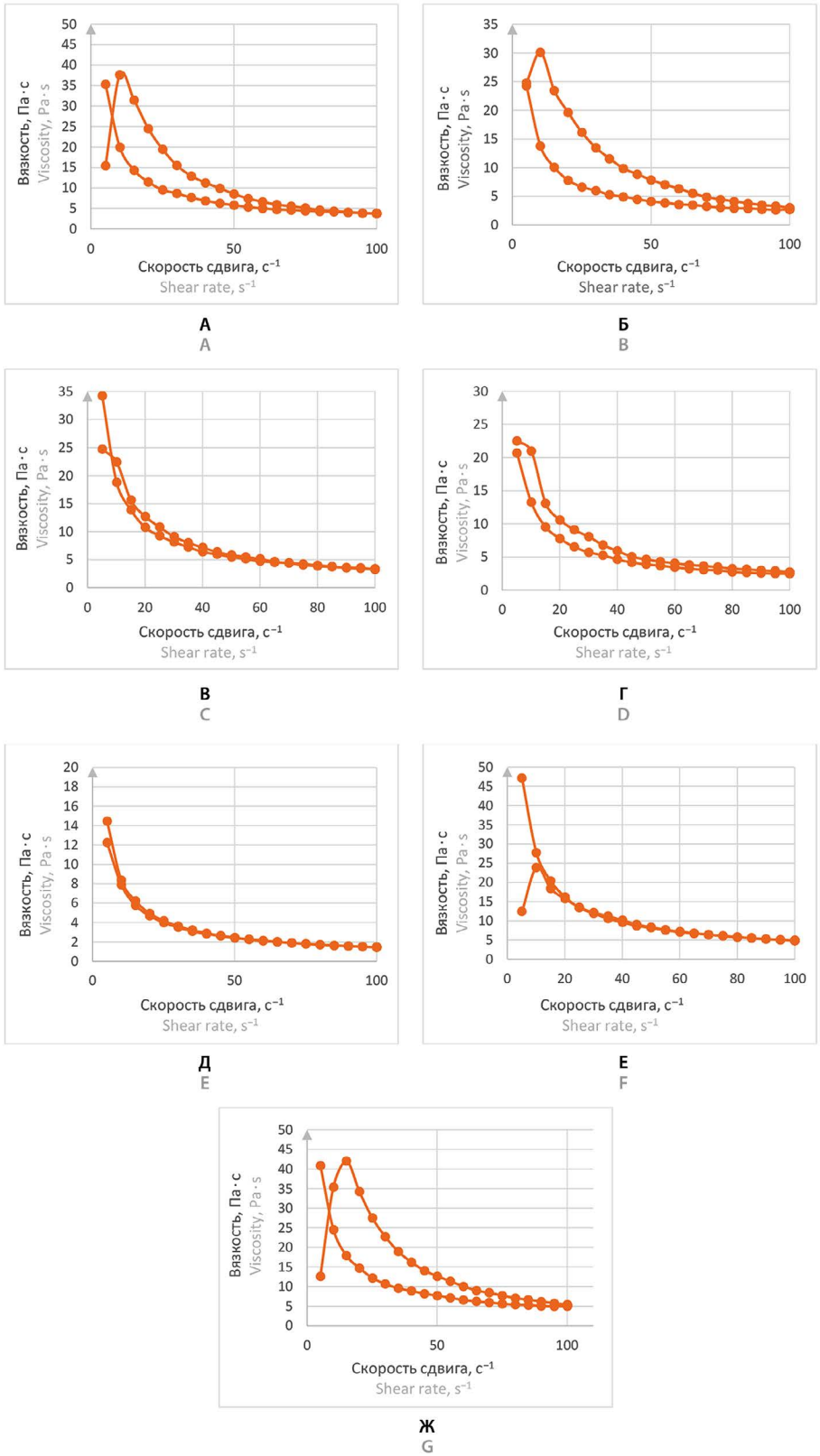


Рисунок 1. **Кривые вязкости исследуемых образцов:**

А – Stylage XL; Б – Stylage XL lidocaine; В – Stylage L; Г – Stylage L lidocaine; Д – Stylage HydroMax; Е – Repart G Normal; Ж – Repart G Deep

Figure 1. **Viscosity curves of the studied samples:**

A – Stylage XL; B – Stylage XL lidocaine; C – Stylage L; D – Stylage L lidocaine; E – Stylage HydroMax; F – Repart G Normal; G – Repart G Deep

Таблица 3. Основные критические реологические параметры и клинические характеристики (средние значения пяти измерений)

Table 3. Main critical rheological parameters and clinical characteristics (average values of five measurements)

Название филлера Filler's Brands	Мукоадгезия (Па), 0–20 $с^{-1}$, 35 °C Mucoadhesion (Pa) 0–20 s^{-1} 35 °C	Пластическая вязкость (Па · с), 0–100 $с^{-1}$, 25 °C Plastic viscosity (Pa · s) 0–100 s^{-1} 25 °C	Предел текучести (Па), 0–100 $с^{-1}$, 25 °C Flow stress (Pa) 0–100 s^{-1} 25 °C	Характеристика со стороны клинических специалистов Clinical specialists' reviews
Stylage HydroMax	80	0,196	63,1	• легко вводится и распределяется в тканях; • долго сохраняет стабильность после введения в тканях, обеспечивая стойкий эффект; • хорошая вязкость, высокая пластичность; • клинический эффект стимуляции коллагена; • нет местных воспалительных реакций (покраснение, отек); • не используется для биоревитализации; • не используется для урогенитального тракта • easy to inject and distribute in tissues; • maintains stability in tissues for a long time after injection, providing a lasting effect; • good viscosity, high plasticity; • clinical effect of collagen stimulation; • no local inflammatory reactions (redness, swelling); • not used for biorevitalization; • not used for the urogenital tract
Stylage XL	210	0,209	52,3	
Stylage XL lidocaine	140	0,46	89,3	
Stylage L	185	0,576	121,7	
Stylage L lidocaine	125	1,09	186,2	
Repart G Normal	230	0,317	45,5	• хорошо сохраняет форму в тканях урогенитального тракта; • нет местных воспалительных реакций (покраснение, отек); • при поверхностном введении собирается в сферические агломераты; • не используется для биоревитализации; • не используется на лице и теле • retains shape well in the tissues of the urogenital tract; • no local inflammatory reactions (redness, swelling); • superficial administration leads to the formation of spherical agglomerates; • not used for biorevitalization; • not used on the face and body
Repart G Deep	240	1,03	158,2	

Важным для понимания качества подкожно вводимых гидрогелей является и параметр предела текучести. Предел текучести определяется как предельное значение напряжения сдвига, при котором течение неньютоновской жидкости становится близким к пластическому. По пределу текучести судят о прочности образуемой гелевой структуры, стабильности образцов при хранении [9]. Предел текучести в различных исследованиях используется как параметр измерения мукоадгезии [8] и намазываемости [10]. Для изучаемых образцов предел текучести, рассчитанный по модели Кэссона после аппроксимации результатов 5 измерений, находится в диапазоне от 34 до 186 Па. Несмотря на кажущуюся важность этого реологического показателя для жидких имплантов для подкожного введения, предел текучести изучаемых средств лежал в широком диапазоне и не определял их потребительских характеристик.

Второй частью реологического исследования являлся анализ мукоадгезивных свойств образцов. На рисунке 2 представлены реограммы, построенные по результатам измерений в диапазоне скорости сдвига от 0 до 20 $с^{-1}$ при постоянной температуре 35 ± 1 °C. У образцов, соответствующих рисункам 2, А, В, Ж, 3, наблюдалась высокая мукоадгезия, что при сопоставлении с характеристикой клинических специалистов (см. таблицу 3), возможно, является причиной образования сферических сгустков при поверхностном введении образцов (рисунок 2, Ж, 3), но при этом обеспечивает образцам малоподвижность в тканях, стойкость и поддержание объема и формы.

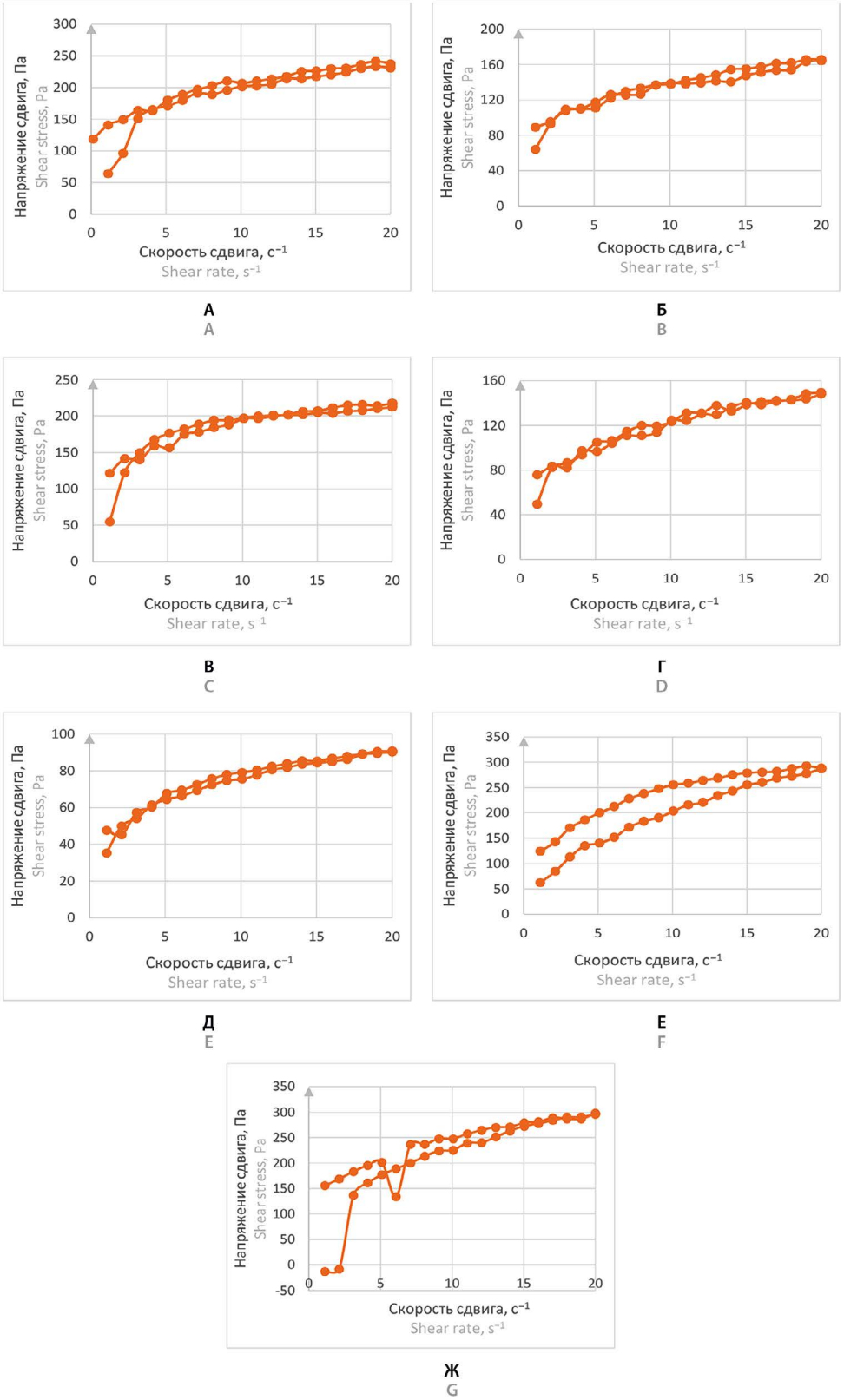


Рисунок 2. **Кривые течения исследуемых образцов:**

А – Stylage XL; Б – Stylage XL lidocaine; В – Stylage L; Г – Stylage L lidocaine; Д – Stylage HydroMax; Е – Repart G Normal; Ж – Repart G Deep

Figure 2. **Flow curves of the studied samples:**

A – Stylage XL; B – Stylage XL lidocaine; C – Stylage L; D – Stylage L lidocaine; E – Stylage HydroMax; F – Repart G Normal; G – Repart G Deep

Таблица 4. Взаимосвязь между клиническими и физико-химическими, реологическими характеристиками жидких подкожных имплантов

Table 4. Relationship between clinical and physicochemical, rheological characteristics of liquid subcutaneous implants

Желаемый клинический эффект Desired clinical effect	**Физико-химическое/реологическое свойство** Physicochemical/rheological property
Качество ввода Quality of input	Вязкость и предел текучести образца Viscosity and flow stress of the sample
Качество распределения Quality of distribution	Предел текучести, тиксотропия, мукоадгезия Flow stress, thixotropy, mucoadhesion
Прикрепление Attachment	Мукоадгезия Mucoadhesion
Длительность сохранения формы Duration of shape retention	Вязкость, биодеградация, плотность/степень сшивки полимера Viscosity, biodegradation, density/degree of crosslinking of the polymer

У образцов, соответствующих рисункам 2, Б, Г, наблюдались средние значения мукоадгезии, что, возможно, связано с присутствием в них лидокаина гидрохлорида (см. таблицу 2) [11].

Таким образом, было показано, что для подкожно вводимых жидких имплантов значения мукоадгезии должны лежать в среднем диапазоне (от 100 до 200 Па), чтобы не формировать агрегатов после подкожного введения и хорошо распределяться. В отличие от препаратов для местного применения на слизистой [10], для подобных продуктов нет необходимости в максимальной мукоадгезии, поскольку стекание и преждевременная эвакуация с места введения исключается способом введения препарата.

Результатом проведенных исследований стала установленная взаимосвязь между клиническими характеристиками жидких имплантов и их реологическими свойствами (таблица 4). Необходимо заметить, что, несмотря на важность реологического изучения при выборе оптимального состава гидрогелей для подкожной имплантации, решающую роль будет иметь строение полимера-гелеобразователя (в контексте данного исследования – гиалуроновой кислоты), степень ее сшивки и скорости биодеградации.

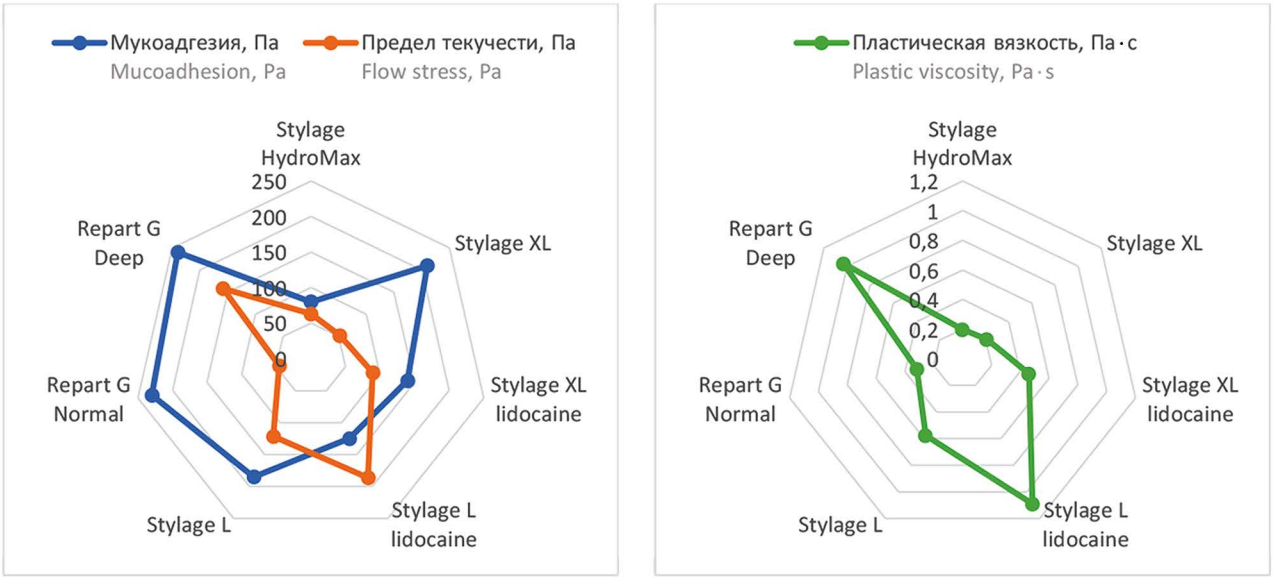


Рисунок 3. Оптимумы реологических свойств жидких подкожных имплантов

Figure 3. Optimum rheological properties of liquid subcutaneous implants

На рисунке 3 наглядно показаны диапазоны мукоадгезии, предела текучести и пластической вязкости, на основе которых возможно сформировать оптимумы реологических свойств для дальнейшей разработки новых препаратов в форме жидких подкожных имплантов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были проанализированы коммерчески доступные жидкие имплантаты для подкожного введения, применяемые в косметологии и регенеративной медицине, определены связи между потребительскими и реологическими характеристиками составов.

Показано, что вязкость играет важную роль в обеспечении возможности инъекционного введения состава и его удовлетворительного распределения в тканях. Высокая мукоадгезия у препарата, применяемого для гинекологии и урологии, определяет степень фиксации имплантата в тканях, лишенных активного мышечного компонента и костных опорных структур. При этом чрезмерная мукоадгезивность состава может приводить к образованию сферических подкожных агломератов, что ограничивает применение подобных средств для подкожного введения на лице. Связь предела текучести с качественными характеристиками имплантов установлена не была.

В ходе проведенных исследований определены следующие оптимальные диапазоны: мукоадгезия – от 100 до 200 Па, пластическая вязкость – от 0,2 до 1,0 Па · с при скорости сдвига 0–100 $с^{-1}$ и при температуре 25 ± 1 °С, предел текучести – от 50 до 150 Па при скорости сдвига 0–100 $с^{-1}$ и при температуре 25 ± 1 °С, тиксотропность – полная.

Полученные результаты могут быть полезны при выборе гелей для их эффективного применения, а также дают начальное понимание и возможные направления для исследований и создания новых продуктов на основе гиалуроновой кислоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marinho A., Nunes C., Reis S. Hyaluronic Acid: A Key Ingredient in the Therapy of Inflammation. *Biomolecules*. 2021;11(10):1518. DOI: 10.3390/biom11101518.
2. Juncan A. M., Moisă D. G., Santini A., Morgovan C., Rus L.-L., Vonica-Ţincu A. L., Loghin F. Advantages of Hyaluronic Acid and Its Combination with Other Bioactive Ingredients in Cosmeceuticals. *Molecules*. 2021;26(15):4429. DOI: 10.3390/molecules26154429.
3. Fraser J. R. E., Laurent T. C., Laurent U. B. G. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*. 1997;242(1):27–33. DOI: 10.1046/j.1365-2796.1997.00170.x.
4. Fundarò S. P., Salti G., Hernandez Malgapo D. M., Innocenti S. The Rheology and Physicochemical Characteristics of Hyaluronic Acid Fillers: Their Clinical Implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18):10518. DOI: 10.3390/ijms231810518.
5. Загорулько Ю. Ю., Загорулько Е. Ю. Особенности растворов гиалуроновой кислоты для внутрисуставного введения и современные тенденции в их разработке (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(2):45–54. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-2-45-54.
6. Iaconisi G. N., Lunetti P., Gallo N., Cappello A. R., Fiermonte G., Dolce V., Capobianco L. Hyaluronic Acid: A Powerful Biomolecule with Wide-Ranging Applications—A Comprehensive Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(12):10296. DOI: 10.3390/ijms241210296.
7. Иконникова Е. В., Мантурова Н. Е., Круглова Л. С. Виды филлеров и их характеристика (часть 1). *Пластическая хирургия и эстетическая медицина*. 2023;(1):67–76. DOI: 10.17116/plast.hirurgia202301167.
8. Бахрушина Е. О., Кондратьева В. М., Ходенок А. И., Демина Н. Б., Краснюк И. И. Изучение адгезивных характеристик мукоадгезивных полимерных систем методом ротационной вискозиметрии. *Химико-фармацевтический журнал*. 2023;57(3):35–44. DOI: 10.30906/0023-1134-2023-57-3-35-44.
9. Анурова М. Н., Бахрушина Е. О., Барнолицкий Г. Г., Кречетов С. П. Обоснование реологических оптимумов при разработке мягких лекарственных форм на гидрофильной основе. Стоматологические гели. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(2):124–128.
10. Bakhrushina E. O., Anurova M. N., Zavalny M. S., Demina N. B., Bardakov A. I., Krasnyuk I. I. Dermatologic gels spreadability measuring methods comparative study. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2022;14(1):164–168. DOI: 10.22159/ijap.2022v14i1.41267.
11. Salti G., Fundarò S. P. Evaluation of the Rheologic and Physicochemical Properties of a Novel Hyaluronic Acid Filler Range with eXcellent Three-Dimensional Reticulation (XTR™) Technology. *Polymers*. 2020;12(8):1644. DOI: 10.3390/polym12081644.
12. Гордеева Д. С., Хуторянский В. В., Мустафин Р. И. Разработка и исследование мукоадгезивных микрокапсул для интраназальной доставки леводопы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):129–138. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1918.

REFERENCES

1. Marinho A., Nunes C., Reis S. Hyaluronic Acid: A Key Ingredient in the Therapy of Inflammation. *Biomolecules*. 2021;11(10):1518. DOI: 10.3390/biom11101518.
2. Juncan A. M., Moisă D. G., Santini A., Morgovan C., Rus L.-L., Vonica-Ţincu A. L., Loghin F. Advantages of Hyaluronic Acid and Its Combination with Other Bioactive Ingredients in Cosmeceuticals. *Molecules*. 2021;26(15):4429. DOI: 10.3390/molecules26154429.
3. Fraser J. R. E., Laurent T. C., Laurent U. B. G. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*. 1997;242(1):27–33. DOI: 10.1046/j.1365-2796.1997.00170.x.
4. Fundarò S. P., Salti G., Hernandez Malgapo D. M., Innocenti S. The Rheology and Physicochemical Characteristics of Hyaluronic Acid Fillers: Their Clinical Implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18):10518. DOI: 10.3390/ijms231810518.

5. Zagorulko Y.Y., Zagorulko E.Y. Features of Hyaluronic Acid Solutions for Intra-articular Introduction and Recent Trends in Their Development (Review). *Drug development & registration*. 2020;9(2):45–54. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-2-45-54.
6. Iaconisi G. N., Lunetti P., Gallo N., Cappello A. R., Fiermonte G., Dolce V., Capobianco L. Hyaluronic Acid: A Powerful Biomolecule with Wide-Ranging Applications—A Comprehensive Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(12):10296. DOI: 10.3390/ijms241210296.
7. Ikonnikova E. V., Manturova N. E., Kruglova L. S. Types of fillers and their characteristics (part 1). *Plastic surgery and aesthetic medicine*. 2023;(1):67–76. (In Russ.). DOI: 10.17116/plast.hirurgia202301167.
8. Bakhrushina E. O., Kondratyeva V. M., Khodenok A. I., Demina N. B., Krasnyuk I. I. Study of the adhesive characteristics of mucoadhesive polymer systems by rotational viscometry. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2023;57(3):35–44. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2023-57-3-35-44.
9. Anurova M. N., Bakhrushina E. O., Barnolitskiy G. G., Krechetov S. P. Justification of the rheological optimum in the development of semisolid forms. Dental gels. *Drug development & registration.* 2017;(2):124–128. (In Russ.)
10. Bakhrushina E. O., Anurova M. N., Zavalny M. S., Demina N. B., Bardakov A. I., Krasnyuk I. I. Dermatologic gels spreadability measuring methods comparative study. *International Journal of Applied Pharmaceutics.* 2022;14(1):164–168. DOI: 10.22159/ijap.2022v14i1.41267.
11. Salti G., Fundarò S. P. Evaluation of the Rheologic and Physicochemical Properties of a Novel Hyaluronic Acid Filler Range with eXcellent Three-Dimensional Reticulation (XTR™) Technology. *Polymers*. 2020;12(8):1644. DOI: 10.3390/polym12081644.
12. Gordeeva D. S., Khutoryanskiy V. V., Moustafine R. I. Development and study of mucoadhesive microcapsules for the nasal levodopa delivery. *Drug development & registration*. 2024;13(4):129–138. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1918.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.011; 615.015.11

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2162

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка состава вагинальных таблеток с заданными параметрами профиля высвобождения

А. В. Мелешко[1]✉, А. В. Панов[1, 2], С. А. Кедик[1, 2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (РТУ МИРЭА). Институт тонких химических технологий имени М. В. Ломоносова. 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

[2] Акционерное общество «Институт фармацевтических технологий» (АО «ИФТ»). 121353, Россия, г. Москва, Сколковское шоссе, д. 21, оф. 1

✉ **Контактное лицо:** Мелешко Анастасия Владимировна. **E-mail:** meleshko.anastasia@yandex.ru

ORCID: А. В. Мелешко – https://orcid.org/0000-0002-1073-5073;
А. В. Панов – https://orcid.org/0000-0002-1603-143X;
С. А. Кедик – https://orcid.org/0000-0003-2610-8493.

Статья поступила: 03.08.2025 **Статья принята в печать:** 20.10.2025 **Статья опубликована:** 24.10.2025

Резюме

Введение. Тест сравнительной кинетики растворения (ТСКР) при разработке лекарственных средств является одним из ключевых и моделирует биодоступность действующего вещества в условиях его применения, позволяет оценивать биоэквивалентность лекарственных препаратов. В материалах статьи изложен подход, при котором в процессе разработки за основу для получения лекарственного препарата, отличающегося по лекарственной форме и составу от препарата сравнения, берутся результаты ТСКР.

Цель. Подобрать состав вагинальных таблеток, который будет эквивалентен согласно тесту сравнительной кинетики растворения суппозиториям на липофильной основе.

Материалы и методы. Объектами исследования являются вагинальные таблетки и суппозитории на липофильной основе, содержащие в своем составе натамицин. Исследование проводилось с использованием тестеров растворения (аппарат «Вращающаяся корзинка») и УФ-спектрофотометра для контроля количества высвободившегося натамицина.

Результаты и обсуждение. Авторами был предложен подход, при котором при разработке новой лекарственной формы натамицина (вагинальные таблетки) за основу берутся профили высвобождения зарегистрированных в ЕАЭС вагинальных суппозиториев на липофильной основе. Для проведения ТСКР авторами был получен набор составов вагинальных таблеток. Подбор состава велся таким образом, чтобы получить набор результатов с различными профилями высвобождения и подобрать наиболее оптимальный как с точки зрения эквивалентности профиля по отношению к препарату сравнения, так и технологичности (легкости внедрения в производство и экономичности наработки лекарственного препарата) получаемого состава. Разработанные составы были подобраны таким образом, чтобы обеспечить набор получаемых профилей высвобождения, которые можно было бы в дальнейшем сравнить с референтом. Объекты исследования были проанализированы с помощью тестера растворение (аппарат «Вращающаяся корзинка»), контроль высвободившегося натамицина осуществляли методом УФ-спектрофотометрии.

Заключение. Проведен тест сравнительной кинетики растворения для вагинальных таблеток, содержащих натамицин, и выбран наиболее перспективный состав, отвечающий предъявленным требованиям эквивалентности профилей высвобождения.

Ключевые слова: ТСКР, натамицин, примацин, суппозитории, вагинальные таблетки

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

Вклад авторов. С. А. Кедик, А. В. Панов и А. В. Мелешко разработали дизайн эксперимента. А. В. Мелешко разработала методики количественного определения натамицина, проводила эксперимент и обработку данных. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Для цитирования: Мелешко А. В., Панов А. В., Кедик С. А. Разработка состава вагинальных таблеток с заданными параметрами профиля высвобождения. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):79–89. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2162

© Мелешко А. В., Панов А. В., Кедик С. А., 2025
© Meleshko A. V., Panov A. V., Kedik S. A., 2025

Development of a vaginal tablet formulation with specified release profile parameters

Anastasiya V. Meleshko[1]✉, Aleksey V. Panov[1, 2], Stanislav A. Kedik[1, 2]

[1] MIREA – Russian Technological University. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies. 86, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia
[2] Joint Stock Company "Institute of Pharmaceutical Technologies". 21/1, Skolkovskoye shosse, Moscow, 121353, Russia

✉ **Corresponding author:** Anastasiya V. Meleshko. **E-mail:** meleshko.anastasia@yandex.ru

ORCID: Anastasiya V. Meleshko – https://orcid.org/0000-0002-1073-5073;
Aleksey V. Panov – https://orcid.org/0000-0002-1603-143X;
Stanislav A. Kedik – https://orcid.org/0000-0003-2610-8493.

Received: 03.08.2025 **Accepted:** 20.10.2025 **Published:** 24.10.2025

Abstract

Introduction. *In vitro* equivalence dissolution test is one of the main tests in drug development. *In vitro* equivalence dissolution test models the bioavailability of the active substance under the conditions of its use, allowing to assess the bioequivalence of drugs. The article describes an approach in which the results of *in vitro* equivalence dissolution test are used as a basis for obtaining a drug that differs in pharmaceutical dosage form and composition from the referent drug.

Aim. To select a composition of vaginal tablets that would be equivalent to suppositories on a lipophilic base according to *in vitro* equivalence dissolution test.

Materials and methods. The objects of the study are vaginal tablets and suppositories on a lipophilic base containing natamycin. The study was conducted using dissolution tester (the "Basket" apparatus) and a UV spectrophotometer to calculate the amount of released natamycin.

Results and discussion. The authors proposed an approach in which the development of a new dosage form of natamycin (vaginal tablets) is based on the development of similar to lipophilic base vaginal suppositories registered in the EAEU release profiles. For carrying out *in vitro* equivalence dissolution test, the authors developed samples of vaginal tablet formulations. The composition was selected to obtain a set of results with different release profiles and select the most optimal one both in terms of profile equivalence with the reference drug and the technological effectiveness (ease of introduction into production and cost-effectiveness of drug production) of the resulting composition. The formulations were selected to provide a set of release profiles that could be further compared with the reference. The objects of study were analyzed using a «Dissolution» test («Basket» apparatus), the released natamycin was monitored by UV spectrophotometry.

Conclusion. *In vitro* equivalence dissolution test was carried out for vaginal tablets containing natamycin, and the most promising formulation that meets the stated requirements for equivalence of release profiles was selected.

Keywords: *in vitro* equivalence dissolution test, natamycin, prymacin, lipophilic base suppository, vaginal tablet

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. Stanislav A. Kedik, Aleksey V. Panov and Anastasiya V. Meleshko designed experimental work plan. Meleshko A.V. developed natamycin quantity control method, conducted the experiment and processed the data. All authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

For citation: Meleshko A. V., Panov A. V., Kedik S. A. Development of a vaginal tablet formulation with specified release profile parameters. *Drug development & registration*. 2025;14(4):79–89. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2162

ВВЕДЕНИЕ

Тест сравнительной кинетики растворения (ТСКР) применяется в различной степени для обоснования биоэквивалентности различных лекарственных препаратов. В случае с лекарственными препаратами, действующие вещества которых относятся к I или III классам биофармацевтической классификационной системы (БКС), возможно проведение процедуры «биовейвер», которая позволяет значительно уменьшить объем проводимых испытаний и упростить выход лекарственного препарата на рынок.

Наряду с испытаниями, направленными на упрощение процедуры регистрации новых лекарственных препаратов, ТСКР может применяться в разработке лекарственных препаратов, которые относятся в том

числе и ко II и IV классам БКС, так как получение схожих профилей растворения может давать основания для предположений о более успешном прохождении клинических испытаний.

Около 30 % лекарственных препаратов, обращающихся на рынке, относятся ко II классу БКС, около 10 % – к IV. Хотя субстанции, относящиеся к этим классам, обладают низкой растворимостью (II и IV классы БКС), низкой проницаемостью (IV класс БКС) и, как следствие, низкой биодоступностью при пероральном пути введения [1], тем не менее такие лекарственные препараты обладают высокой эффективностью, активно разрабатываются и выводятся на рынок. Как известно из литературных данных, а также по результатам собственных исследований, натамицин относится к IV группе лекарственных веществ, то есть обладает низкими растворимостью и проницаемостью [4–5][1].

Наиболее распространенной инфекцией, вызываемой представителями рода *Candida*, является вульвовагинальный кандидоз. Около 20–30 % женщин в мире являются бессимптомными носителями представителей *Candida*, также по крайней мере 75 % женщин хотя бы однократно сталкивались с кандидозом. Несмотря на то, что основным возбудителем является *Candida albicans*, многие другие виды остальные виды *Candida* также являются возбудителями вульвовагинального кандидоза (например, распространены *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*). Такое расширение видов приводит к тому, что, с одной стороны, требуются все более совершенные диагностические инструменты, а с другой стороны, эти виды могут не реагировать на имеющуюся терапию аналогично *C. albicans*, что может приводить к осложнениям у 10–20 % [2].

Одним из классов противогрибковых препаратов являются полиены, представителем которых является натамицин, относящийся к IV классу БКС. Тем не менее в составе лекарственных препаратов («Пимафуцин», «Экофуцин», «Примацин» и др.) он активно назначается уже на протяжении более чем 40 лет, активен в отношении большинства патогенных видов *Candida* и особенно *C. albicans*. Проводимые исследования показали, что применение натамицина беременными женщинами не вызывает аномалий развития плода, что делает его доступным для применения у данной группы [3].

Согласно данным ГРЛС, на апрель 2025 г. в Российской Федерации зарегистрировано 12 суппозиториев вагинальных, содержащих в своем составе натамицин. Натамицин также представлен в виде таких лекарственных форм, как таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, мазь и крем для наружного применения[2].

Важной задачей является создание вагинальных таблеток, содержащих натамицин, поскольку технология производства будет проще и доступнее, чем изготовление суппозиториев, а эффективность приближена к зарегистрированным на рынке препаратам, выпускающимся в форме суппозиториев, что будет подтверждаться разработкой такого состава, который был бы сопоставим по профилю высвобождения к исходному препарату. Вагинальные таблетки впоследствии, при условии успешного прохождения дальнейших исследований, возможной корректировки состава и свойств, в случае необходимости могут быть зарегистрированы и обращаться на рынке.

Для оценки сопоставимости профиля высвобождения разрабатываемых вагинальных таблеток с суппозиториями «Примацин» (производитель – ООО «Тульская фармацевтическая фабрика») проводился тест сравнительной кинетики растворения в 3 классических средах (0,1 М раствор хлороводородной кислоты; ацетатный буферный раствор с pH 4,5; фосфатный буферный раствор с pH 6,8). Также дополнительно оценивалась сопоставимость профилей в среде растворения, которая ранее была предложена в роли среды контроля качества для вагинальных суппозиториев, содержащих натамицин, – 0,5%-м растворе цетилтетраметиламмония бромида с pH 4,5 [5]. В классическом виде тест сравнительной кинетики растворения для подтверждения биоэквивалентности, процедуры «биовейвер» не допускает использования органических растворителей и поверхностно активных веществ (ПАВ)[3], тем не менее, для того чтобы получить адекватный профиль высвобождения натамицина, относящегося к IV классу БКС, данные меры являются необходимыми. Также, как отмечалось ранее, в данном случае ТСКР является первичным тестом для выбора наиболее перспективных прототипов для дальнейших исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения измерений использовалось следующее оборудование и реактивы: лабораторные аналитические весы Pioneer PA214C (OHAUS, США),

[1] Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Доступно по: https://docs.cntd.ru/document/456026107. Ссылка активна на 03.08.2025.

[2] Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.rosminzdrav.ru/GRLS.aspx?RegNumber=&MnnR=%d0%bd%d0%b0%d1%82%d0%b0%d0%bc%d0%b8%d1%86%d0%b8%d0%bd&lf=&TradeNmR=&OwnerName=&MnfOrg=&MnfOrgCountry=&isfs=0&regtype=1,6&pageSize=10&order=Registered&orderType=desc&pageNum=1&token=9dd6f3fb-fab4-417a-86f7-66d73e1c5fdf. Ссылка активна на 03.08.2025.

[3] Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. ОФС.1.3.0003 «Буферные растворы». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-3/bufernye-rastvory/ Ссылка активна на 03.08.2025.

тестер растворения ERWEKA DT820 (ERWEKA GmbH, Германия), спектрофотометр Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, США). Для суппозиториев на липофильной основе традиционно используют аппарат растворения «Проточная ячейка», тогда как для таблеток используют аппараты «Лопастная мешалка» или «Вращающаяся корзинка». Для сопоставимости результатов авторами было принято решение о выборе единого аппарата растворения: вращающейся корзинки. Аппарат растворения выбран на основании предыдущих исследований, проведенных авторами [5].

При проведении исследования использовались следующие реактивы: натрия ацетата тригидрат (ч.д.а., Merck KGaA, Германия), цетилтриметиламмония бромид (ос.ч., VWR International LLC, США), хлороводородная кислота (х.ч., ООО «АЛЬДОСА», Россия), уксусная кислота ледяная (HPLC grade, Sharlau, Германия), калия дигидрофосфат (х.ч., ООО "ТД "ХИММЕД", Россия), натрия гидроксид (х.ч., ООО ТД «ХИММЕД», Россия). Субстанция натамицина произведена North China Pharmaceutical Huasheng Co. Ltd. (Китай). В качестве стандартного образца был использован Natamycin USP CRS (кат. номер 1457505) серии R10990, чистота стандартного образца составляет 91,3 %.

Наработку образцов вагинальных таблеток осуществляли на лабораторном таблеточном прессе (Natoli Engeneering Company, Inc., США) с использованием пресс-инструмента, позволяющего получить таблетки типа «облонг» (длина – 25 мм; ширина – 11 мм; высота – 10 мм).

Приготовление сред растворения описано ниже.

Приготовление сред растворения с pH 1,2 (0,1 М раствор хлористоводородной кислоты), 4,5 (натрия ацетатный буферный раствор с pH 4,5), 6,8 [фосфатный буферный раствор с pH 6,8 (4)] проводилось в соответствии с ГФ РФ XV[1, 2].

Приготовление 30%-го раствора уксусной кислоты. В мерную колбу вместимостью 100,0 мл помещают около 50 мл воды, прибавляют 30 г ледяной уксусной кислоты, перемешивают и доводят объем раствора водой до метки.

Приготовление ацетатного буфера с pH 4,5. В стакан вместимостью 100 мл помещают 13,8 г ацетата натрия тригидрата, количественно переносят навеску в мерную колбу вместимостью 2000,0 мл, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. pH полученного раствора доводят до значения 4,5 ± 0,05 30%-й уксусной кислотой.

Приготовление среды растворения – 0,5%-го раствора цетилтетраметиламмония бромида с pH 4,5. В стакан вместимостью 100 мл навешивают 10 г ЦТАБ, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 2000,0 мл, растворяют в ацетатном буфере, перемешивают и доводят объем раствора до метки ацетатным буфером. Полученный буферный раствор фильтруют при помощи установки Millipore через PTFE-фильтры с размером пор 0,45 мкм.

Условия проведения теста сравнительной кинетики растворения:

- Тип аппарата – вращающаяся корзинка.
- Среды растворения – 0,1 М хлороводородная кислота (pH 1,2), ацетатный буферный раствор (pH 4,5), фосфатный буферный раствор (pH 6,8 (4)), 0,5 % (м./об.), цетилтриметиламмония бромид в 50 мМ растворе ацетата натрия тригидрата (pH 4,5).
- Объем среды растворения – 900 мл.
- Скорость вращения – 100 об/мин.
- Температура – 37 ± 0,5 °C.

Исходя из проведенных ранее экспериментов, отбор проб осуществлялся в нескольких временных точках: 5, 15, 30, 45, 60, 90 мин. Объем отбираемой пробы – 10 мл. При отборе проб объем среды растворения восполнялся до первоначального объема той же средой растворения. Для получения каждого из профилей использовали 12 единиц препарата.

Оценку количества действующего вещества проводили методом УФ-спектрофотометрии в кюветах с толщиной оптического слоя 1 см при длине волны 304 нм (максимум поглощения натамицина), используя в качестве раствора сравнения соответствующую среду растворения. Испытуемые образцы при необходимости разбавлялись соответствующей средой растворения для получения значений оптической плотности, лежащих в пределах градуировочных графиков и отвечающих границам применимости закона Бугера – Ламберта – Бера. Исходные стандартные растворы готовили в смеси соответствующей среды растворения и изопропилового спирта в соотношении 60:40 % об., далее исходные стандартные растворы разбавлялись соответствующей средой растворения для получения набора градуировочных растворов, по которым строилась зависимость оптической плотности от концентрации натамицина в растворе. По установленному методом наименьших квадратов уравнению линейной регрессии велись дальнейшие вычисления высвобождения действующего вещества из готовой лекарственной формы.

Сопоставимость профилей высвобождения оценивали с использованием факторов подобия и различия.

Фактор подобия – главный инструмент оценки эквивалентности профиля высвобождения согласно решению № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных

[1] Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. ОФС.1.4.2.0014 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/rastvorenie-dlya-tvyerdykh-dozirovannykh-lekarstvennykh-form/ Ссылка активна на 03.08.2025.

[2] Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. ОФС 1.3.0003 «Буферные растворы». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-3/bufernye-rastvory/ Ссылка активна на 03.08.2025.

препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Фактор подобия, хотя и является универсальным инструментом, не может учесть многие особенности профиля высвобождения, например неполное высвобождение, форму профиля растворения, невосприимчивость к выбросам [9]. Приемлемыми считаются значения фактора подобия от 50 до 100. При проведении ТСКР с целью доказательства биоэквивалентности и процедуры биовейвера стремятся, как правило, к получению как можно более высокого значения данного фактора. Фактор подобия рассчитывается по следующей формуле:

$$f_2 = 50 \cdot \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} \left[\overline{R(t)} - \overline{T(t)} \right]^2}{n}}},$$

где f_2 – фактор подобия; $R(t)$ – среднее количество вещества, высвободившегося на момент t из референтного лекарственного препарата, %; $T(t)$ – среднее количество вещества, высвободившегося на момент t из референтного лекарственного препарата, %; n – количество временных точек.

Дополнительно была проведена оценка фактора различия, который отражает процент ошибки между двумя профилями высвобождения по времени. Приемлемыми считаются значения от 0 до 15, в этом случае кинетики растворения считаются сопоставимыми [9]. Формула расчета фактора различия представлена ниже:

$$f_1 = \frac{\sum_{t=1}^{t=n} \left[\overline{R(t)} - \overline{T(t)} \right]}{\sum_{t=1}^{t=n} \overline{R(t)}} \cdot 100\ \%,$$

где f_1 – фактор различия, %; $R(t)$ – среднее количество вещества, высвободившегося на момент t из референтного лекарственного препарата, %; $T(t)$ – среднее количество вещества, высвободившегося на момент t из референтного лекарственного препарата, %; n – количество временных точек.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При разработке состава готовой лекарственной формы использовались следующие вспомогательные вещества: адипиновая кислота, кремния диоксид коллоидный, магния стеарат, лактозы моногидрат, лактоза безводная, микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ), кросповидон, коповидон VA64, поливинилпирролидон К-30, гидроксипропилцеллюлоза (ГПЦ), гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ).

При разработке состава вагинальных таблеток придерживались стратегии наработки ряда образцов на основании профиля, который был бы достаточно вариабельным для того, чтобы выбрать оптимальный состав для дальнейших исследований и масштабирования технологии. Все использованные составы содержали в своем составе по 1 % масс./масс. таких веществ, как кремния диоксид коллоидный и магния стеарат, что обеспечивало достаточную сыпучесть смеси и необходимую скользкость таблетки при прессовании, а также 8,75%-й адипиновой кислоты, чтобы поддерживать кислую среду pH при местном высвобождении лекарственного вещества. В качестве наполнителей использовали лактозу и микрокристаллическую целлюлозу, а профиль высвобождения корректировали использованием таких вспомогательных веществ, как кросповидон, коповидон, поливинилпирролидон (повидон) гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза [8].

Для приготовления вагинальных таблеток использовали метод прямого прессования. Наработанные составы, которые обладают приемлемыми технологическими свойствами для дальнейшей работы и могут быть масштабированы, представлены в таблице 1.

В качестве эксперимента по первичному выбору состава была проведена оценка кинетики растворения в среде, которая предполагается для контроля качества наработанных таблеток, – 0,5%-м растворе цетилтетраметиламмония бромида с pH 4,5. Для оценки сопоставимости профилей высвобождения использовалось определение фактора подобия и фактора различия.

Результаты оценки высвобождения наработанных прототипов в сравнении с «Примацином» представлены в таблице 2. Согласно оценке кинетики растворения в 0,5%-м растворе цетилтетраметиламмония бромида с pH 4,5, наиболее перспективными прототипами являются составы № 7 и 9, для которых фактор подобия составляет соответственно 51,4 и 51,1.

Фактор различия для данных композиций составляет 19,3 и 19,7 соответственно, что связано с более быстрым высвобождением вагинальных таблеток в точках 5 и 15 мин. В частности, для суппозиториев отмечается перегиб профиля высвобождения на начальной стадии высвобождения. Данное явление может быть связано с тем, что на начальном этапе происходит плавление (размягчение) суппозиторной основы, а уже в дальнейшем высвобождение натамицина происходит более интенсивно из мягкого расплава, тогда как для таблеток профили растворения более равномерные. Тем не менее, как отмечалось ранее, для обеспечения сопоставимости результатов был выбран единый аппарат для проведения теста в качестве предварительного критерия выбора состава.

Профили растворения составов 7, 9, а также препарата сравнения «Примацин» (производитель – ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», Россия) представлены на рисунке 1.

Таблица 1. **Наработанные составы вагинальных таблеток с натамицином**

Table 1. **Formulations of vaginal tablet including natamycin**

№	Вещество Component	Количество на 1 единицу лекарственной формы, мг Quantity per one tablet, mg																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	Натамицин Natamycin	113																			
2	Адипиновая кислота Adipic acid	140																			
3	Аэросил Aerosil	16																			
4	Магния стеарат Magnesiun searate	16																			
5	Лактозы моногидрат Lactose monohdrate	1315	–	1235	–	700	620	–	–	700	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6	МКЦ-102 MCC 102	–	1315	–	1235	–	–	700	620	–	–	700	620	–	–	700	620	–	–	700	620
7	Кросповидон Crospovidone	–	–	80	80	–	80	–	80	–	80	–	80	–	80	–	80	–	80	–	80
8	Коповидон VA64 Copoidone VA 64	–	–	–	–	615	615	615	615	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
9	ПВП К-30 PVP K-30	–	–	–	–	–	–	–	–	615	615	615	615	–	–	–	–	–	–	–	–
10	Лактоза безводная Lactose anhdrous	–	–	–	–	–	–	–	–	–	620	–	–	700	620	–	–	700	620	–	–
11	ГПЦ HPC	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	615	615	615	615	–	–	–	–
12	ГПМЦ-606 HPMC 606	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	615	615	615	615
Итого: Total:		1600																			

Таблица 2. **Результаты высвобождения в 0,5%-м растворе цетилтетраметиламмония бромида с pH 4,5**

Table 2. **In vitro dissolution test results in 0.5 % cethyltetramethylammonium bromide solution pH 4.5**

Время, мин Time, min	Высвобождение, % Drug release, %																			
	«Примацин» Primacin	Наработанные составы вагинальных таблеток Developed vaginal tablet formulation																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	11,7	23,4	94,0	92,4	43,0	10,1	11,3	18,3	20,2	17,0	13,9	2,2	15,8	3,3	2,9	2,9	5,0	2,6	7,2	2,7	3,8
15	19,1	68,2	106,2	108,1	66,3	39,1	37,6	36,8	36,3	37,0	30,1	12,1	30,4	6,4	4,5	4,7	10,5	7,7	11,3	7,4	7,9
30	65,4	104,5	107,9	111,3	77,5	59,9	58,1	69,8	64,1	64,9	45,8	29,8	47,1	13,3	9,7	5,0	15,5	15,7	17,7	10,0	10,5
45	81,7	106,5	110,5	111,3	82,5	71,9	71,7	77,3	68,9	74,9	73,3	44,2	65,2	19,3	16,6	7,1	18,2	22,6	28,9	12,8	12,5
60	86,3	107,6	110,4	110,8	91,4	74,1	75,9	80,9	74,4	79,2	74,6	52,7	69,0	23,1	21,0	8,3	22,4	32,2	30,0	16,6	16,2
90	89,8	108,0	111,7	111,2	94,5	76,4	76,8	87,8	78,0	80,9	80,1	71,1	71,0	28,8	27,4	10,8	32,1	48,2	54,8	19,8	20,3
f_2 (фактор подобия) f_2 (similarity factor)	–	24,5	11,4	11,1	29,3	46,7	47,7	51,4	46,8	51,1	46,5	27,7	42,0	16,5	15,7	12,7	16,7	18,6	19,6	14,8	14,6
f_1 (фактор различия) f_1 (difference factor)	55,7	100,0	101,9	36,4	18,6	17,8	14,8	19,3	14,0	19,7	46,6	25,4	75,8	78,8	89,4	73,1	68,9	64,0	81,1	81,1	100,0

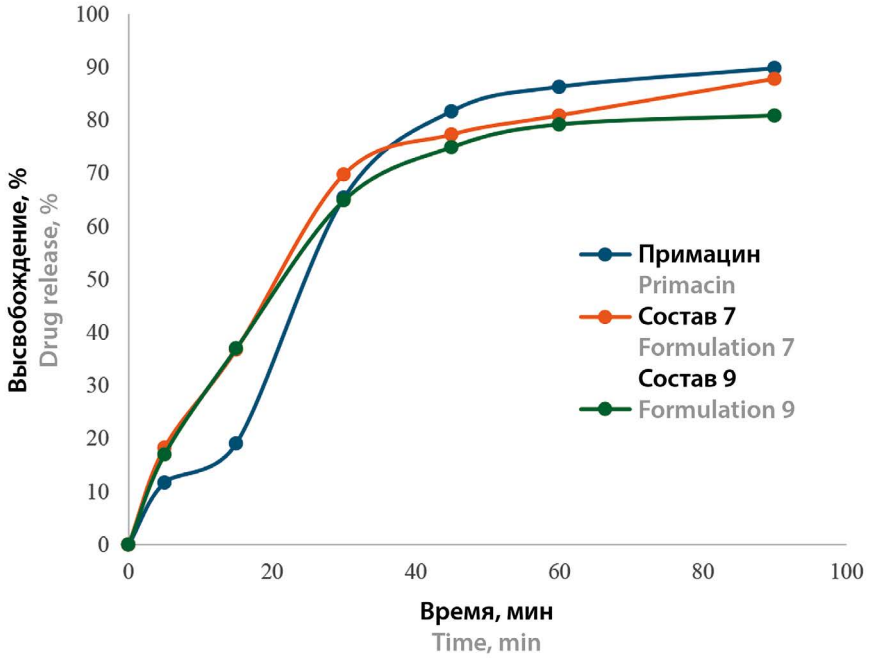


Рисунок 1. Профили растворения «Примацина», составов № 7 и 9 в 0,5%-м растворе цетилтетраметиламмония бромида с pH 4,5

Figure 1. Primacin and formulations № 7 and 9 *in vitro* dissolution profiles in 0.5 % cethyltetramethylammonium bromide solution pH 4.5

Для составов № 7, 9, а также суппозиториев «Примацин» была дополнительно проведена оценка кинетики растворения в следующих средах: 0,1 М хлороводородной кислоте (pH 1,2), ацетатном буферном растворе (pH 4,5), фосфатном буферном растворе (pH 6,8 (4)), поскольку именно эти среды являются классическими при проведении теста сравнительной кинетики растворения. Результаты оценки высвобождения в этих средах представлены в таблице 3 и на рисунках 2–4.

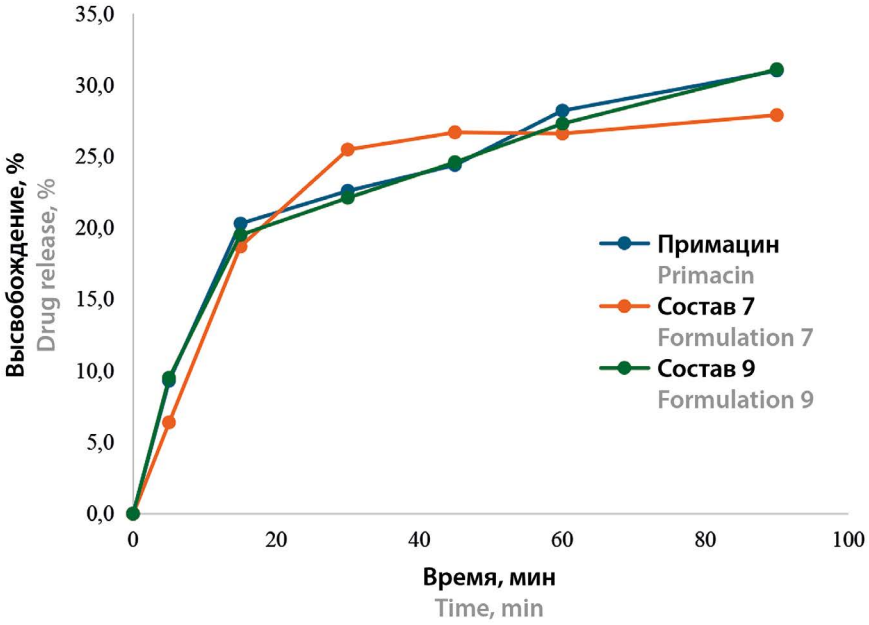


Рисунок 2. Профили растворения «Примацина», составов № 7 и 9 в 0,1 М хлороводородной кислоте

Figure 2. Primacin and formulations № 7 and 9 *in vitro* dissolution profiles in 0.1 M hydrochloric acid

Таблица 3. Результаты высвобождения натамицина в 0,1 М хлороводородной кислоте, ацетатном буферном растворе с pH 4,5, фосфатном буферном растворе с pH 6,8

Table 3. *In vitro* dissolution test results in 0.1 M hydrochloric acid, acetate buffer solution pH 4.5, phosphate buffer solution pH 6.8

Время, мин Time, min	Высвобождение, % Drug release, %								
	0,1 М хлороводородная кислота 0.1 M Hydrochloric acid			Ацетатный буферный раствор с pH 4,5 Acetate buffer solution pH 4.5			Фосфатный буферный раствор с pH 6,8 Phosphate buffer solution pH 6.8		
	«Примацин» Primacyn	Состав 7 Formulation 7	Состав 9 Formulation 9	«Примацин» Primacyn	Состав 7 Formulation 7	Состав 9 Formulation 9	«Примацин» Primacyn	Состав 7 Formulation 7	Состав 9 Formulation 9
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	9,3	6,4	9,5	2,7	6,4	1,2	3,2	15,6	3,3
15	20,3	18,7	19,5	9,1	18,7	6,9	10,1	28,6	12,1
30	22,6	25,5	22,1	17,5	25,5	13,3	17,9	30,1	24,0
45	24,4	26,7	24,6	21,2	26,7	19,2	25,7	30,7	27,4
60	28,2	26,6	27,3	22,8	26,6	21,4	27,6	31,1	29,3
90	31,0	27,9	31,1	26,2	27,9	24,4	29,9	31,6	30,9
f_2	–	78,7	97,4	–	60,7	79,4	–	48,5	76,2
f_1	–	10,6	1,9	–	32,5	13,1	–	46,6	11,0

Поскольку в средах растворения без ПАВ натамицин растворим ограниченно, фактор подобия дает достаточно высокие значения, тем не менее в данном случае как дополнительный инструмент сопоставимости профилей высвобождения используется фактор различия. Для среды растворения 0,1 М хлороводородной кислоты значения фактора подобия для составов № 7 и 9 соответственно составили 78,7 и 97,4, а фактора различия – 10,6 и 1,9 соответственно; в среде растворения ацетатном буферном растворе с pH 4,5 значения фактора подобия обозначенных составов – 60,7 и 79,4, фактор различия – 32,5 и 13,1 соответственно; в среде растворения фосфатном буферном растворе с pH 6,8 фактор подобия

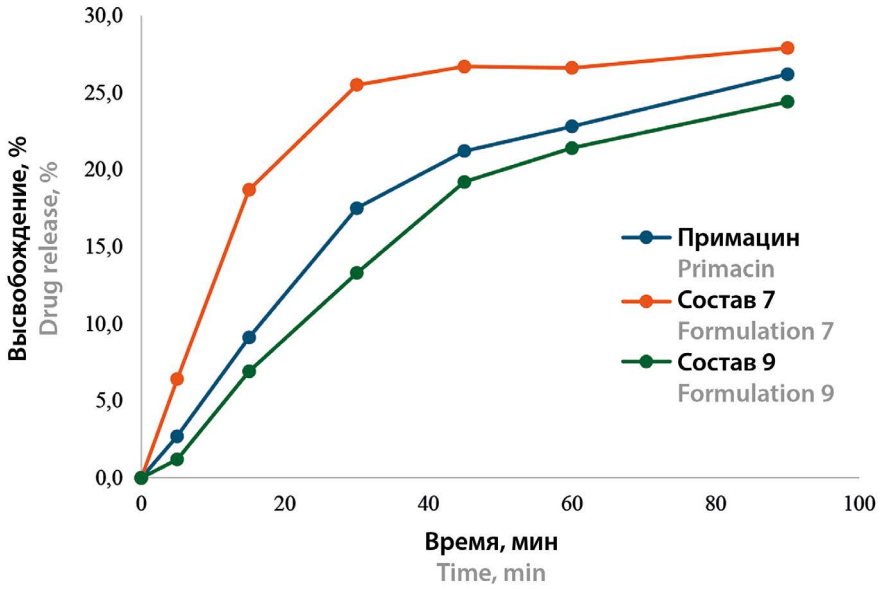


Рисунок 3. Профили растворения «Примацина», составов № 7 и 9 ацетатном буферном растворе с pH 4,5

Figure 3. Primacin and formulations № 7 and 9 *in vitro* dissolution profiles in acetic buffer solution pH 4.5

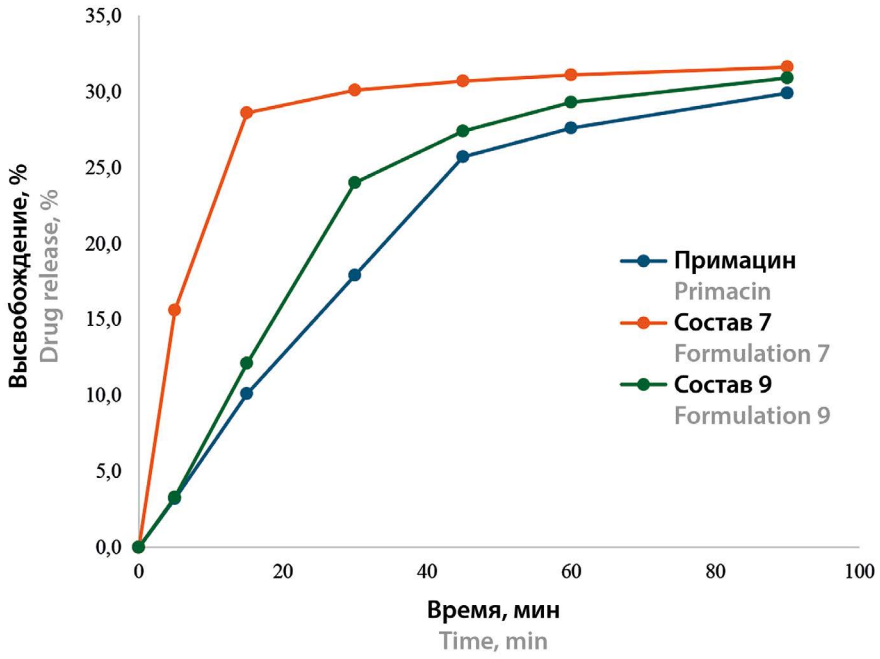


Рисунок 4. Профили растворения «Примацина», составов 7 и 9 в фосфатном буферном растворе с pH 6,8

Figure 4. Primacin and formulations № 7 and 9 *in vitro* dissolution profiles in phosphate buffer solution pH 6.8

составляет 48,5 и 76,2 соответственно, а фактор различия – 46,6 и 11,0 соответственно. По совокупности имеющихся данных наиболее перспективным составом для дальнейших исследований является состав № 9.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования авторами были наработаны вагинальные таблетки 20 разных составов, которые возможно использовать в качестве прототипов для проведения дальнейших исследований. Для оценки сопоставимости профилей высвобождения был проведен тест сравнительной кинетики растворения наработанных образцов. В качестве первичного теста для выбора состава была определена кинетика растворения в 0,5%-м растворе цетилтетраметиламмония бромида с pH 4,5, поскольку в нем удается достичь высвобождения натамицина, который ограниченно растворим в классических буферах для проведения ТСКР, так как относится к IV классу БКС. Далее было оценено высвобождение наиболее перспективных составов (№ 7 и 9) в таких средах растворения, как 0,1 М хлороводородная кислота с pH 1,2, ацетатный буферный раствор с pH 4,5, фосфатный буферный раствор с pH 6,8 (4). Для составов № 7 и 9 были определены факторы подобия и факторы различия в перечисленных средах в соответствующих средах растворения.

В результате проведенных исследований в качестве наиболее перспективного состава выбран состав № 9, в котором в качестве вспомогательных веществ используются адипиновая кислота, кремния диоксид коллоидный, магния стеарат, лактозы моногидрат и поливинилпирролидон К-30.

Описанный авторами подход может быть применим к разработке других лекарственных препаратов, содержащих в своем составе действующие вещества, которые ограниченно растворяются в буферных растворах, так как позволяет, используя относительно недорогие способы экспериментального исследования, выбрать перспективные составы для проведения дальнейших доклинических и клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Демина Н. Б. Биофармацевтическая классификационная система как инструмент разработки дизайна и технологии лекарственной формы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(2):56–60.
2. Kroustali V., Kanioura L., Resoulai E., Siopi M., Antonopoulou S., Meletiadis J. Antifungal susceptibility testing and determination of local epidemiological cut-off values for *Candida* species isolated from women with vulvovaginal candidiasis. *Microbiology Spectrum*. 2025;13(3):e0248824. DOI: 10.1128/spectrum.02488-24.
3. Онгарбаева Н. С., Балгимбаева А. С., Баймаханова Б. Б., Саданов А. К., Лахк О. Н., Оразымбет С. Э., Треножникова Л. П., Березин В. Э., Богоявленский А. П., Миралимова Ш. М. Фармакотерапия вульвовагинального кандидоза. *Микробиология и вирусология*. 2024;2(45):83–107. DOI: 10.53729/MV-AS.2024.02.06.
4. Дружининская О. В., Смехова И. Е. Среды растворения, применяемые в разработке и контроле качества лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(3):144–150.

5. Мелешко А. В., Волкова А. М., Тюкова В. С., Панов А. В., Кедик С. А. Особенности проведения теста «Растворение» для суппозиториев вагинальных, содержащих в своем составе натамицин. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(1):254–264. DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1778.
6. Мелешко А. В. Определение биофармацевтической растворимости натамицина. В сб.: Горизонты биофармацевтики. Сборник научных трудов по материалам IX Международной научно-практической молодежной конференции, посвященной 89-летию Курского государственного медицинского университета. 23 мая 2024 года. Курск: Изд-во ЗАО «Университетская книга»; 2024. С. 271–273.
7. Sheskey P. J., Hancock B. C., Moss G. P., Goldfarb D. J., editors. Handbook of pharmaceutical excipients – Ninth edition. New York: Pharmaceutical Press; 2020. 1400 p.
8. Шохин И. Е., Багаева Н. С., Малашенко Е. А., Кузина В. Н. Методы оценки эквивалентности профилей растворения: современный взгляд. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(2):145–150. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-2-145-150.
9. Зырянов С. К., Бутранова О. И., Раменская Г. В., Гильдеева Г. Н., Шохин И. Е. Оценка эквивалентности in vitro воспроизведенных препаратов бетагистина как инструмента, потенциально определяющего эффективность фармакотерапии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018;118(11):43–48. DOI: 10.17116/jnevro201811811143.

REFERENCES

1. Demina N. B. Biopharmaceutical classification system as a tool for the development of drug formulations and their designs. *Drug development & registration*. 2017;(2):56–60. (In Russ.)
2. Kroustali V., Kanioura L., Resoulai E., Siopi M., Antonopoulou S., Meletiadis J. Antifungal susceptibility testing and determination of local epidemiological cut-off values for *Candida* species isolated from women with vulvovaginal candidiasis. *Microbiology Spectrum*. 2025;13(3):e0248824. DOI: 10.1128/spectrum.02488-24.
3. Ongarbayeva N. S., Balgimbaeva A. S., Baimakhanova B. B., Sadanov A. K., Lakhk O. N., Orazymbet S. E., Trenozhnikova L. P., Berezin V. E., Bogoyavlenskiy A. P., Miralimova Sh. M. Pharmacotherapy for vulvovaginal candidiasis. *Microbiology and virology*. 2024;2(45):83–107. DOI: 10.53729/MV-AS.2024.02.06.
4. Druzhininskaya O. V., Smekhova I. E. Dissolution media used in development and quality control of drugs. *Drug development & registration*. 2017;3:144–150. (In Russ.)
5. Meleshko A. V., Volkova A. M., Tyukova V. S., Panov A. V., Kedik S. A. Development of the «Dissolution» test method for vaginal suppositories Pimafucin®. *Drug development & registration*. 2025;14(1):254–264. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1778.
6. Meleshko A. V. Determination of natamycin biopharmaceutical solubility. In: Horizons of biopharmaceuticals. Collection of scientific papers based on the materials of the IX International scientific and practical youth conference dedicated to the 89th anniversary of Kursk State Medical University. May 23, 2024. Kursk: Publishing house JSC "Universitetskaya kniga"; 2024. P. 271–273. (In Russ.)
7. Sheskey P. J., Hancock B. C., Moss G. P., Goldfarb D. J., editors. Handbook of pharmaceutical excipients – Ninth edition. New York: Pharmaceutical Press; 2020. 1400 p.
8. Shohin I. E., Bagaeva N. S., Malashenko E. A., Kuzina V. N. Method of Estimating the Equivalence of Dissolution Profiles: a Modern View. *Drug development & registration*. 2020;9(2):145–150. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-2-145-150.
9. Zyryanov S. K., Butranova O. I., Ramenskaya G. V., Gildeeva G. N., Shohin I. E. *In vitro* equivalence evaluation of betahistine generic medicinal products as a tool potentially determining the efficacy of pharmacotherapy. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2018;118(11):43–48. DOI: 10.17116/jnevro201811811143.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.322; 615.014.21

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2194

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка технологии получения комбинированного гепатопротекторного средства

И. Е. Каухова✉, О. Н. Абросимова, Б. А. Перес, Н. Ю. Сипкина, Е. К. Новикова, И. Е. Смехова, А. Л. Марченко

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

✉ **Контактное лицо:** Каухова Ирина Евгеньевна. **E-mail:** irina.kaukhova@pharminnotech.com

ORCID: И. Е. Каухова – https://orcid.org/0000-0002-0896-6956;
О. Н. Абросимова – https://orcid.org/0000-0002-0274-0139;
Б. А. Перес – https://orcid.org/0000-0001-9917-9538;
Н. Ю. Сипкина – https://orcid.org/0000-0001-7501-825;
Е. К. Новикова – https://orcid.org/0000-0002-2602-0697;
И. Е. Смехова – https://orcid.org/0000-0002-0013-4784;
А. Л. Марченко – https://orcid.org/0000-0002-8049-6207.

Статья поступила: 02.10.2025 **Статья принята в печать:** 22.10.2025 **Статья опубликована:** 24.10.2025

Резюме

Введение. Одной из широких групп лекарств, применяемых в рамках комплексной терапии на разных стадиях поражения печени, являются гепатопротекторы. В клинической практике они применяются в виде отдельных препаратов или в комбинациях. Комбинированный препарат определяется как препарат, содержащий два или больше активных биологических вещества, которые действуют комплексно в организме человека при использовании для профилактики и лечения заболеваний или для восстановления и поддержания состояния здоровья. Комбинированные препараты применяются для повышения эффективности лечения, уменьшения побочных эффектов, упрощения приема лекарственных препаратов или помощи при одновременном лечении нескольких симптомов. Наиболее часто в комбинациях изучаются и применяются следующие хорошо известные гепатотропные средства: эссенциальные фосфолипиды, глицирризиновая кислота, урсодезоксихолевая кислота (УДХК), силимарин. Следует отметить, что хотя фармакологическое действие УДХК и препаратов расторопши изучено хорошо, однако технологических исследований по созданию комбинированных лекарственных средств на их основе не проводилось.

Цель. Разработка технологии получения комбинированного гепатопротекторного средства в виде твердых кишечнорастворимых желатиновых капсул с гранулами, содержащими в качестве активных субстанций УДХК и сухой экстракт расторопши пятнистой в виде твердой дисперсной системы.

Материал и методы. В качестве субстанций в состав разрабатываемого комбинированного препарата гепатопротекторного действия входит УДХК и твердая дисперсная система сухого экстракта расторопши (ТДС СЭР). Твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы наполняли гранулами, содержащими ТДС СЭР и УДХК, с помощью настольной ручной капсулонаполняющей машинки ProFiller 3600, размер капсул – 2. Было наработано 3 серии твердых желатиновых капсул с гранулами ТДС СЭР и УДХК. Проведена стандартизация капсул в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации (ГФ РФ) XV издания, ОФС.1.4.1.0005 «Капсулы», по показателям: описанию, подлинности, количественному содержанию суммы флаволигнанов в пересчете на силибин, количественному содержанию УДХК, однородности массы, распадаемости и растворению.

Результаты и обсуждение. При разработке состава гранул с ТДС СЭР и УДХК методом влажной грануляции в качестве вспомогательных веществ использовали микрокристаллическую целлюлозу (МКЦ) или крахмал как дезинтегратор, магния стеарат как лубрикант, в качестве связующего вещества – 5%-й водный раствор картофельного крахмала. Сравнивали полученные составы по показателям качества и по технологическим свойствам. Было установлено, что гранулы, в состав которых входит МКЦ, имеют лучшие технологические свойства: потерю в массе при высушивании, степень гигроскопичности, насыпную плотность, индекс Карра, коэффициент Хауснера, сыпучесть. Для капсул с гранулами ТДС СЭР и УДХК определены показатели качества, они стандартизованы в соответствии с ОФС «Капсулы» по показателям: описанию, подлинности, количественному содержанию суммы флавоноидов в пересчете на силибин,

© Каухова И. Е., Абросимова О. Н., Перес Б. А., Сипкина Н. Ю., Новикова Е. К., Смехова И. Е., Марченко А. Л., 2025
© Kauhova I. E., Abrosimova O. N., Perez B. A., Sipkina N. Y., Novikova E. K., Smekhova I. E., Marchenko A. L., 2025

количественному содержанию УДХК, однородности массы дозированных лекарственных форм, распадаемости, растворению. При выполнении теста «Растворение» определяли высвобождение силибина и УДХК к 30, 45 и 60 мин. Высвобождение силибина контролировали спектрофотометрически при длине волны λ = 289 нм, высвобождение УДХК – методом ВЭЖХ в соответствии с фармакопеей США USP 44 – NF 39. Установлено, что за 45 мин высвободилось 89,0 ± 0,5 % силибина и 97,0 ± 0,3 % УДХК.

Заключение. Разработан состав гранул с ТДС СЭР и УДХК, где в качестве дезинтегранта использована МКЦ, лубриканта – магния стеарат, связующего вещества – 5%-й водный раствор картофельного крахмала. Определены технологические свойства гранул и показатели качества. Разработана технология получения кишечнорастворимых капсул, наполненных гранулами, содержащими ТДС СЭР и УДХК. Определены показатели качества, и капсулы стандартизованы по ОФС «Капсулы» по показателям: описанию, подлинности, количественному содержанию суммы флавоноидов в пересчете на силибин (методом УФ спектроскопии), количественному содержанию УДХК (методом ВЭЖХ), однородности массы дозированных лекарственных форм, распадаемости, растворению. Изучены профили высвобождения активной фармацевтической субстанции из кишечнорастворимых капсул и установлено, что к 45 мин высвободилось 89,0 ± 0,5 % суммы флаволигнанов в пересчете на силибин и 97,0 ± 0,3 % УДХК, что соответствует требованиям ГФ РФ XV.

Ключевые слова: комбинированное гепатопротекторное средство, урсодезоксихолевая кислота, твердая дисперсная система сухого экстракта расторопши, твердые кишечнорастворимые желатиновые капсулы

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

Вклад авторов. И. Е. Каухова осуществила постановку задачи. Б. А. Перес выполнил эксперимент, обработку полученных данных. Н. Ю. Сипкина провела экспериментальную работу по определению УДХК в образцах. Б. А. Перес, И. Е. Каухова, О. Н. Абросимова, Н. Ю. Сипкина, Е. К. Новикова, И. Е. Смехова, А. Л. Марченко участвовали в планировании и обсуждении результатов исследования и интерпретации полученных данных, написании текста статьи.

Для цитирования: Каухова И. Е., Абросимова О. Н., Перес Б. А., Сипкина Н. Ю., Новикова Е. К., Смехова И. Е., Марченко А. Л. Разработка технологии получения комбинированного гепатопротекторного средства. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):90–100. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2194

Development of a technology for a combined hepatoprotective agent

Irina E. Kauhova✉, Olesya N. Abrosimova, Byron A. Perez, Nadezhda Y. Sipkina, Ekaterina K. Novikova, Irina E. Smekhova, Alexei L. Marchenko

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Irina E. Kauhova. **E-mail:** irina.kaukhova@pharminnotech.com

ORCID: Irina E. Kauhova – https://orcid.org/0000-0002-0896-6956;
Olesya N. Abrosimova – https://orcid.org/0000-0002-0274-0139;
Byron A. Perez – https://orcid.org/0000-0001-9917-9538;
Nadezhda Y. Sipkina – https://orcid.org/0000-0001-7501-825;
Ekaterina K. Novikova – https://orcid.org/0000-0002-2602-0697;
Irina E. Smekhova – https://orcid.org/0000-0002-0013-4784;
Alexei L. Marchenko – https://orcid.org/0000-0002-8049-6207.

Received: 02.10.2025 **Accepted:** 22.10.2025 **Published:** 24.10.2025

Abstract

Introduction. Hepatoprotectors are one of the broad drug groups used in complex therapy at different stages of liver damage. In clinical practice, hepatoprotective agents are used in form of individual or combined drugs. A combined drug is defined as a preparation containing two or more active biological substances that act together in the human body to prevent and treat diseases or to restore and maintain health. Combined drugs are used to increase the treatment effectiveness, reduce side effects, simplify medication intake, or help to treat multiple symptoms at the same time. Often the following well-known hepatotropic agents are most studied and used in combinations: essential phospholipids, glycyrrhizic acid, ursodeoxycholic acid and silymarin. It should be noted that although the pharmacological action of ursodeoxycholic acid and milk thistle preparations has been well studied, no technological research has been conducted to create combined medicines based on them.

Aim. Development of a technology for a combined hepatoprotective agent in form of solid enteric-soluble gelatin capsules with granules containing ursodeoxycholic acid and milk thistle dry extract in form of a solid dispersion system as active substances.

Material and methods. Ursodeoxycholic acid and the solid dispersion system of milk thistle dry extract are included as substances in the formulation of the combined hepatoprotective drug. Solid intestinal-soluble gelatin capsules were filled with granules containing a solid dispersion system of milk thistle dry extract and ursodeoxycholic acid using a ProFiller 3600 desktop manual capsule filling machine, capsule size "2". 3 series of solid gelatin capsules with granules were developed. The capsules standardization was carried out in accordance with the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition. The following indicators were determined: description, authenticity, quantitative content of the amount of flavolignans in terms of silybin, quantitative content of ursodeoxycholic acid, mass uniformity of dosage forms, disintegration and dissolution.

Results and discussion. The granules formulation was developed by wet granulation, microcrystalline cellulose as disintegrator, magnesium stearate as lubricant, and 5 % aqueous solution of potato starch were used as excipients. The obtained formulations were compared in terms of quality and technological properties. It was found that granules containing microcrystalline cellulose have the best technological properties, such as weight loss during drying, hygroscopicity, bulk density, Carr index, Hausner coefficient, flowability. For capsules with granules, quality indicators were determined and standardized according to the POA (pharmacopeia official article) "Capsules" in terms of quality indicators: description, authenticity, quantitative content of the amount of flavonoids in terms of silybin, quantitative content of ursodeoxycholic acid, mass uniformity of dosage forms, disintegration and dissolution. When performing the "Dissolution" test, the release of silybin and UDCA was determined in 30, 45 and 60 minutes. The release of silybin was monitored by spectroscopy at a wavelength of λ = 289 nm and the release of ursodeoxycholic acid by high–performance liquid chromatography (HPLC) in accordance with the US pharmacopoeia, USP 44 – NF 39. It was determined that 89.0 ± 0.5 % of silybin was released in 45 minutes, during which time 97.0 ± 0.3 % of ursodeoxycholic acid was released.
Conclusion. The granules formulation with a solid dispersion system of milk thistle dry extract and ursodeoxycholic acid has been developed. Microcrystalline cellulose is used as disintegrant, magnesium stearate as lubricant, and 5% aqueous solution of potato starch as binder. The technological properties of the granules and quality indicators are determined. The technology of intestinal-soluble capsules filled with granules has been developed. The quality indicators were determined and standardized according to quality indicators: description, authenticity, quantitative content of the amount of flavonoids in terms of silybin (by UV spectroscopy), quantitative content of ursodeoxycholic acid (by HPLC), mass uniformity of dosage forms, disintegration and dissolution. The releasing profiles of the active pharmaceutical substance from enteric capsules were studied and it was found that 89.0 ± 0.5 % of the amount of flavolignans in terms of silybin and 97.0 ± 0.3 % of ursodeoxycholic acid were released by 45 minutes, respectively, which meets the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition.

Keywords: combined hepatoprotective agent, ursodeoxycholic acid, solid dispersion system of milk thistle dry extract, hard enteric gelatin capsules

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. Irina E. Kaukhova carried out the task statement. Byron A. Perez performed the experiment and processed the data obtained. Nadezhda Y. Sipkina conducted experimental work to determine ursodeoxycholic acid in samples. Byron A. Perez, Irina E. Kaukhova, Olesya N. Abrosimova, Nadezhda Y. Sipkina, Ekaterina K. Novikova, Irina E. Smekhova and Alexei L. Marchenko participated in the planning and discussion of the results, the data interpretation and the writing of this paper.

For citation: Kauhova I. E., Abrosimova O. N., Perez B. A., Sipkina N. Y., Novikova E. K., Smekhova I. E., Marchenko A. L. Development of a technology for a combined hepatoprotective agent. *Drug development & registration*. 2025;14(4):90–100. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2194

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в гепатотропной терапии широко используются комбинированные пероральные лекарственные средства, содержащие действующие вещества, оказывающие комплексное воздействие при защите и восстановлении печени на ранних стадиях заболевания [1].

Комбинированный препарат определяется как препарат, содержащий два или больше активных биологических вещества, которые в организме человека действуют комплексно при использовании для профилактики и лечения заболеваний или для восстановления и поддержания состояния здоровья. Комбинированные препараты применяются для повышения эффективности лечения, уменьшения побочных эффектов, упрощения приема лекарств или помощи при одновременном лечении нескольких симптомов [1, 2].

Одним из перспективных направлений является разработка лекарственных средств, в состав которых включена урсодезоксихолевая кислота (УДХК). Для повышения эффективности представляет интерес ее комбинирование с гепатотропным средством растительного происхождения – сухим экстрактом расторопши пятнистой плодов (СЭР) [3–9].

Субстанция экстракта расторопши силибинин обладает плохой биодоступностью, что обусловлено, в частности, кристаллическим состоянием и низкой растворимостью в воде при комнатной температуре флаволигнанов силимарина, а также их плохой абсорбцией [10, 11]. По этой причине он относится к четвертому классу БКС и, следовательно, демонстрирует ограниченную биодоступность из лекарственных препаратов. Для повышения растворимости сухого экстракта расторопши была разработана твердая дисперсная система (ТДС), позволившая повы-

сить биодоступность фитосубстанции за счет увеличения степени высвобождения силибина из ТДС экстракта в 3 раза по сравнению с контрольным образцом СЭР [12, 13].

Следует отметить, что, хотя фармакологическое действие УДХК и препаратов расторопши изучено хорошо, технологических исследований по созданию комбинированных лекарственных средств на их основе не проводилось.

В связи с вышеизложенным **целью данного исследования** явилась разработка технологии получения комбинированного гепатопротекторного средства в виде твердых кишечнорастворимых желатиновых капсул с гранулами, содержащими в качестве активных субстанций урсодезоксихолевую кислоту и сухой экстракт расторопши пятнистой в виде твердой дисперсной системы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектами исследования служили твердая дисперсная система сухого экстракта расторопши (ТДС СЭР), разработанная на кафедре промышленной технологии лекарственных препаратов им. Ю. К. Сандера ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России [12], субстанция УДХК (Zhongshan Belling Biotechnology Co., Ltd., Китай) и вспомогательные вещества: микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) (марка 102, CAS № 9004-34-6, ООО «ПраймКемикалсГрупп», Россия), стеарат магния (CAS № 557-04-0, ООО «ПраймКемикалсГрупп», Россия), крахмал картофельный (CAS № 9005-25-8, ООО «ПраймКемикалсГрупп», Россия). В качестве готовой лекарственной формы были выбраны голубые цилиндрические твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы размером 2 и длиной замка от 17,5 ± 0,7 мм (ООО «ФармаПак», Россия) на основе желатина, гипромеллозы фталата, диоксида титана и бриллиантового синего (Е133).

Методы и оборудование

1. Разработка состава и технологии получения гранул с ТДС СЭР и УДХК

Проведены исследования по разработке состава гранул, содержащих ТДС СЭР на основе поливинилпирролидон-винилацетата 64 – ПВПВА 64 в соотношении 1:10 и УДХК. В качестве вспомогательных веществ использовали МКЦ как дезинтегратор, магния стеарат как лубрикант, в качестве связующего вещества – 5%-й водный раствор картофельного крахмала. Исследуемые составы гранул представлены в таблице 1.

Компоненты, входящие в состав гранул, взвешивали на весах лабораторных CE224-C (ООО «Сартогосм», Россия) с точностью 0,001 г. В лабораторном смесителе объемом 0,5 л (Bosch GmbH, Германия) предварительно осуществляли смешение компонентов. Смесь порошков увлажняли достаточным количеством 5%-го водного раствора крахмала картофельного. Влажную массу гранулировали через сито-гранулятор с размером ячеек 3 мм, затем сушили до остаточной влажности 2 % в сушильном шкафу OF-12G (Jeio Tech, Корея) при температуре 50–55 °С. Высушенный гранулят калибровали через сито с размером ячеек 1 мм. Лубрикант (стеарат магния) просеивали через сито с размером ячеек 0,25 мм. Гранулят перемешивали с лубрикантом в лабораторном смесителе типа «пьяная бочка» (универсальный привод AR 403, ERWEKA GmbH, Германия) в течение 5 мин. Гранулы расфасовывали в маркированные стеклянные контейнеры темного стекла и хранили при комнатной температуре 25 ± 5 °С. В лабораторных условиях наработано по 100,0 г гранул состава № 1 и состава № 2.

Таблица 1. Составы исследуемых гранул

Table 1. Compositions of the studied granules

Содержание компонента на 1 капсулу, мг Component content per 1 capsule, mg	Состав Composition	
	№ 1	№ 2
ТДС сухого экстракта Solid dispersion of dry extract	180 ± 9	180 ± 9
УДХК Ursodeoxycholic acid	130 ± 7	130 ± 7
Крахмал картофельный Potato starch	13,3 ± 0,7	–
МКЦ Microcrystalline cellulose	–	13,3 ± 0,7
5%-й раствор крахмала картофельного 5% potato starch solution	6,03 ± 0,30	6,03 ± 0,30
Магния стеарат Magnesium stearate	0,67 ± 0,03	0,67 ± 0,03

2. Получение комбинированного средства с гранулами ТДС СЭР и УДХК в твердых кишечнорастворимых желатиновых капсулах

Твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы размером 2 наполняли гранулами с помощью настольной ручной капсулонаполняющей машинки ProFiller 3600 (Torpac Inc., США). Наполненные капсулы расфасовывали в маркированные банки из темного стекла, укупоривали натягиваемой крышкой и хранили при комнатной температуре 25 ± 5 °С. Было наработано 3 серии.

3. Исследование показателей качества гранул и капсул, наполненных гранулами

Показатели качества: ситовой анализ (лазерный анализатор размера частиц «Микросайзер-201С», Россия); насыпная плотность (тестер насыпной плотности SVM 221, ERWEKA GmbH, Германия); потеря в массе при высушивании (влагомер термогравимет-

рический инфракрасный «Эвлас-2М», Россия); гигроскопичность (климатическая камера HPP110, Memmert, Германия); однородность массы наполненных гранулами капсул в соответствии с ГФ РФ XV, ОФС.1.4.2.0009 «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

Анализы были проведены согласно методикам, приведенным в ГФ РФ XV[1].

Количественное определение флаволигнанов в пересчете на силибин проводили в соответствии с ГФ РФ XV (спектрофотометр СФ-2000, Россия), содержание УДХК определяли методом ВЭЖХ в соответствии с фармакопеей США USP 44 – NF 39 [14] (высокоэффективный жидкостной хроматограф с рефрактометрическим детектором Flexar, PerkinElmer, США).

4. Распадаемость капсул

Распадаемость наполненных капсул была определена по методике 1, описанной в ГФ XV, ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость твердых лекарственных форм»[2], при помощи тестера распадаемости ERWEKA ZT 221 (ERWEKA GmbH, Германия). Испытание проводилось в двух средах (кислой и буферной) по 6 единиц (капсул) при температуре 37,0 ± 0,5 °С. Капсулы помещались в кислую среду в 1000 мл раствора хлористоводородной кислоты с pH 1,0 ± 0,2, в течение указанного времени (не менее 1 ч) капсулы оставались неповрежденными. Затем удаляли кислую среду и капсулы помещали в буферную среду объемом 500 мл фосфатного буферного раствора с pH 6,8 ± 0,5, приготовленного по ОФС.1.3.0003 «Буферные растворы», капсулы должны распадаться в течение 60 мин.

5. Определение высвобождения силибина

Пробы испытуемого раствора по 5 мл отбирали через 30, 45 и 60 мин после начала испытания, отфильтровывали через мембранный фильтр PES с диаметром пор от 0,45 мкм (TRP, Швейцария). Оптическую плотность испытуемых проб измеряли на спектрофотометре при длине волны 289 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения использовался фосфатный буферный раствор с pH 6,85.

Определение содержания суммы флаволигнанов в пересчете на силибин в процентах (X) проводили с использованием величины удельного показателя поглощения силибина по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 500\,000}{A^{1\,\%}_{1\,\text{см}} \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; $A^{1\,\%}_{1\,\text{см}}$ – удельный показатель поглощения раствора силибина при длине волны 289 нм, равный 450; a – количество СЭР, содержащегося в каждой испытуемой капсуле, г; W – влажность гранулята, %.

6. Определение высвобождения УДХК

Количественное содержание УДХК определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В качестве подвижной фазы использовался свежеприготовленный раствор, содержащий ацетонитрил и раствор натрия дигидрофосфата (0,78 г/л) в соотношении 45 : 55 по объему.

Приготовление стандартного образца: 25 мг (точная навеска) стандарта УДХК (количественное содержание стандарта – 99,17 %) помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили объем раствора метанолом до метки. Затем 1 мл стандартного раствора УДХК помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили объем раствора подвижной фазой до метки (концентрация – 0,25 мг/мл).

Испытуемые растворы УДХК по 5 мл (пробы, отобранные через 30, 45 и 60 мин после начала испытания) помещали в стеклянные бюксы вместимостью 10 мл, затем пробы отфильтровывали через мембранный фильтр PES с диаметром пор от 0,45 мкм (TRP, Швейцария). В качестве стандартного образца использовали «Урсодиол Стандарт» (USP, серия R085U0).

Образцы стандартного и испытуемого образца по 2 мл проанализированы при следующих хроматографических условиях.

Колонка:	250 × 4,6 мм, 5 мкл, Intersil ODS-2 (силикагель октадецилсилильный эндкепированный для хроматографии).
Скорость потока:	1,0 мл/мин.
Температура колонки:	35 °С.
Детектор:	рефрактометрический.
Температура ячейки детектора:	35 °С.
Поляризация:	положительная.
Чувствительность детектора:	125.

Расчет количества УДХК, высвободившейся из капсул, проводили по формуле:

$$X = 100\,000(R_U/R_S)\,(C/W),$$

где X – УДХК, %; R_U – площадь пика испытуемого образца; R_S – площадь пика стандартного образца; C –

[1] Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/ Ссылка активна на 01.10.2025.

[2] Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. ОФС.1.4.2.0013 «Распадаемость твердых лекарственных форм». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-4/1-4-2/raspadaemost-tvyerdykh-lekarstvennykh-form-/ Ссылка активна на 01.10.2025.

концентрация стандартного образца; *W* – количество УДХК в капсуле, мг.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в соответствии с ГФ РФ XV, ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

При разработке технологии получения гранул с ТДС СЭР и УДХК был изучен ряд составов и определены показатели качества. Результаты представлены в таблице 2.

По результатам ситового анализа отмечено, что гранулы состава № 2 имеют меньший разброс по фракционному составу, поскольку 74,41 % гранул имеют размер частиц от 355 мкм до 1 мм, по сравнению с гранулами состава № 1, в которых 87,20 % гранул имеют размер частиц от 355 мкм до 1,4 мм. Результаты определения фракционного состава гранул представлены на рисунке 1.

Таким образом, установлено, что по показателям качества разработанные составы гранул соответствуют требованиям ГФ РФ XV. Однако гранулы состава № 2 обладают лучшими свойствами по следующим показателям: потере в массе при высушивании, степени гигроскопичности, насыпной плотности, степени сыпучести и фракционному составу. Гранулы состава № 2 были использованы в дальнейшем в технологии получения нового комбинированного лекарственного средства для гепатотропной терапии.

Твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы наполняли гранулами состава № 2. Определяли показатели качества полученных капсул с гранулами. Результаты представлены в таблице 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для комбинированного гепатопротекторного средства разработан состав гранул с ТДС сухого экстракта расторопши и УДХК, где в качестве дезинтегранта использована МКЦ, лубриканта – магния стеарат, связующего – 5%-й водный раствор картофельного крахмала. Определены технологические свойства и показатели качества гранул.

Разработана технология получения кишечнорастворимых капсул, наполненных гранулами, содержащими ТДС СЭР и УДХК. Определены показатели качества и капсулы стандартизованы по ОФС «Капсулы» по показателям качества: описанию, подлинности, количественному содержанию суммы флавоноидов в пересчете на силибин (методом УФ спектроскопии), количественному содержанию УДХК (методом ВЭЖХ), однородности массы дозированных лекарственных форм, распадаемости, растворению. Изучены профили высвобождения АФС из кишечнорастворимых капсул и установлено, что к 45 мин высвободилось 89,0 ± 0,5 % суммы флаволигнанов в пересчете на силибин и 97,0 ± 0,3 % УДХК соответственно, что соответствует требованиям ГФ РФ XV.

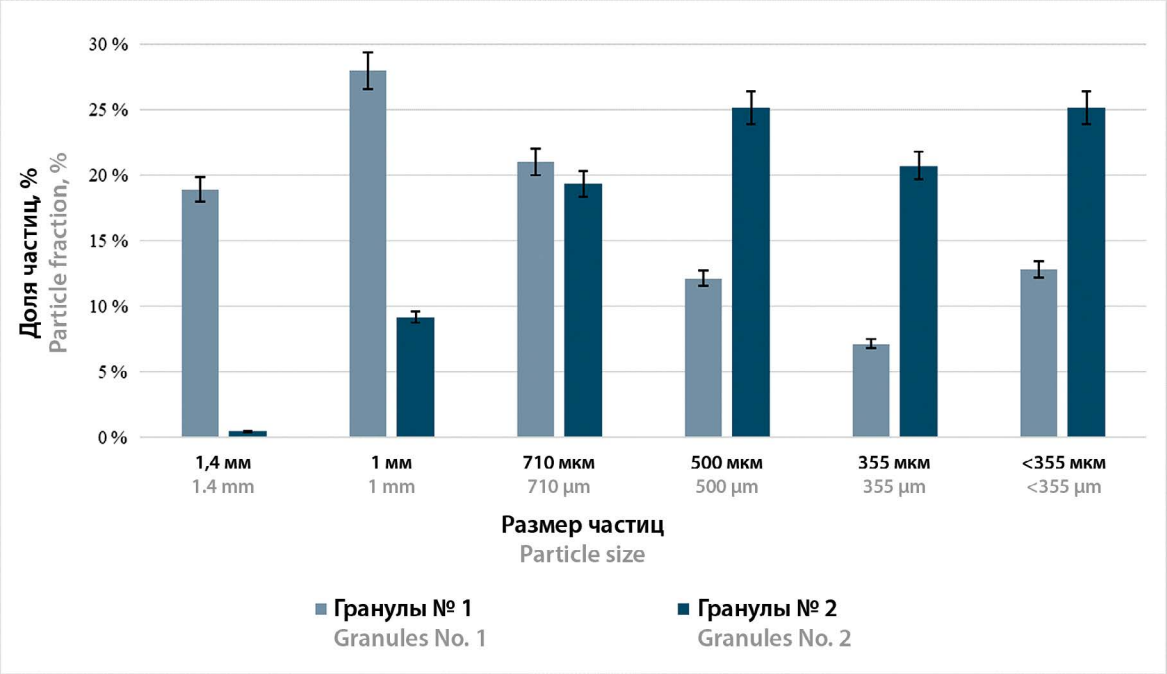


Рисунок 1. Результаты ситового анализа разработанных составов гранул

Figure 1. Results of sieve analysis of the developed granule compositions

Таблица 2. **Показатели качества гранул**

Table 2. **Quality indicators of granules**

Показатель Indicator	**Метод** Method	**Норма** Specification	**Экспериментальные значения** Results	
			Состав № 1 Composition № 1	**Состав № 2** Composition № 2
Описание Description	Визуально Visually	Гранулы светло-желтого цвета, круглой формы, без запаха Light yellow granules with round shape, odorless	Соответствует Match	Соответствует Match
Подлинность Authenticity	ТДС СЭР УФ-спектроскопия в видимой области, λ = 289 нм Solid dispersion milk thistle dry extract UV spectroscopy in the visible region, λ = 289 nm	УФ-спектр испытуемого раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны 289 ± 3 нм The UV spectrum of the test solution in the wavelength range from 250 to 330 nm should have an absorption maximum at wavelength of 289 ± 3 nm	Соответствует Match	Соответствует Match
	УДХК ВЭЖХ Ursodeoxycholic acid HPLC	Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО УДХК The retention time of the main peak in the chromatogram of the test solution should correspond to the retention time of the main peak in the chromatogram of the standard sample solution of ursodeoxycholic acid	Соответствует Match	Соответствует Match
Потеря в массе при высушивании, % Weight loss on drying, %	ОФС.1.2.1.0010 GM. 1.2.1.0010	Не более 5 % No more than 5 %	4,3 ± 0,2	3,3 ± 0,4
Гигроскопичность, % Hygroscopicity, %	ОФС.1.1.0042 GM.1.1.0042	Увеличение в массе не более 15 % Increase in weight no more than 15 %	4,16 ± 0,02	3,07 ± 0,50
Насыпная плотность, г/см^3 Bulk weight before compaction, g/cm^3	ОФС.1.4.2.0024 GM. 1.4.2.0024	–	0,64 ± 0,02	0,74 ± 0,04
Индекс Карра, % Carr index, %		–	12,3	9,76
Коэффициент Хауснера Hausner coefficient		-	1,14	1,11
Сыпучесть, с Flowability, s	ОФС.1.4.2.0016 GM.1.4.2.0016	–	2,30 ± 0,17	2,27 ± 0,15
Ситовой анализ, % Sieve analysis, %	ОФС.1.4.2.0032 GM.1.4.2.0032	Доля одной фракции не более 30 % The share of one fraction is no more than 30 %	Соответствует Match	Соответствует Match

Таблица 3. **Показатели качества капсул с гранулами**

Table 3. **Quality indicators of capsules with granules**

Показатель Indicator	**Метод** Method	**Норма** Specification	**Экспериментальные значения** Results
Описание Description	Визуально Visually	Одноцветные голубые капсулы цилиндрической формы, размер 2, с гранулами светло-желтого цвета внутри Single-color blue cylindrical capsules, size «2» with light yellow granules inside	
Подлинность Authenticity	ТДС СЭР ОФС.1.4.2.0014 УФ-спектроскопия в видимой области, λ = 289 нм Solid dispersion milk thistle extract GM. 1.4.2.0014 UV spectroscopy in the visible region, λ = 289 nm	УФ-спектр испытуемого раствора в области длин волн от 250 до 330 нм должен иметь максимум поглощения при длине волны 288 ± 3 нм The UV spectrum of the test solution in the wavelength range from 250 to 330 nm should have an absorption maximum at a wavelength of 288 ± 3 nm	Соответствует Match
	УДХК ВЭЖХ Ursodeoxycholic acid HPLC	Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО УДХК The retention time of the main peak in the chromatogram of the test solution should correspond to the retention time of the main peak in the chromatogram of the standard sample solution of ursodeoxycholic acid	Соответствует Match
Количественное содержание в капсуле в расчете на среднюю массу одной капсулы, мг Qualitive content in the capsule, counted by the main mass of one capsule, mg	ОФС.1.4.1.0005 GM.1.4.1.0005	ТДС СЭР 171–189 Solid dispersion milk thistle extract 171–189	Соответствует Match
		УДХК 124–136 Ursodeoxycholic acid 124–136	Соответствует Match
Однородность массы дозированных 6 лекарственных форм, % Mass uniformity of dosage forms, %	ОФС.1.4.2.0009 GM.1.4.2.0009	Допустимое отклонение 7,5 % Permissible desviation 7,5 %	Соответствует Match

Окончание таблицы 2

Показатель Indicator	**Метод** Method	**Норма** Specification	**Экспериментальные значения** Results
Распадаемость, мин Disintegration, min	ОФС.1.4.2.0013 GM.1.4.2.0013	Отсутствие повреждений в кислой среде с pH 1,0 в течение не менее 60 мин No damage in an acid medium with pH 1,0 for at least 60 min	Соответствует Match
		Распад в фосфатном буфере pH 6,8 в течение 60 мин Decomposition in phosphate buffer pH 6.8 for 60 min	Соответствует Match
Растворение, % Dissolution, %	СЭР УФ-спектроскопия в видимой области, λ = 289 нм Milk thistle extract UV spectroscopy in the visible region, λ = 289 nm	В кислой среде с pH 1,0 должно высвободиться не более 10 % ДВ через 120 мин In an acid medium with a pH of 1.0, no more than 10 % of the active substance should be released after 120 min	Соответствует Match
		В буферной среде с pH 6,8 должно высвободиться не менее 75 + 5 % ДВ через 45 мин In a buffer medium with pH 6.8, at least 75 + 5 % of the active substance should be released after 45 min	89,0 ± 0,5 % Соответствует 89,0 ± 0,5 % Match
	УДХК ВЭЖХ Ursodeoxycholic acid HPLC	В кислой среде должно высвободиться не более 10 % ДВ через 120 мин In an acidic environment with a pH of 1.0, no more than 10 % of the active substance should be released after 120 min	Соответствует Match
		В буферной среде с pH 6,8 должно высвободиться не менее 75 + 5 % ДВ через 45 мин In a buffer medium with pH 6.8, at least 75 + 5 % of the active substance should be released after 45 min	97,0 ± 0,3 % Соответствует 97,0 ± 0,3 % Match
Упаковка Package	В банках из темного стекла с натягиваемой крышкой In dark glass jars with pull-on lids		
Хранение Storage	В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С In a dry, dark place at a temperature not exceeding 25 °C		

ЛИТЕРАТУРА

1. Оковитый С. В., Райхельсон К. Л., Приходько В. А. Комбинированная гепатопротекторная фармакотерапия заболеваний печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2022;(7):5–20. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-5-20.
2. Pljevljakušic D., Bigović D., Janković T., Jelačić S., Šavikin K. Sandy Everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9:1123. DOI: 10.3389/fpls.2018.01123.
3. Gillessen A., Schmidt H. H.-J. Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. *Advances in Therapy*. 2020;37(4):1279–1301. DOI: 10.1007/s12325-020-01251-y.
4. Aziz M., Saeed F., Ahmad N., Ahmad A., Afzaal M., Hussain S., Mohamed A. A., Alamri M. S., Anjum F. M. Biochemical profile of milk thistle (*Silybum Marianum* L.) with special reference to silymarin content. *Food Science & Nutrition*. 2020;9(1):244–250. DOI: 10.1002/fsn3.1990.
5. Chen Q., Hu A., Ma A., Jiang F., Xiao Y., Chen Y., Huang R., Yang T., Zhou J. Effectiveness of Prophylactic Use of Hepatoprotectants for Tuberculosis Drug-Induced Liver Injury: A Population-Based Cohort Analysis Involving 6,743 Chinese Patients. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:813682. DOI: 10.3389/fphar.2022.813682.
6. Girish C., Pradhan S. C. Hepatoprotective activities of picroliv, curcumin, and ellagic acid compared to silymarin on carbon–tetrachloride–induced liver toxicity in mice. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2012;3(2):149–155. DOI: 10.4103/0976-500X.95515.
7. Torres González L., Waksman Minsky N., Muñoz Espinosa L. E., Salazar Aranda R., Pérez Meseguer J., Cordero Pérez P. In vitro assessment of hepatoprotective agents against damage induced by acetaminophen and CCl_4. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017;17(1):39. DOI: 10.1186/s12906-016-1506-1.
8. Yang L., Liu Q., Zhang H., Wang Y., Li Y., Chen S., Song G., Ren L. Silibinin improves nonalcoholic fatty liver by regulating the expression of miR-122: An *in vitro* and *in vivo* study. *Molecular Medicine Reports*. 2021;23(5):335. DOI: 10.3892/mmr.2021.11974.
9. Ou Q., Weng Y., Wang S., Zhao Y., Zhang F., Zhou J., Wu X. Silybin Alleviates Hepatic Steatosis and Fibrosis in NASH Mice by Inhibiting Oxidative Stress and Involvement with the Nf–κB Pathway. *Digestive Diseases and Sciences*. 2018;63(12):3398–3408. DOI: 10.1007/s10620-018-5268-0.
10. Christodoulou E., Kechagia I.-A., Tzimas S., Balafas E., Kostomitsopoulos N., Archontaki H., Dokoumetzidis A., Valsami G. Serum and tissue pharmacokinetics of silibinin after per OS and I.V. administration to mice as a HP–β–CD lyophilized product. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;493(1–2):366–373. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.07.060.
11. Safarpour S., Safarpour S., Moghadamnia A. A., Kazemi S., Ebrahimpour A., Shirafkan F. The protective effects of silymarin nanoemulsion on 5-fluorouracil-induced gastrointestinal toxicity in rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2023;31(8):101672. DOI: 10.1016/j.jsps.2023.06.005.
12. Перес Б. А., Каухова И. Е., Тернинко И. И., Абросимова О. Н., Вишняков Е. В., Пивоварова Н. С. Разработка твердой дисперсионной системы сухого экстракта расторопши методом удаления растворителя. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(1):151–159. DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1971.
13. Перес Б. А., Процюк А. П., Зеленцова А. Б., Каухова И. Е., Ароян М. В., Новикова Е. К. Разработка технологии получения фитосубстанции расторопши пятнистой плодов (*Silybum marianum* L.) в качестве компонента комплексной терапии заболеваний печени. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):101–110. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1582.
14. Sharma A., Nagalli S. Chronic Liver Diseases. Florida: StatPearls Publishing; 2023.

REFERENCES

1. Okovityi S. V., Raikhelson K. L., Prikhodko V. A. Combined hepatoprotective pharmacotherapy for liver disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;(7):5–20. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-203-7-5-20.
2. Pljevljakušic D., Bigović D., Janković T., Jelačić S., Šavikin K. Sandy Everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, Chemical and Biological. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9:1123. DOI: 10.3389/fpls.2018.01123.
3. Gillessen A., Schmidt H. H.-J. Silymarin as Supportive Treatment in Liver Diseases: A Narrative Review. *Advances in Therapy*. 2020;37(4):1279–1301. DOI: 10.1007/s12325-020-01251-y.
4. Aziz M., Saeed F., Ahmad N., Ahmad A., Afzaal M., Hussain S., Mohamed A. A., Alamri M. S., Anjum F. M. Biochemical profile of milk thistle (*Silybum Marianum* L.) with special reference to silymarin content. *Food Science & Nutrition*. 2020;9(1):244–250. DOI: 10.1002/fsn3.1990.
5. Chen Q., Hu A., Ma A., Jiang F., Xiao Y., Chen Y., Huang R., Yang T., Zhou J. Effectiveness of Prophylactic Use of Hepatoprotectants for Tuberculosis Drug-Induced Liver Injury: A Population-Based Cohort Analysis Involving 6,743 Chinese Patients. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:813682. DOI: 10.3389/fphar.2022.813682.
6. Girish C., Pradhan S. C. Hepatoprotective activities of picroliv, curcumin, and ellagic acid compared to silymarin on carbon–tetrachloride–induced liver toxicity in mice. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 2012;3(2):149–155. DOI: 10.4103/0976-500X.95515.
7. Torres González L., Waksman Minsky N., Muñoz Espinosa L. E., Salazar Aranda R., Pérez Meseguer J., Cordero Pérez P. In vitro assessment of hepatoprotective agents against damage induced by acetaminophen and CCl_4. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017;17(1):39. DOI: 10.1186/s12906-016-1506-1.
8. Yang L., Liu Q., Zhang H., Wang Y., Li Y., Chen S., Song G., Ren L. Silibinin improves nonalcoholic fatty liver by regulating the expression of miR-122: An *in vitro* and *in vivo* study. *Molecular Medicine Reports*. 2021;23(5):335. DOI: 10.3892/mmr.2021.11974.

9. Ou Q., Weng Y., Wang S., Zhao Y., Zhang F., Zhou J., Wu X. Silybin Alleviates Hepatic Steatosis and Fibrosis in NASH Mice by Inhibiting Oxidative Stress and Involvement with the Nf–κB Pathway. *Digestive Diseases and Sciences*. 2018;63(12):3398–3408. DOI: 10.1007/s10620-018-5268-0.
10. Christodoulou E., Kechagia I.-A., Tzimas S., Balafas E., Kostomitsopoulos N., Archontaki H., Dokoumetzidis A., Valsami G. Serum and tissue pharmacokinetics of silibinin after per OS and I.V. administration to mice as a HP–β–CD lyophilized product. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;493(1–2):366–373. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.07.060.
11. Safarpour S., Safarpour S., Moghadamnia A. A., Kazemi S., Ebrahimpour A., Shirafkan F. The protective effects of silymarin nanoemulsion on 5-fluorouracil-induced gastrointestinal toxicity in rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2023;31(8):101672. DOI: 10.1016/j.jsps.2023.06.005.
12. Perez B. A., Kauhova I. E., Terninko I. I., Abrosimova O. N., Vishnyakov E. V., Pivovarova N. S. Development of solid dispersion system from milk thistle dry extract by solvent method. *Drug development & registration*. 2025;14(1):151–159. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1971.
13. Peres B. A., Procyuk A. P., Zelencova A. B., Kauhova I. E., Aroyan M. V., Novikova E. K. Development of Technology of Phytosubstantiation of *Silybum marianum* L. Fruits as a Component of Complex Therapy of Liver Diseases. *Drug development & registration*. 2023;12(4):101–110. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1582.
14. Sharma A., Nagalli S. Chronic Liver Diseases. Florida: StatPearls Publishing; 2023.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.45

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2195

Check for updates

CC BY 4.0

Оптимизация технологических параметров получения липидных наночастиц как систем доставки лекарственных средств

Ю. М. Коцур[1, 2]✉, С. Д. Малков[1], К. О. Зарифи[1], К. А. Гусев[1, 2], Д. Н. Маймистов[1], Е. В . Флисюк[1], И. А. Наркевич[1]

[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 учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России). 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

✉ **Контактное лицо:** Коцур Юлия Михайловна. **E-mail:** uliya.kocur@spcpu.ru

ORCID: Ю. М. Коцур – https://orcid.org/0000-0001-9292-4240;
С. Д. Малков – https://orcid.org/0009-0002-5678-672X;
К. О. Зарифи – https://orcid.org/0009-0001-1190-5839;
К. А. Гусев – https://orcid.org/0000-0003-1922-3282;
Д. Н. Маймистов – https://orcid.org/0000-0001-8070-1699;
Е. В. Флисюк – https://orcid.org/0000-0001-8077-2462;
И. А. Наркевич – https://orcid.org/0000-0002-5483-6626.

Статья поступила: 02.10.2025 **Статья принята в печать:** 22.10.2025 **Статья опубликована:** 24.10.2025

Резюме

Введение. Генная терапия активно развивается благодаря использованию мРНК-агентов для лечения и профилактики различных заболеваний. Для проявления терапевтического эффекта необходимо доставить мРНК в клетки-мишени и вызвать синтез целевых белков. Основные задачи включают разработку безопасных и эффективных систем доставки. Критическими показателями качества для липидных наночастиц (ЛНЧ) являются средний размер частиц, индекс полидисперсности и значение ζ-потенциала.

Цель. Изучение и оптимизация условий сборки липидных наночастиц для управления их основными характеристиками.

Материалы и методы. Ионизируемый липид гептадекан-9ил(Z)-N-((4-диметиламино)бутил)тио)карбонил)-N-(2-(нон-2-ен-1-илокси)-2-оксоэтил)глицинат (ИЛ) и хелперные липиды – дипальмитоилглицерофосфат (DPPC), холестерол и a-(3′-[1,2-ди(миристилокси)пропанокси]карбониламино}пропил)-w-метоксиполиоксиэтилен (DMG-PEG2000). Растворители: абсолютный спирт, вода очищенная. Буферные растворы: ацетатный буферный раствор (pH 4,5), фосфатный буферный раствор (pH 7,4). Оборудование: микрофлюидная установка Dolomite (Dolomite Microfluidics, Великобритания), Y-образный полимерный микрофлюидный чип с пассивным микромиксером типа «катушка Тесла», анализатор наноразмерных частиц Nanosizer Zeta Pro (ООО «Микротрак», Россия).

Результаты и обсуждение. В рамках исследования было изучено воздействие критических параметров процесса, таких как общая скорость потока (ОСП) и соотношение скоростей потоков (ССП) на свойства ЛНЧ. Были проанализированы такие характеристики, как гидродинамический диаметр (Z-average), средний диаметр частиц (D50), индекс полидисперсности (ИПД, PDI) и ζ-потенциал. Исследование подтверждает, что при увеличении ССП средний гидродинамический и медианный размер частиц уменьшается. Увеличение ОСП также уменьшает гидродинамический и медианный размер частиц за счет гидродинамической фокусировки, но при ОСП = 3200 мкл/мин размер частиц увеличивается из-за снижения стабильности наноэмульсии и агрегации мелких частиц. В исследовании не выявлена прямая зависимость между FRR и ИПД. Наноэмульсии с ССП 1 : 3 и 1 : 4 показали наибольшую однородность. При увеличении ОСП полидисперсность наночастиц снижается. В исследовании не обнаружена зависимость ζ-потенциала липидных наночастиц от оцениваемых параметров процесса. Однако с увеличением ОСП наблюдается тенденция к повышению ζ-потенциала.

Заключение. В исследовании были оптимизированы условия сборки липидных наночастиц (ЛНЧ) с помощью микрофлюидного метода. Предложены математические модели для управления характеристиками наночастиц. Оптимальные условия получения ЛНЧ: ССП = 1 : 3; 1 : 4; ОСП от 2000 до 3000 мкл/мин. При использовании ССП = 1 : 5 и/или ОСП > 3000 мкл/мин показатели могут выйти за пределы оптимального диапазона, что требует дополнительной оценки рисков.

Ключевые слова: липидные наночастицы, критические показатели качества, микрофлюидный метод

© Коцур Ю. М., Малков С. Д., Зарифи К. О., Гусев К. А., Маймистов Д. Н., Флисюк Е. В., Наркевич И. А., 2025
© Kotsur Yu. M., Malkov S. D., Zarifi K. O., Gusev K. A., Maimistov D. N., Flisyuk E. V., Narkevich I. A., 2025

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

Вклад авторов. Ю. М. Коцур, С. Д. Малков, К. О. Зарифи, К. А. Гусев и Д. Н. Маймистов участвовали в планировании и выполнении экспериментальных работ. Е. В. Флисюк и И. А. Наркевич участвовали в обсуждении результатов. Все авторы участвовали в подготовке статьи.

Финансирование. Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 24-15-20026, https://rscf.ru/project/24-15-20026/, совместно с грантом Санкт-Петербургского научного фонда.

Для цитирования: Коцур Ю. М., Малков С. Д., Зарифи К. О., Гусев К. А., Маймистов Д. Н., Флисюк Е. В., Наркевич И. А. Оптимизация технологических параметров получения липидных наночастиц как систем доставки лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):101–107. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2195

Optimisation of technological parameters for production of lipid nanoparticles for delivery of mRNA

Yuliya M. Kotsur[1, 2]✉, Sergey D. Malkov[1], Kseniya O. Zarifi[1], Konstantin A. Gusev[1, 2], Denis N. Maimistov[1], Elena V. Flisyuk[1], Igor A. Narkevich[1]

[1] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[2] Almazov National Medical Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Akkuratova str., Saint-Petersburg, 197341, Russia

✉ **Corresponding author:** Yuliya M. Kotsur. **E-mail:** uliya.kocur@spcpu.ru

ORCID: Yuliya M. Kotsur – https://orcid.org/0000-0001-9292-4240;
Sergey D. Malkov – https://orcid.org/0009-0002-5678-672X;
Kseniya O. Zarifi – https://orcid.org/0009-0001-1190-5839;
Konstantin A. Gusev – https://orcid.org/0000-0003-1922-3282;
Denis N. Maimistov – https://orcid.org/0000-0001-8070-1699;
Elena V. Flisyuk – https://orcid.org/0000-0001-8077-2462;
Igor A. Narkevich – https://orcid.org/0000-0002-5483-6626.

Received: 02.10.2025 **Accepted:** 22.10.2025 **Published:** 24.10.2025

Abstract

Introduction. Gene therapy is actively developing through the use of mRNA agents for the treatment and prevention of various diseases. To manifest a therapeutic effect, it is necessary to deliver mRNA to target cells and induce the synthesis of target proteins. Key challenges include developing safe and efficient delivery systems. The critical quality attributes for lipid nanoparticles are average particle size, polydispersity index, and ζ potential.

Aim. To study and optimize the assembly conditions of lipid nanoparticles to control their basic characteristics.

Materials and methods. Ionizable lipid heptadecan-9yl(Z)-N-((4-dimethylamino)butyl)thio)carbonyl)-N-(2-(non-2-en-1-yloxy)-2-oxoethyl)glycinate (IL) and helper lipids – dipalmitoylglierophosphate (DPPC), cholesterol, and a-(3"-[1,2-di (myristyloxy) propanoxy]carbonylamino}propyl)-w-methoxypolyoxyethylene (DMG-PEG2000). Solvents: absolute alcohol, purified water. Buffer solutions: acetate buffer solution (pH 4.5), phosphate buffer solution (pH 7.4). Equipment: microfluidic installation Dolomite (Dolomite Microfluidics, Великобритания), Y-shaped polymer microfluidic chip with passive micromixer type "tesla coil", Nanosizer Zeta Pro nanoscale particle analyzer (LLC "Microtrack", Russia).

Results and discussion. The study examined the effects of TFR and FRR parameters on LNF properties. Characteristics such as hydrodynamic diameter (Z-average), average particle diameter (D50), polydispersity index (PDI) and ζ potential were analyzed. The study confirms that with increasing FRR, the average hydrodynamic and median particle sizes decrease. Increasing TFR also decreases Z-average and D50 through hydrodynamic focusing, but at TFR = 3200 µl/min, particle size increases due to decreased nanoemulsion stability and fine particle aggregation. The study did not reveal a direct relationship between FRR and PDI. Nanoemulsions with FRRs of 1 : 3 and 1 : 4 showed the greatest homogeneity. As TFR increases, the polydispersity of the nanoparticles decreases. In the study, the dependence of the ζ potential of lipid nanoparticles on the estimated process parameters was not found. However, as TFR increases, the ζ potential tends to increase.

Conclusion. In the study, the conditions for assembling lipid nanoparticles (LNP) using the microfluidic method were optimized. Mathematical models are proposed to control characteristics of nanoparticles. Optimal conditions for producing LNP: FRR = 1 : 3; 1 : 4; TFR 2000 to 3000 µL/min. If FRR = 1 : 5 and/or TFR > 3000 µL/min are used, the values may be outside the optimal range, which requires additional risk assessment.

Keywords: lipid nanoparticles, critical quality attributes, microfluidic method

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. Yuliya M. Kotsur, Sergey D. Malkov, Kseniya O. Zarifi, Konstantin A. Gusev and Denis N. Maimistov participated in the planning and implementation of experimental work. Elena V. Flisyuk, Igor A. Narkevich participated in the discussion of the results. All authors contributed to the paper.

Funding. The study was supported by grant No. 24-15-20026 from the Russian Science Foundation and the St. Petersburg Science Foundation, https://rscf.ru/project/24-15-20026/

For citation: Kotsur Yu. M., Malkov S. D., Zarifi K. O., Gusev K. A., Maimistov D. N., Flisyuk E. V., Narkevich I. A. Optimisation of technological parameters for production of lipid nanoparticles for delivery of mRNA. *Drug development & registration*. 2025;14(4):101–107. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2195

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одной из широко изучаемых областей генной терапии является применение мРНК-агентов для лечения и профилактики различных заболеваний. Для достижения терапевтического эффекта мРНК необходимо достигнуть клеток-мишеней и вызвать продукцию достаточного количества целевых белков. Обеспечение целенаправленной доставки мРНК, а также защита генотерапевтического агента от воздействия организма является важной задачей при разработке новых генотерапевтических лекарственных препаратов и требует создания безопасных и эффективных систем доставки [1].

Наиболее перспективными наноносителями, помимо вирусных векторов, являются липидные наночастицы (ЛНЧ), которые позволяют молекулам мРНК преодолевать биологические барьеры и защищают от воздействия внешних факторов, например нуклеаз. ЛНЧ способны осуществлять целенаправленную доставку терапевтических агентов в клетки-мишени с последующей ее интернализацией. Различные модификации, например включение ПЭГ-липидов, дополнительно позволяют снизить распознавание наноносителей мРНК иммунными клетками и клиренс при почечной фильтрации [2].

В настоящее время существуют разные способы получения ЛНЧ. Традиционными методами получения считаются: метод Бангхэма, метод инжекции растворителя, метод удаления детергента, обратнофазовое испарение и метод множественных/двойных эмульсий. К современным относятся микрофлюидные методы, сублимационная сушка, а также применение сверхкритических жидкостей [3].

Микрофлюидика – это технология управления потоками жидкости в каналах размером в десятки микрометров, при которой небольшие объемы жидкостей быстро смешиваются в микроканале, образуя наноразмерные везикулы с настраиваемой и воспроизводимой структурой, которые можно адаптировать для доставки лекарств [4]. Использование микрофлюидной технологии позволяет осуществлять получение наночастиц с помощью непрерывного процесса производства, используя только один тип оборудования. Данные преимущества в совокупности с возможностью контролировать критические показатели получаемых наночастиц за счет изменения параметров процесса открывают широкие возможности для оптимизации и масштабирования технологии, а также обеспечения устойчивого поведения наночастиц в процессе производства [4].

Несмотря на возросший интерес к использованию наноразмерных носителей в терапии различных заболеваний, технологические аспекты получения наночастиц при помощи микрофлюидных технологий остаются недостаточно изученными. Ряд исследователей освещает данный вопрос в научных работах, так, например, аналогичное исследование было проведено для нескольких ионизируемых липидов в разных композициях [5, 6]. Однако состав липидных смесей предполагает различия в условиях технологического процесса, что обуславливает необходимость проведения таких исследований для каждой новой композиции, которая будет использована в качестве носителя генотерапевтического лекарственного средства.

В ряде работ транслируются результаты изучения физико-химических свойств ЛНЧ для уже выбранных условий процесса, при этом порядок выбора и подробное изучение влияния технологических условий на свойства получаемых частиц не приводится [7, 8].

Данная проблема наиболее актуальна для новых методов получения наночастиц, в частности для микрофлюидного метода. Достижение и обеспечение оптимальных значений критических показателей качества (КПК) при разработке наноразмерных носителей оказывает значительное влияние на эффективность и безопасность лекарственных препаратов на их основе. Для ЛНЧ такими показателями являются средний размер частиц ≤300 нм, индекс полидисперсности (PDI) ≤0,3 и значение ζ-потенциала ≥|30| мВ [9].

Цель исследования: изучение и оптимизация условий сборки липидных наночастиц для управления их основными характеристиками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы ионизируемый липид гептадекан-9ил(Z)-N-((4-диметиламино)бутил)тио) карбонил)-N-(2-(нон-2-ен-1-илокси)-2-оксоэтил)глицинат (ИЛ) и хелперные липиды – дипальмитоилгли-

церофосфат (DPPC), холестерол и a-(3'-[1,2-ди(миристилокси)пропанокси]карбониламино}пропил)-w-метоксиполиоксиэтилен (DMG-PEG2000) (ShoChem Co., Ltd., Китай). Для приготовления липидной смеси ионизируемый и хелперные липиды растворяли в абсолютном спирте и смешивали в мольном соотношении 50:10:38,5:1,5 (ИЛ:DPPC:холестерин:DMG-PEG2000 соответственно). Соотношения липидов выбраны в качестве экспериментальных на основании данных литературы. В качестве компонентов водной фазы были использованы ацетатный буферный раствор (pH 4,5) и вода очищенная. Для нейтрализации pH получаемой наноэмульсии в приемник добавляли 100 мкл фосфатного буферного раствора (pH 7,4). В качестве липидной фазы использовали приготовленную ранее липидную смесь с концентрацией 4 мкг/мкл [14].

Для получения ЛНЧ микрофлюидным методом была использована микрофлюидная установка Dolomite (Dolomite Microfluidics, Великобритания). Смешивание жидких фаз проводилось на Y-образном полимерном микрофлюидном чипе с пассивным микромиксером типа «катушка Тесла».

Для оценки влияния параметров процесса на КПК при получении ЛНЧ использовали соотношения скоростей потоков (ССП, FRR) липидной и водной фаз 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 и следующие общие скорости потока (ОСП, TFR): 1200, 1700, 2200, 2700 и 3200 мкл/мин. Полученные ЛНЧ диализировали в течение 1 ч в фосфатном буферном растворе (pH = 7,4), затем образцы разбавляли до концентрации липидной фазы 0,3–0,4 мкг/мкл и анализировали по показателям «размер частиц» и PDI, ζ-потенциал. КПК оценивали с использованием анализатора наноразмерных частиц Nanosizer Zeta Pro (ООО «Микротрак», Россия). Для полученных данных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение по каждому КПК, выборка составляла не менее 6 значений.

Построение математической регрессионной модели проводили с помощью Google Colab.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основными преимуществами микрофлюидного метода являются высокая воспроизводимость от серии к серии и возможность проводить настройку параметров процесса таким образом, чтобы регулировать определенные показатели ЛНЧ [3]. В данном исследовании изучалось влияние критических показателей процесса (КПП), таких как ОСП и ССП, на критические показатели качества (КПК) ЛНЧ, а именно: гидродинамический размер частиц (Z-average), медианные значения размера частиц (D50), индекс полидисперсности (ИПД, PDI) и ζ-потенциал.

Полученные результаты по показателям Z-average и D50 представлены в таблицах 1 и 2.

Согласно литературным данным, ССП оказывает значительное влияние на размер наночастиц [5, 10]. Результаты исследования подтверждают, что для ЛНЧ, полученных микрофлюидным методом, характерно снижение среднего гидродинамического и медианного размера частиц при увеличении ССП. Аномаль-

Таблица 1. Изменение гидродинамического размера частиц (нм) в зависимости от ОСП (мкл/мин) и ССП

Table 1. Z-average variation (nm) by TFR (µl/min) and FRR

ОСП TFR / ССП FRR	1200	1700	2200	2700	3200
1:1	160,63 ± 42,45	195,55 ± 12,79	180,95 ± 7,03	154,22 ± 7,41	167,33 ± 5,81
1:2	4586,68 ± 1802,39	632,93 ± 41,73	849,15 ± 338,86	441,75 ± 116,16	683,80 ± 30,13
1:3	456,08 ± 15,50	123,13 ± 3,43	171,67 ± 5,09	180,18 ± 6,29	184,68 ± 4,32
1:4	157,77 ± 17,04	168,25 ± 6,90	201,10 ± 11,26	146,97 ± 8,17	141,32 ± 3,74
1:5	211,27 ± 72,10	214,90 ± 97,98	161,42 ± 13,22	223,68 ± 8,80	182,07 ± 23,40

Таблица 2. Изменение медианного значения размера частиц (нм) в зависимости от ОСП (мкл/мин) и ССП

Table 2. D50 Variation (нм) by TFR (µl/min) and FRR

ОСП TFR / ССП FRR	1200	1700	2200	2700	3200
1:1	133,47 ± 17,24	186,03 ± 20,06	166,15 ± 11,03	134,47 ± 18,48	147,82 ± 13,80
1:2	198,62 ± 29,43	528,53 ± 107,96	299,87 ± 48,51	288,38 ± 59,28	767,73 ± 249,55
1:3	420,03 ± 47,33	125,13 ± 9,12	174,18 ± 8,72	177,37 ± 10,66	187,70 ± 14,52
1:4	149,17 ± 16,89	167,73 ± 11,43	160,28 ± 7,48	161,20 ± 19,11	138,32 ± 10,38
1:5	175,03 ± 37,10	169,73 ± 22,88	154,88 ± 19,39	203,73 ± 31,13	156,02 ± 34,63

ные значения, полученные при ССП = 1 : 2, могут быть объяснены нестабильностью наноэмульсии и неполным смешением фаз. Помимо этого, полученные данные демонстрируют, что увеличение ОСП также приводят к уменьшению значений гидродинамического размера частиц и медианного значения размера за счет усиления эффекта гидродинамической фокусировки потока. При этом по достижении значения ОСП = 3200 мкл/мин наблюдается увеличение размера получаемых ЛНЧ. Предполагается, что это может быть связано с уменьшением стабильности наноэмульсии за счет образования более мелкой дисперсии и агрегацией более мелких частиц.

Литературные данные указывают на то, что ССП также оказывает влияние и на значение ИПД, отражающее однородность распределения получаемых ЛНЧ по размерам [5, 10]. Тем не менее в нашем исследовании не было обнаружено зависимости между значениями ССП и ИПД. Однако при значениях ССП 1 : 3 и 1 : 4 получаемые наноэмульсии характеризовались наибольшей однородностью распределения. Также было обнаружено, что при увеличении ОСП наблюдается снижение полидисперсности образующихся ЛНЧ.

Результаты измерений по показателю ИПД представлены в таблице 3.

Контроль значений ζ-потенциала является важной задачей при разработке ЛНЧ, поскольку данный КПК влияет на проникновение частицы в клетку за счет электростатического взаимодействия [11]. Отрицательный ζ-потенциал затрудняет трансфекцию ЛНЧ из-за одноименного поверхностного заряда мембраны клеток, однако высокие положительные значения приводят к возникновению цитотоксичности у получаемых частиц. Согласно литературным данным, значение ζ-потенциала при получении ЛНЧ в большей степени зависит от молярного содержания заряженных липидов в составе [12, 13]. Однако в данном исследовании больший интерес представляет оценка влияния технологических параметров на данный КПК.

По результатам исследования зависимость ζ-потенциала от оцениваемых параметров процесса не была обнаружена, однако при повышении ОСП наблюдается тенденция к увеличению ζ-потенциала образовавшихся ЛНЧ, что может указывать на формирование более устойчивых частиц. Важно отметить, что большинство полученных значений не превышает ±30 мВ, что ставит под сомнение долгосрочную коллоидную стабильность наночастиц, однако при этом может способствовать лучшему проникновению наночастиц в исследованиях *in vitro* (таблица 4).

Таким образом, было сформировано проектное поле оптимизации процесса получения с учетом влияния на характеристики образующихся ЛНЧ. Для достижения оптимальных значений КПК рекомендуется использовать ССП = 1 : 3 или 1 : 4 в сочетании с ОСП от 2700 до 3000 мкл/мин.

Для предсказания влияния оцениваемых параметров процесса на КПК за пределами проектного поля на основе полученных данных были построены ли-

Таблица 3. Изменение ИПД в зависимости от ОСП (мкл/мин) и ССП

Table 3. PDI change by TFR (µl/min) and FRR

ОСП TFR / ССП FRR	1200	1700	2200	2700	3200
1 : 1	0,287 ± 0,087	0,254 ± 0,037	0,181 ± 0,021	0,152 ± 0,045	0,175 ± 0,045
1 : 2	0,412 ± 0,058	0,250 ± 0,074	0,328 ± 0,009	0,361 ± 0,018	0,194 ± 0,103
1 : 3	0,088 ± 0,096	0,091 ± 0,014	0,090 ± 0,009	0,088 ± 0,018	0,095 ± 0,024
1 : 4	0,091 ± 0,080	0,115 ± 0,018	0,234 ± 0,037	0,165 ± 0,014	0,086 ± 0,021
1 : 5	0,300 ± 0,063	0,315 ± 0,058	0,264 ± 0,020	0,313 ± 0,018	0,294 ± 0,045

Таблица 4. Изменение ζ-потенциала (мВ) в зависимости от ОСП (мкл/мин) и ССП

Table 4. Change in ζ potential (mV) depending on TFR () and FRR

ОСП TFR / ССП FRR	1200	1700	2200	2700	3200
1 : 1	2,45 ± 2,97	–3,22 ± 7,06	–0,867 ± 12,79	–4,63 ± 7,97	13,68 ± 9,01
1 : 2	–3,05 ± 19,76	8,57 ± 13,39	16,07 ± 12,37	3,58 ± 15,94	12,55 ± 1,14
1 : 3	12,73 ± 9,26	24,28 ± 62,92	9,58 ± 2,41	14,92 ± 6,95	18,25 ± 14,99
1 : 4	14,82 ± 6,92	10,82 ± 6,48	13,33 ± 9,51	9,15 ± 5,61	8,65 ± 4,30
1 : 5	–0,67 ± 5,93	–2,67 ± 7,95	0,90 ± 6,03	–2,73 ± 6,32	–3,77 ± 4,15

нейные регрессионные математические модели зависимости рассматриваемых КПК от настраиваемых параметров процесса получения ЛНЧ микрофлюидным методом (1–3).

$$Z\text{-average} = 1925{,}7 - 139{,}9\ FRR - 0{,}5\ TFR, \quad (1)$$

$$D50 = 290{,}3 - 12{,}8\ FRR - 0{,}02\ TFR, \quad (2)$$

$$PDI = 0{,}260 - 2{,}648\ TFR. \quad (3)$$

Графическое отображение полученных регрессионных моделей представлено на рисунках 1–3.

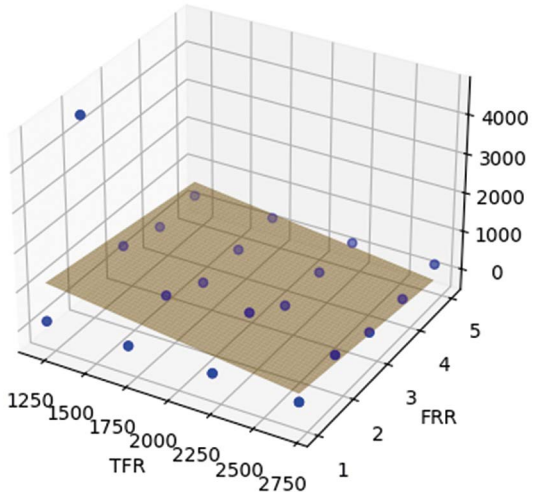


Рисунок 1. Графическая модель зависимости гидродинамического размера частиц от общей скорости потока и соотношения скоростей потоков

Figure 1. Graphical model of hydrodynamic particle size dependence on total flow rate and flow rate ratio

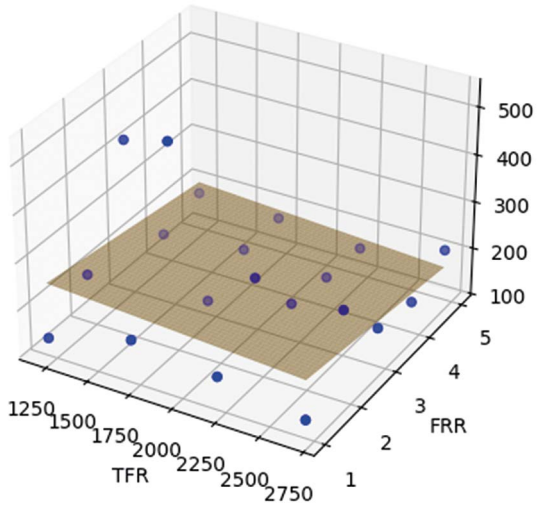


Рисунок 2. Графическая модель зависимости медианного размера частиц от общей скорости потока и соотношения скоростей потоков

Figure 2. Graphical model of median size dependence on total flow rate and flow rate ratio

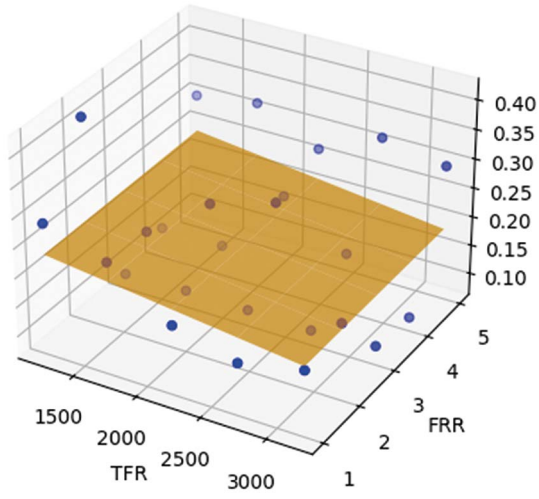


Рисунок 3. Графическая модель зависимости индекса полидисперсности от общей скорости потока и соотношения скоростей потоков

Figure 3. Graphical model of polydispersity index dependence on total flow rate and flow rate ratio

Анализ линейных регрессионных моделей показал, что для составления полной картины влияния ОСП и ССП на КПК ЛНЧ необходимо построение более сложных математических моделей. Кроме того, затруднена оценка совместного влияния ОСП и ССП, поскольку оказываемые ими эффекты сильно коррелируют друг с другом и могут приводить к возникновению ошибок. Однако данные регрессионные модели способствуют пониманию общих закономерностей, возникающих при изменении параметров процесса при получении ЛНЧ с использованием микрофлюидного метода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках проведенного исследования были изучены и оптимизированы условия сборки липидных наночастиц с использованием микрофлюидного метода, а также предложены математические модели для управления их основными характеристиками и прогнозирования поведения наночастиц при изменении параметров процесса. Условиями получения ЛНЧ, позволяющими достигать целевых значений КПК, являются сочетания ССП = 1:3; 1:4 и ОСП от 2000 до 3000 мкл/мин. В случае использования при получении ЛНЧ ССП = 1:5 и/или ОСП > 3000 мкл/мин увеличивается вероятность выхода показателей за пределы оптимального диапазона КПК образующихся наноносителей, что требует дополнительной оценки рисков и мониторинга при разработке.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hou X., Zaks T., Langer R. Dong Y. Lipid nanoparticles for mRNA delivery. *Nature Reviews Materials*. 2021;6:1078–1094. DOI: 10.1038/s41578-021-00358-0.
2. Zhu X., Tao W., Liu D., Wu J., Guo Z., Ji X., Bharwani Z., Zhao L., Zhao X., Farokhzad O. C., Shi J. Surface De-PEGylation Controls Nanoparticle-Mediated siRNA Delivery *In Vitro* and *In Vivo*. *Theranostics*. 2017;7(7):1990–2002. DOI: 10.7150/thno.18136.
3. Осочук С. С., Коцур Ю. М., Пожарицкая О. Н., Флисюк Е. В., Смехова И. Е., Малков С. Д., Зарифи К. О., Титович И. А., Красова Е. К., Шиков А. Н. Липосомы – метаболически активные транспортные системы лекарственных средств: классификация, составные компоненты, способы изготовления и стабилизации. Часть 1. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):60–77. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1867. [Osochuk S. S., Kotsur Yu. M., Pozharitskaya O. N., Flisyuk E. V., Smekhova I. E., Malkov S. D., Zarifi K. O., Titovich I. A., Krasova E. K., Shikov A. N. Liposomes – metabolically active drug transport systems: classification, components, preparation methods, and stabilization. Part 1. *Drug development & registration*. 2024;13(4):60–77. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1867.]
4. Osouli-Bostanabad K., Pulig S., Serrano D. R., Bucchi A., Halbert G., Lalatsa A. Microfluidic Manufacture of Lipid-Based Nanomedicines. *Pharmaceutics*. 2022;14(9):1940. DOI: 10.3390/pharmaceutics14091940.
5. Roces C. B., Lou G., Jain N., Abraham S., Thomas A., Halber G. W., Perrie Y. Manufacturing Consideration for the Development of Lipid Nanoparticles Using Microfluidics. *Pharmaceutics*. 2020;12(11):1095. DOI: 10.3390/pharmaceutics12111095.
6. Ripoll M., Martin E., Enot M., Robbe O., Rapisarda C., Nicolai M.-C., Deliot A., Tabeling P., Authelin J.-R., Nakach M., Wils P. Optimal self-assembly of lipid nanoparticles (LNP) in a ring micromicser. *Scientific Reports*. 2022;12:9483. DOI: 10.1038/s41598-022-13112-5.
7. Guimaraes P. P. G., Zhang R., Spektor R., Tan M., Chung A., Billingsley M. M., El-Mayta R., Riley R. S., Wang L., Wilson J. M., Mitchell M. J. Ionizable Lipid Nanoparticles Encapsulating Barcoded mRNA for Accelerated in Vivo Delivery Screening. *Journal of Controlled Release*. 2019;316;404–417. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.10.028.
8. Palanki R., Han E. L., Murray A. M., Maganti R., Tang S., Swingle K. L., Kim D., Yamagata H., Safford H. C., Mrksich K., Peranteau W. H., Mitchell M. J. Optimized microfluidic formulation and organic excipients for improved lipid nanoparticlemediated genome editing. *Lab on a Chip*. 2024;24:3790–3801. DOI: 10.1039/D4LC00283K.
9. Hidayat A. F., Wardhana Y. W., Suwendar S., Mohammed A. F. A., Mahmoud S. A., Elamin K. M., Wathoni N. A Review on QbD-Driven Optimization of Lipid Nanoparticles for Oral Drug Delivery: From Framework to Formulation. *International Journal of Nanomedicine*. 2025;20:8611–8651. DOI: 10.2147/IJN.S534137.
10. Gimondi S., Ferreira H., Reis R. L., Neves N. M. Microfluidic Devices: A Tool for Nanoparticle Synthesis and Performance Evaluation. *ACS Nano*. 2023;17(15):14205–14228. DOI: 10.1021/acsnano.3c01117.
11. Nel A. E., Mädler L., Velegol D., Xia T., Hoek E. M. V., Somasundaran P., Klaessig F., Castranova V., Thompson M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials*. 2009;8(7):543–557. DOI: 10.1038/nmat2442.
12. Smith M. C., Crist R. M., Clogston J. D., McNeil S. E. Zeta potential: a case study of cationic, anionic, and neutral liposomes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2017;409(24):5779–5787. DOI: 10.1007/s00216-017-0527-z.
13. Ефремова У. А., Чугунова П. А., Поникаровская Е. С., Тернинко И. И. Подходы к контролю качества носителей лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(3):108–122. DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-3-2075. [Efremova U. A., Chugunova P. A., Ponikarovskaya E. S., Terninko I. I. Approaches to quality control of drug carriers. *Drug development & registration*. 2025;14(3):108–122. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-3-2075.]
14. Schoenmaker L., Witzigmann D., Kulkarni J. A., Verbeke R., Kersten G., Jiskoot W., Crommelin D. J. A. mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: Structure and stability. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;601:120586. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.20586.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.45

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2148

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка поликомплексных носителей на основе гидроксипропилцеллюлозы и Carbopol® для гастроретентивной доставки лекарственных средств

У. Н. Заболотная, В. Р. Тимергалиева, Ш. Ф. Насибуллин, Р. И. Мустафин✉

Институт фармации, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 420126, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Фатыха Амирхана, д. 16

✉ **Контактное лицо:** Мустафин Руслан Ибрагимович. **E-mail:** ruslan.mustafin@kazangmu.ru

ORCID: У. Н. Заболотная – https://orcid.org/0009-0004-8058-8007;
В. Р. Тимергалиева – https://orcid.org/0000-0002-3690-8905;
Ш. Ф. Насибуллин – https://orcid.org/0000-0002-7255-8041;
Р. И. Мустафин – https://orcid.org/0000-0002-0916-2853.

Статья поступила: 22.07.2025 **Статья принята в печать:** 30.10.2025 **Статья опубликована:** 31.10.2025

Резюме

Введение. В результате исследования был изучен процесс образования интерполимерного комплекса (ИПК) между парами полимеров: гидроксипропилцеллюлозой (ГПЦ) и разными марками Carbopol® (71G, 971, 974) – при двух порядках смешения в среде этанола 95 % при pH = 3,5 (подкисленной 0,1 М HCl) методами турбидиметрии, ИК-спектроскопии, термогравиметрического анализа (ТГА). Проведенные эксперименты подтвердили образование поликомплекса между данными парами полимеров. По результатам исследований было выбрано оптимальное соотношение пары ГПЦ и Carbopol® 71G в стехиометричном эквимольном соотношении независимо от порядка их смешивания. С использованием метода модулированной дифференциально-сканирующей калориметрии (мДСК), была подтверждена совместимость изучаемых полимеров в составе образующегося поликомплекса. Согласно проведенному элементному анализу полученный ИПК имел стехиометрический состав ГПЦ / Carbopol® 71G 1 : 2 (по молям). Исследование набухаемости матриц, полученных на основе синтезированного ИПК, а также компактов из индивидуальных полимеров и их физической смеси состава, аналогичного поликомплексу, было проведено в среде, имитирующей желудочных сок, в сравнении с исходными компонентами. Изучение высвобождения ацикловира из полученных носителей также проводилось в среде 0,1 М HCl, результаты показали перспективность разработанной системы для создания носителя с направленным высвобождением лекарственных средств (ЛС) в модельную, имитирующую голодный желудок среду. Исследуемые образцы ИПК показали низкие мукоадгезивные свойства по сравнению с индивидуальными полимерами и их физической смесью. Разработка новых носителей для доставки ЛС является одним из ключевых направлений фармацевтической технологии. В связи с этим особое внимание уделяется веществам полимерной природы, носители на основе которых обеспечивают снижение побочных эффектов, повышение биодоступности и пролонгирования действия ЛС. Системы для гастроретентивной доставки представляют интерес при разработке новых лекарственных форм (ЛФ), позволяющих регулировать скорость высвобождения активного фармацевтического ингредиента (АФИ) в желудке.

Цель. Разработка поликомплексного носителя на основе гидроксипропилцеллюлозы с участием Carbopol® для гастроретентивной доставки ацикловира.

Материалы и методы. Подбор условий образования ИПК проводился с использованием методов турбидиметрии, ИК-спектроскопии, ТГА. Полученный оптимальный состав поликомплексного носителя был охарактеризован с использованием методов мДСК и ИК-спектроскопии. Изучение набухаемости матриц на основе синтезированного ИПК проводилось в среде, имитирующей желудочных сок. Изучение высвобождения ацикловира из полимерных матриц в среду растворения проводили по методу 1 «Вращающаяся корзинка» согласно Государственной фармакопее РФ XV издания. Мукоадгезия исследовалась на анализаторе текстуры TA.XTplus (Stable Micro Systems, Великобритания) на компактах из муцина.

Результаты и обсуждение. Формирование ИПК происходит посредством образования водородных связей между —OH-группами макромолекулярных звеньев линейной ГПЦ и —COOH-группами редкосшитой полиакриловой кислоты (рПАК) в составе используемых марок карбополов. Смещение характеристической полосы влево до 1730 $см^{-1}$ на ИК-спектрах поликомплексов подтверждает образование ИПК. ИПК характеризуются единственной температурой

© Заболотная У. Н., Тимергалиева В. Р., Насибуллин Ш. Ф., Мустафин Р. И., 2025
© Zabolotnaya U. N., Timergalieva V. R., Nasibullin S. F., Moustafine R. I., 2025

стеклования (T_c = 91,0 ± 2,1 °C). Элементный анализ выявил двухкратный мольный избыток редкосшитого полимера (Carbopol® 71G) над линейным (ГПЦ). На протяжении всего эксперимента по изучению кинетики набухаемости компактированные матрицы сохраняют свою форму, увеличиваясь в размерах. С использованием термического анализа образцов поликомплексных матриц в процессе оценки их набухаемости был проведен мониторинг возможных структурных преобразований, подтвердивший устойчивость поликомплекса в кислой среде. По результатам исследования кинетики высвобождения модельного АФИ максимальная концентрация ацикловира, перешедшего в среду, наблюдается на 30-й мин эксперимента и составляет 98,5 %. Тогда как для ГПЦ-матриц максимальная концентрация достигается по истечении 2 ч, а для матриц на основе Carbopol® 71G и их физической смеси (ФС) – только в заключительной части эксперимента. Синтезированный ИПК характеризовался низкой способностью к мукоадгезии к компактам из муцина по сравнению с индивидуальными полимерами и ФС.
Заключение. В результате исследования были подобраны оптимальные условия образования ИПК между парами полимеров – ГПЦ и изучаемыми марками Carbopol® (71G, 971 и 974). Методами турбидиметрии, ИК-спектроскопии и ТГА доказано образование поликомплексов на основе ГПЦ и различных марок Carbopol®. ИПК ГПЦ / Carbopol® 71G стехиометрического состава, подтвержденный элементным анализом, был охарактеризован с использованием термических и спектральных методов. Изучение высвобождения ацикловира из полученных матриц показало перспективность применения разработанной системы для пероральной гастроретентивной его доставки.

Ключевые слова: интерполимерные комплексы, производные целлюлозы, носители, контролируемая доставка, гидроксипропилцеллюлоза, производные редкосшитой полиакриловой кислоты, Carbopol®

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

Вклад авторов. У. Н. Заболотная осуществляла разработку методики ИПК-образования с участием различных пар полимеров, подбор параметров турбидиметрии и ИК-спектроскопии, их анализ, проводила оценку набухаемости и исследования по высвобождению ацикловира, а также обработку результатов и написание статьи. Ш. Ф. Насибуллин оказывал помощь в проведении исследования термическими методами, а также элементного анализа и консультировал по результатам экспериментов. В. Р. Тимергалиева оказывала техническую и консультационную помощь в процессе выполнения всех этапов исследования. Р. И. Мустафин принимал участие в концептуализации и разработке методологии настоящей работы, а также осуществлял рецензирование и корректировку статьи. Все вышеуказанные авторы принимали участие в написании статьи.

Благодарность. Исследование было выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (научный проект № 23-15-00263).

Для цитирования: Заболотная У. Н., Тимергалиева В. Р., Насибуллин Ш. Ф., Мустафин Р. И. Разработка поликомплексных носителей на основе гидроксипропилцеллюлозы и Carbopol® для гастроретентивной доставки лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):108–124. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2148

Development of polycomplex carriers based on hydroxypropyl cellulose and Carbopol® for gastroretentive drug delivery

Ulyana N. Zabolotnaya, Venera R. Timergalieva, Shamil F. Nasibullin, Rouslan I. Moustafine✉

Institute of Pharmacy. Kazan State Medical University. 16, Fatykha Amirkhan str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420126, Russia

✉ **Corresponding author:** Rouslan I. Moustafine. **E-mail:** ruslan.mustafin@kazangmu.ru

ORCID: Ulyana N. Zabolotnaya – https://orcid.org/0009-0004-8058-8007;
Venera R. Timergalieva – https://orcid.org/0000-0002-3690-8905;
Shamil F. Nasibullin – https://orcid.org/0000-0002-7255-8041;
Rouslan I. Moustafine – https://orcid.org/0000-0002-0916-2853.

Received: 22.07.2025 **Accepted:** 30.10.2025 **Published:** 31.10.2025

Abstract
Introduction. As a result of the study, the process of formation of interpolymer complex (IPC) between pairs of polymers was studied between hydroxypropyl cellulose (HPC) and different brands of Carbopol® 71G, 971, 974 at two mixing orders in 95 % ethanol at pH = 3,5 (acidified with 0,1 M HCl) by turbidimetry, IR-spectroscopy, thermogravimetric analysis (TGA). The performed experiments confirmed the formation of an interpolymer complex (IPC) between these pairs of polymers. According to the research results, the prospective ratio of a pair of HPC and Carbopol® 71G was selected in a stoichiometric equimolar ratio regardless of the mixing order. The compatibility of the studied polymers in the composition of the resulting polycomplex was confirmed, using the method of modulated differential scanning calorimetry (mDSC). The obtained IPC had a stoichiometric composition of Carbopol® 71G / HPC 2 : 1 (by moles), according to the elemental analysis. Swelling of matrices based on the synthesized IPC, as well as matrices from individual polymers and their physical mixture (PM), was carried out in a medium simulating stomach acid in comparison with the original polymers. The analysis of the of acyclovir release from the produced carriers was also carried out in a 0.1 M HCl media and showed the prospects of the developed system for creating a carrier with targeted release of drugs into a model environment simulating an empty stomach. The IPC samples showed low

mucoadhesive properties compared to individual polymers and their physical mixture. The development of new carriers for drug delivery is one of the key areas of pharmaceutical technology. In this regard, special attention is paid to polymeric substances, carriers based on which provide a reduction in side effects, increased bioavailability and prolongation of the drug action. Gastroretentive delivery systems are of interest in the development of new dosage forms that allow regulating the rate of release of the active pharmaceutical ingredient (API) in the stomach.

Aim. Development of a polycomplex carrier based on hydroxypropyl cellulose with Carbopol® for gastroretentive delivery of acyclovir.

Materials and methods. The selection of IPC – formation conditions was carried out using the methods of turbidimetry, IR-spectroscopy, and TGA. The obtained optimal polycomplex carrier composition was characterized using modulated differential scanning calorimetry (mDSC) and IR-spectroscopy. The swelling of the matrices based on the synthesized polycomplex was studied in an environment that imitating stomach acid. The acyclovir release from the resulting matrices was studied in modeling media using method 1 (USP I) "basket method". Mucoadhesion was studied using a TA.XTplus texture analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, UK) on mucin compacts.

Results and discussion. The formation of IPC occurs through the formation of hydrogen bonds between the —OH groups of macromolecular units of linear HPC and —COOH groups of rare-crosslinked polyacrylic acid (rPAA) in the composition of the used brands of Carbopol's. The leftward shift of the characteristic band to 1730 cm^{-1} in the FTIR spectra of the polycomplexes confirms the formation of IPCs. The IPCs are characterised by a single glass transition temperature (T_g = 91,0 ± 2,1 °C). Elemental analysis revealed a two-fold molar excess of the rare cross-linked polymer (Carbopol® 71G) over the linear one (HPC). Throughout the entire experiment to study the kinetics of swelling, the compacted matrices retain their shape, increasing in size. Monitoring of possible structural transformations was carried out, using thermal analysis of samples of polycomplex matrices in the process of assessing their swelling, to confirm the stability of the polycomplex in an acidic environment. According to the results of the model API release kinetics, the maximum concentration of acyclovir released into the media is observed at 30 minutes of the experiment and equal 98.5 %. Whereas for HPC matrices, the maximum concentration is achieved after 2 hours, and for matrices based on Carbopol® 71G and their PM only in the final part of the experiment. The synthesized IPC was characterized by low mucoadhesion capacity on mucin compacts compared to individual polymers and the PM.

Conclusion. As a result of the study, optimal conditions for IPC – formation between pairs of polymers HPC and different brands of Carbopol® (71G, 971 and 974) were selected. Turbidimetry, IR-spectroscopy and TGA methods proved the formation of polycomplexes based on HPC and various brands of Carbopol®. The IPC HPC / Carbopol® 71G of stoichiometric composition, confirmed by elemental analysis, was characterized using thermal and spectral methods. The study of the release of acyclovir from the obtained matrices has shown the promise of using the developed systems for oral gastroretentive delivery.

Keywords: interpolymer complexes, cellulose derivatives, carriers, controlled delivery, hydroxypropyl cellulose, derivatives of crosslinked polyacrylic acid, Carbopol®

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. Ulyana N. Zabolotnaya carried out the development of the methodology of IPC – formation of different pairs of polymers, selection of turbidimetry and IR spectroscopy parameters, their analysis, swelling estimation and studies on the release of acyclovir, as well as processing of the results and writing of the article. Shamil F. Nasibullin assisted in thermal methods of analysis as well as elemental analysis and advised on the results of experiments. Venera R. Timergalievaprovided technical and consulting assistance in all stages of the study. Rouslan I. Moustafine participated in the conceptualisation and methodology of the present work and reviewed and corrected the paper. All the above-mentioned authors participated in writing the article.

Acknowledgment. The research was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (scientific project № 23-15-00263).

For citation: Zabolotnaya U. N., Timergalieva V. R., Nasibullin S. F., Moustafine R. I. Development of polycomplex carriers based on hydroxypropyl cellulose and Carbopol® for gastroretentive drug delivery. *Drug development & registration*. 2025;14(4):108–124. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2148

ВВЕДЕНИЕ

Интерполимерные комплексы (ИПК) представляют собой уникальные и достаточно упорядоченные структуры, образующиеся между двумя полимерными цепями благодаря межмакромолекулярным взаимодействиям. Одним из наиболее распространенных типов подобных взаимодействий является образование кооперативной системы водородных связей, стабилизирующих образующийся ИПК. Результатом является формирование поликомплексов, уникальные свойства которых отличны от свойств исходных полимеров и поддаются коррекции в необходимом направлении [1–3]. ИПК-образование позволяет соз-

давать новые материалы, обладающие отличными от исходных полимеров физико-химическими свойствами, влияя на их растворимость, вязкость и адгезионную способность. Исследование носителей на основе ИПК имеет важное значение для различных областей фармацевтической технологии. Данные поликомплексы обладают рядом преимуществ, включая направленную доставку ЛС, а также обеспечивают модифицированное высвобождение активных фармацевтических ингредиентов (АФИ), что позволяет повысить эффективность фармакотерапии при различных заболеваниях [4, 5].

Производные целлюлозы характеризуются выраженными протон-акцепторными свойствами, позволяющими вступать в реакцию ИПК-образования с протон-донорными макромолекулами по донорно-акцепторному механизму с образованием водородных связей между гидроксильной группой (—OH) производного целлюлозы и карбоксильной группой (—COOH) производных рПАК, выпускаемых под торговой маркой Carbopol® [4, 6, 7]. Важнейшим фактором, влияющим на формирование ИПК, является pH среды. Реакционная способность комплементарных полимеров увеличивается при низких значениях pH, так как карбоксильные группы рПАК в составе Carbopol® находятся в протонированном состоянии. Стабильный ИПК образуется при $pH < pH_{кр}$ (индивидуального для каждой пары реагирующих макромолекул). Когда значение pH реакционной среды оказывается выше $pH_{кр}$, карбоксильные группы начинают ионизироваться и теряют способность к образованию межмакромолекулярных водородных связей, в результате чего и происходит разрушение поликомплекса на составляющие его полимеры [8–13].

Системы доставки на основе ИПК являются перспективным направлением в разработке современных ЛФ: пленки [14–20], микро- и наночастицы [16, 21–26], таблетки [27–32], а также гели [25, 33–36].

В данной работе нами впервые были получены поликомплексы в среде подкисленного этанола. Применение полярного органического растворителя позволило за счет увеличения концентраций реагирующих макромолекул повысить выход ИПК, что является определяющим при возможном последующем производстве поликомплексного носителя. Для разработки интерполимерного носителя нами были выбраны ГПЦ и Carbopol®, как полимеры фармацевтического назначения для получения ИПК, и ацикловир в качестве АФИ.

Целью настоящего исследования стала разработка поликомплексного носителя на основе гидроксипропилцеллюлозы с участием Carbopol® 71G для гастроретентивной доставки ацикловира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве полимеров фармацевтического назначения использовали ГПЦ марки Klucel EXF ULTRA PHARM (Ashland, США) и Carbopol® марок 71G, 971, 974 (Lubrizol Advanced Materials, США), из которых получали ИПК. В качестве АФИ использовали ацикловир (Zhejiang Zhebei Pharmaceutical Co., Ltd., Китай). Растворителем выступал этиловый спирт 95%-м (ООО «Гиппократ», Россия). Мукоадгезионные свойства изучали с применением муцина, выделенного из слизистой оболочки желудков свиней (тип II) (Sigma-Aldrich, США).

С целью выбора оптимального состава и изучения условий получения поликомплексов с участием производных целлюлозы и химически комплементарных редкосшитых акриловых полимеров в среде органического растворителя использовали метод турбидиметрии. Сополимеры смешивали при различных мольных соотношениях, от 1:5 до 5:1 ГПЦ/Carbopol® соответственно, в этаноле 95%-м при подкислении 0,05 М раствором HCl до pH = 3,5.

После смешения системы при обоих порядках выдерживали в течение 7 дней при комнатной температуре для полноты протекания реакции. Образующееся вначале вследствие протекания интерполимерной реакции помутнение раствора в дальнейшем сопровождается выделением рыхлого белого осадка, оседающего при стоянии. Степень мутности растворов в используемых низких концентрациях во избежание их седиментации оценивали по изменению оптических плотностей каждого образца полученной смеси на спектрофотометре Lambda 25 (PerkinElmer, США) при длине волны 600 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Исследование структурных различий проводилось методом ИК-спектроскопии на ИК-спектрофотометре с преобразователем Фурье Nicolet iS5 (Thermo Fisher Scientific, США) с приставкой НПВО (ATR) на основе цинк-селенового кристалла в диапазоне от 1500 до 1900 $см^{-1}$. Полосы поглощения интерпретировали в соответствии с данными литературы [9, 12, 15].

Термическую стабильность образцов исследовали с помощью термогравиметрического анализа с использованием прибора Discovery TGA™ (TA Instruments, США) по ранее описанной методике [37, 38]. Образцы в количестве от 8 до 10 мг отвешивали в специальные алюминиевые тигли (TA Instruments, США), которые далее с помощью автосамплера перемещались в инерционную печь ТГ-анализатора. Сканирование проводилось в диапазоне температур от 30 до 500 °C со скоростью 10 °C/мин. Программное обеспечение TRIOS™ версии 5.1.1.46572 (TA Instruments, США) использовалось для обработки результатов ТГА.

Для дальнейших исследований был выбран ИПК стехиометрического состава ГПЦ / Carbopol® 71G. Синтез ИПК в больших количествах, необходимых для дальнейших исследований, проводили, добавляя раствор ГПЦ к набухшей дисперсии Carbopol® 71G через делительную воронку при постоянном перемешивании на цифровой верхнеприводной лопастной ме-

шалке Microstar 7.5 digital (IKA-Werke GmbH & Co. KG., Германия) с предварительным доведением до pH = 3,5 (по представленной выше методике). Полученный осадок ИПК отделяли от надосадочной жидкости и высушивали сначала на воздухе при комнатной температуре с дальнейшей сушкой в вакуум-сушильном шкафу VD 23 (BINDER GmbH, Германия) при температуре 40 ± 0,5 °C до постоянной массы.

Исследование структурных особенностей полученного ИПК ГПЦ / Carbopol® 71G проводили методом мДСК. Термический анализ выполняли на приборе Discovery™ DSC (TA Instruments, США) с системой охлаждения RCS90 (TA Instruments, США) в атмосфере сухого азота марки 6.0 при скорости потока газа 50 мл/мин. Калибровку прибора по энтальпии плавления и теплоемкости проводили с использованием индия и сапфира (sapphire) соответственно по методике, описанной ранее [37]. Образцы в количестве от 5 до 6 мг отвешивали в специальные алюминиевые тигли Tzero® (TA Instruments, США), которые далее с помощью автосамплера перемещались в термоячейку калориметра. Сканирование проводилось в диапазоне температур от 0 до 200 °C со скоростью нагревания 2 °C/мин в режиме модуляции (период 60 с, амплитуда 0,6360 °C). Для метода использовали два последовательных сегмента нагревания и охлаждения. Сначала образец охлаждали со скоростью 20 °C/мин до 0 °C с временем выдержки 5 мин, а затем нагревали со скоростью 2 °C/мин до 160 °C в режиме модуляции (период 60 с, амплитуда 0,6360 °C). Далее образец охлаждали до 0 °C и выдерживали 5 мин при данной температуре. Затем нагревали повторно со скоростью 2 °C/мин до 200 °C в режиме модуляции с параметрами: период 60 с, амплитуда 0,6360 °C. Полученные данные обрабатывались с помощью программного обеспечения TRIOS™ версии 5.1.1.46572 (TA Instruments, США).

Состав высушенных образцов ИПК исследовали методом элементного анализа на приборе CHNS/O-анализатор Thermo Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Великобритания). Образцы синтезированного ИПК, физической смеси и индивидуальных полимеров помещали в тигли и отвешивали на микровесах XP6 Excellence Plus XP (METTLER TOLEDO, Швейцария). Для анализа упакованные тигли помещались в реактор с температурой печи 900 °C и скоростью потока газа 10 мл/мин. Предварительно прибор был откалиброван по цистеину и циклогексанон-2,4-динитрофенилгидразону (Thermo Fisher Scientific, Великобритания). Анализ результатов был проведен с помощью программного обеспечения Eager Xperience Data Handling. Расчет соотношения компонентов проводили в соответствии с правилом Пирсона по процентному содержанию углерода (C). Выявленный стехиометрический состав ИПК был подтвержден также элементным анализом модельной физической смеси, который доказал применимость данного метода для определения массовых долей в анализируемых порошках изучаемых полимеров.

Набухаемость оценивали путем термостатирования матриц образцов индивидуальных полимеров, их ФС и ИПК без модельного АФИ, как описано в методике [39], на водяной бане IKA® IC control (IKA-Werke GmbH & Co. KG., Германия) при температуре 37 ± 0,5 °C. Таблетированные матрицы массой 0,1 г, диаметром 8 мм получали путем прямого прессования порошка поликомплекса, индивидуальных полимеров и их ФС на программируемом гидравлическом прессе PressPRO Programmable Hydraulic Pellet Press (PIKE Technologies, США) при давлении 5 т с временем выдерживания 5 с. Каждый образец погружали в 40 мл среды, в качестве которой использовали 0,1 М HCl, имитирующую желудочный сок. Эксперимент проводили в течение 6 ч, оценивая изменение массы таблетированных матриц каждые 30 мин путем их взвешивания на аналитических весах Shinko Denshi (VIBRA, Япония). Степень набухания (H%) рассчитывали по известной формуле [39, 40]. С целью оценки влияния среды на возможные структурные преобразования поликомплексных матриц в процессе набухания был проведен термический анализ двух образцов по истечении 2 и 6 ч нахождения в кислой среде. Отобранные образцы матриц были высушены при комнатной температуре на воздухе и досушены в вакуум-сушильном шкафу VD 23 (BINDER GmbH, Германия) при температуре 40 ± 0,5 °C до постоянной массы. Исследование структурных особенностей матриц ИПК в процессе набухания проводилось методом мДСК в соответствии с вышеописанной методикой.

Оценку высвобождения проводили на тестере растворения DT 626 (ERWEKA GmbH, Германия) при 37 ± 0,5 °C по методу 1 «Вращающаяся корзинка» и при скорости вращения корзинки 100 об/мин. В качестве среды растворения использовали 0,1 М HCl, имитирующую желудочный сок, в объеме 900 мл. Таблетки для эксперимента готовили из ИПК, индивидуальных веществ и их ФС массой 150 мг (100 мг ацикловира и 50 мг полимерного носителя), диаметром 8 мм на автоматическом гидравлическом прессе PressPRO Programmable Hydraulic Pellet Press (PIKE Technologies, США) при давлении 5 т с временем выдерживания 5 с. Соотношение АФИ и носителя было взято согласно методике [41]. Эксперимент проводили в течение шести часов, отбирая пробы в объеме 5 мл для анализа с восполнением соответствующего объема средой через 15 мин в течение первого получаса эксперимента, а затем каждые 30 мин до его окончания. Расчеты результатов эксперимента проводили с помощью измерения оптической плотности проб на УФ/Вид-спектрофотометре Lambda 25 (PerkinElmer, США) при длине волны 255 нм.

Оценку мукоадгезии проводили на анализаторе текстуры TA.XTplus (Stable Micro Systems, Великобритания) на компактах из муцина, которые получали

путем прямого прессования с помощью программируемого гидравлического пресса PressPRO Programmable Hydraulic Pellet Press (PIKE Technologies, США) при давлении 10 т с временем выдерживания 60 с с использованием матрицы диаметром 13 мм (PIKE Technologies, США). Для оценки силы мукоадгезии компакты из муцина помещали на платформу, а таблетки анализируемых образцов крепились к специальному зонду. Перед проведением измерения поверхность муциновых компактов и таблетированных матриц увлажняли 0,1 М HCl в количествах 50 мкл и 25 мкл соответственно и оставляли до образования поверхностного гелевого слоя [42]. Данные обрабатывались с помощью программного обеспечения Texture Exponent версии 3.2 (Stable Micro Systems, Великобритания). Для оценки гастроадгезионной способности матриц использовалось значение пиковой положительной силы [42].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После смешения растворов трех пар полимеров (ГПЦ / Carbopol® 71G, (Carbopol® 971, Carbopol® 974)) в разных мольных соотношениях наблюдалась опалесценция с последующим выпадением осадка, что подтверждало образование поликомплекса. Формирование ИПК происходит по донорно-акцепторному механизму посредством водородных связей между —ОН-группой ГПЦ и —СООН-группой Carbopol®, обеспечивающих стабильность и специфические свойства.

Анализируя результаты турбидиметрии, можно отметить, что при обоих порядках смешивания наблюдались изменения в показателях оптической плотности дисперсий, обусловленные увеличением мутности за счет протекания реакций взаимодействия между реагирующими полимерами и образования ИПК. Для дальнейших исследований нами были выбраны два оптимальных с точки зрения полноты протекания реакций состава ИПК ГПЦ / Carbopol® 71G при эквимольном соотношении компонентов прямого и обратного порядков смешения.

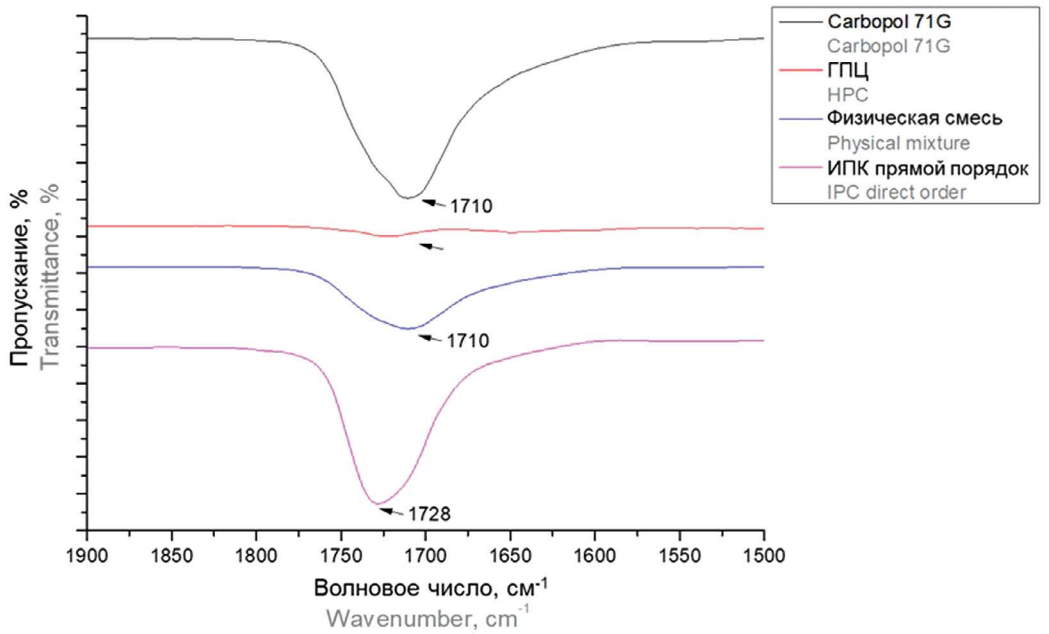
Для выбранных образцов, ГПЦ, Carbopol® 71G и их ФС в том же соотношении были сняты ИК-спектры с целью изучения их структурных различий. ИК-спектры образцов представлены на рисунке 1, А, Б. В случае ИК-спектров индивидуальных полимеров у образца Carbopol® 71G наблюдается полоса поглощения в области 1710 $см^{-1}$. Данная характеристическая полоса подтверждает димерную карбоксильную структуру карбополов и относится к валентным колебаниям карбоксильных групп в их структуре. У образца ГПЦ полос поглощения в этой области не наблюдалось. Образец ФС ожидаемо представляет собой суперпозицию входящих в ее состав полимеров, а именно, также имеет полосу поглощения в области 1710 $см^{-1}$ (благодаря Carbopol® 71G). ИК-спектры полученных поликомплексов характеризуются рядом структурных особенностей. Обращая внимание на область карбонильного поглощения, можно заметить смещение характеристической полосы влево до 1730 $см^{-1}$. Этот переход подтверждает наличие карбоксильных групп рПАК в составе Carbopol® 71G, связанных кооперативной системой образовавшихся водородных связей со звеньями макромолекул ГПЦ, то есть свидетельствует об образовании поликомплекса, что согласуется с данными литературы [9, 12, 15] и в отношении близких по структуре ИПК [43].

На рисунках 2 и 3 представлены ТГА-термограммы образцов исходных полимеров, их ФС и ИПК на их основе при двух порядках смешения. Исходя из полученных результатов, образцы ИПК обоих порядков характеризуются лучшей термической стабильностью по сравнению с образцами полимеров Carbopol®, но несколько уступают ГПЦ и ФС.

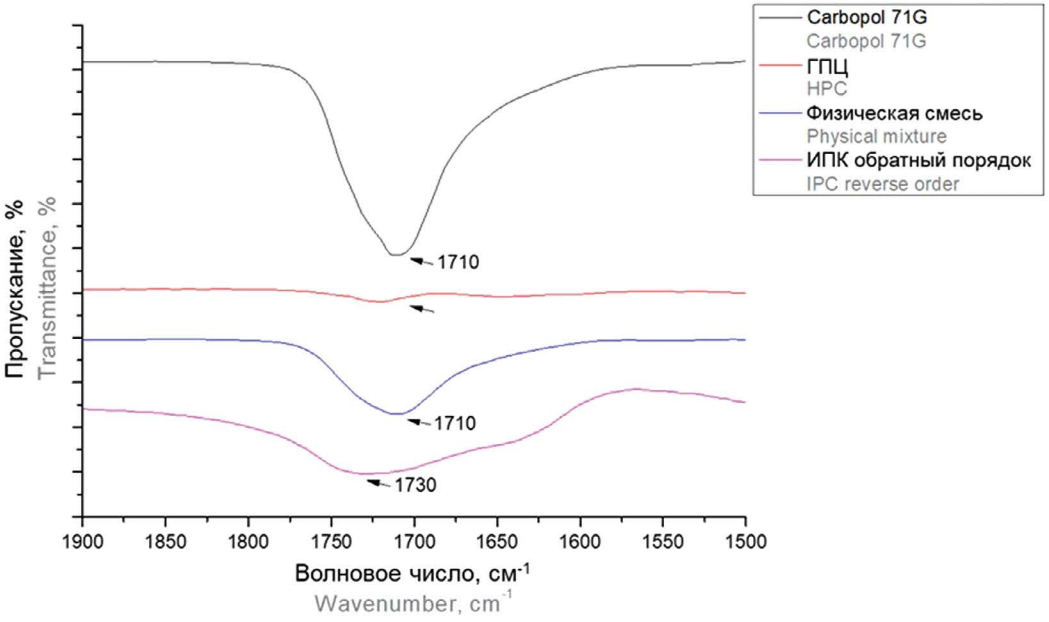
Согласно результатам ИК-спектроскопии и ТГА, оказалось, что полученные ИПК ГПЦ / Carbopol® 71G, независимо от порядка смешивания растворов ГПЦ и дисперсий Carbopol® в эквимольных соотношениях, имеют весьма близкие структурные особенности строения, что позволяет заключить, что порядок смешивания является некритическим при синтезе поликомплексов между изучаемыми полимерами в выбранном соотношении.

Для дальнейшего изучения особенностей строения поликомплексов в сравнении с исходными полимерами и их ФС был использован еще один термический метод анализа – мДСК при нагреве анализируемых образцов до 200 °С в режиме модуляции по методике, описанной выше. На рисунке 4 представлены ДСК-термограммы анализируемых образцов: ИПК, Carbopol® 71G, ГПЦ и их физической смеси (ФС). Образец Carbopol® 71G имеет температуру стеклования (T_c) 129,1 ± 0,4 °С, совпадающую с данными литературы [44]. В случае образца ГПЦ выявить T_c не удалось ввиду его полисахаридной структуры и сложности подбора условий для ее выявления. Однако, по данным литературы, T_c ГПЦ регистрируется в интервале от 40 до 45 °С [16]. Для образца ФС T_c составила 129,9 ± 0,04 °С, что коррелирует с результатами чистого Carbopol® 71G, так как он присутствует в смеси. Согласно данным литературы, температуры стеклования поликомплексов находятся в интервале между T_c исходных компонентов, поэтому не случайно результирующая для образца ИПК T_c регистрируется именно в этом диапазоне (T_c = 91,0 ± 2,1 °С) [43]. Таким образом, образец ИПК характеризуется единственной и отличной от T_c индивидуальных полимеров температурой стеклования, что подтверждает совместимость полимеров в результате их интерполимерного взаимодействия.

Элементный анализ был проведен на элементном CHNS/O-анализаторе Thermo Flash 2000 (Thermo Fisher Scientific, Великобритания). Согласно элементному анализу, был получен ИПК состава [ГПЦ] : [Carbopol® 71G] = 1 : 2 с избытком редкосшитого полимера.



А
A



Б
B

Рисунок 1. ИК-спектры индивидуальных полимеров, физической смеси и ИПК ГПЦ / Carbopol®71G:

А – при прямом порядке смешения (по оси ординат – пропускание, %; по оси абсцисс – волновое число, см$^{-1}$); Б – при обратном порядке смешения (по оси ординат – пропускание, %; по оси абсцисс – волновое число, см$^{-1}$)

Figure 1. IR-spectra of the individual polymers, their physical mixture and IPCs:

A – direct order (ordinate – transmission, %; abscissa – wavenumber, cm^{-1}); B – reverse order (ordinate – transmission, %; abscissa – wavenumber, cm^{-1})

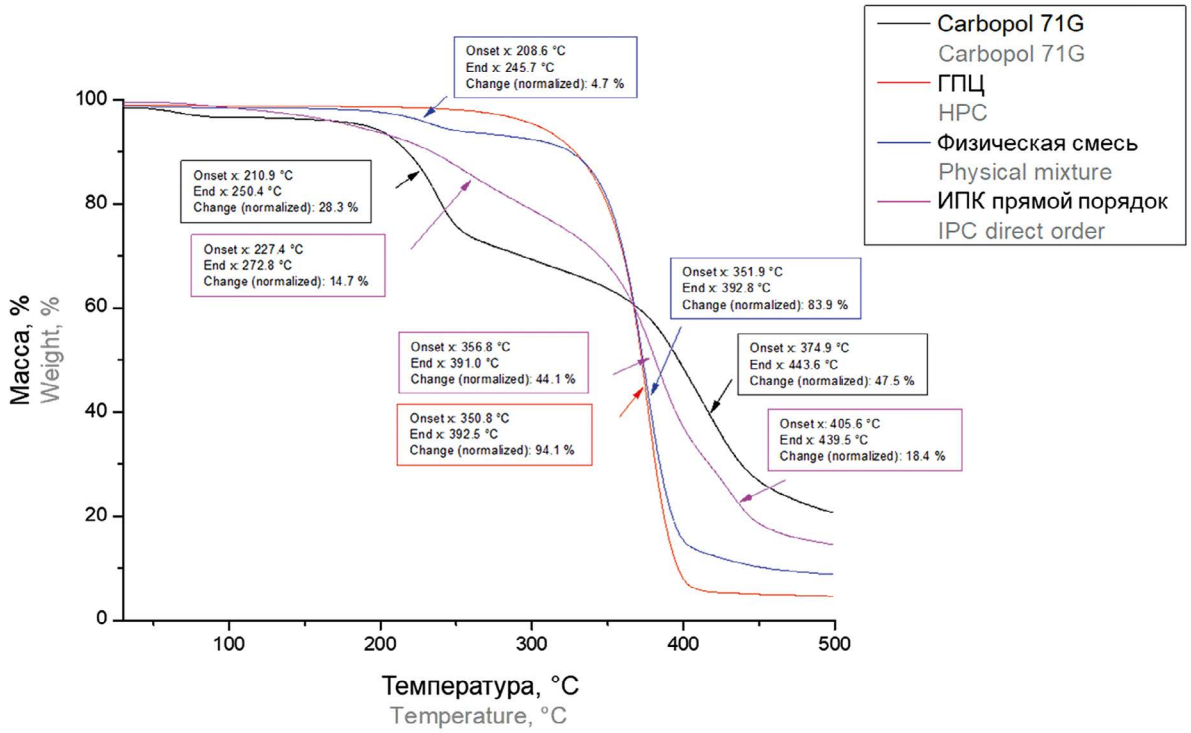


Рисунок 2. **ТГА-термограммы индивидуальных полимеров, их физической смеси и ИПК на их основе при прямом порядке смешения (по оси ординат – вес, %; по оси абсцисс – температура, °C)**

Figure 2. **TGA-thermograms of the individual polymers, their physical mixture and IPCs based on them direct order (ordinate – weight, %; abscissa – temperature, °C)**

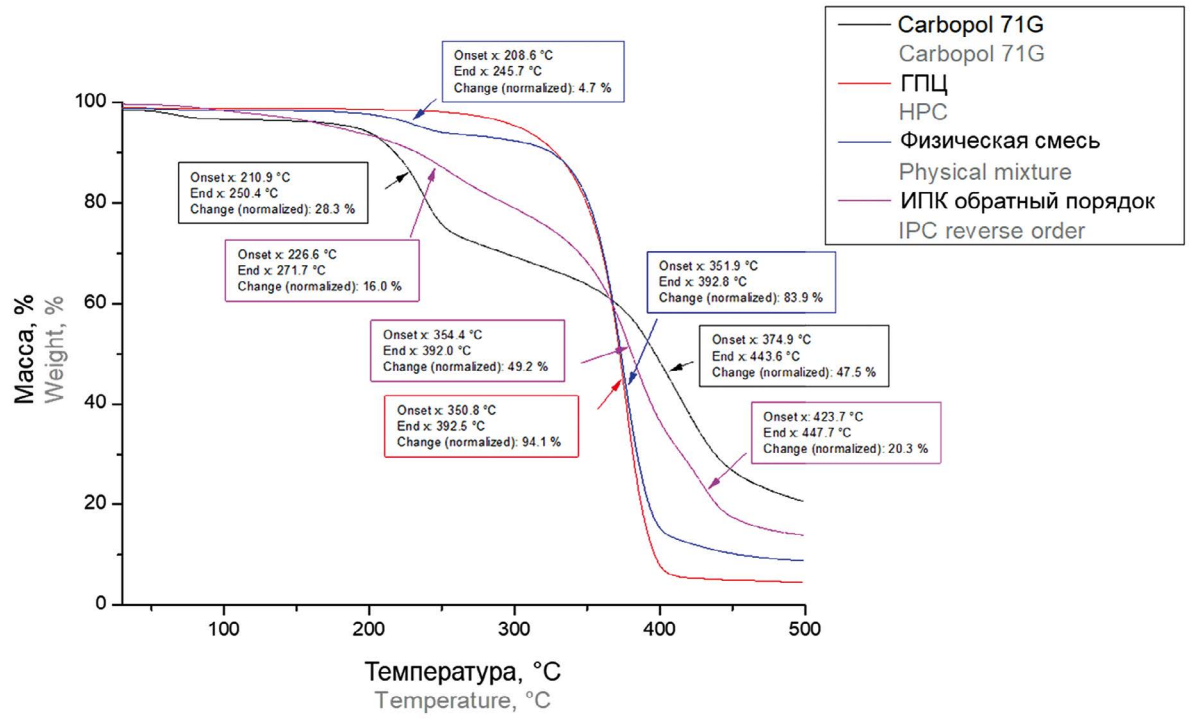


Рисунок 3. **ТГА-термограммы индивидуальных полимеров, их физической смеси и ИПК на их основе при обратном порядке смешения (по оси ординат – вес, %; по оси абсцисс – температура, °C)**

Figure 3. **TGA-thermograms of the individual polymers, their physical mixture and IPCs based on them reverse order (ordinate – weight, %; abscissa – temperature, °C)**

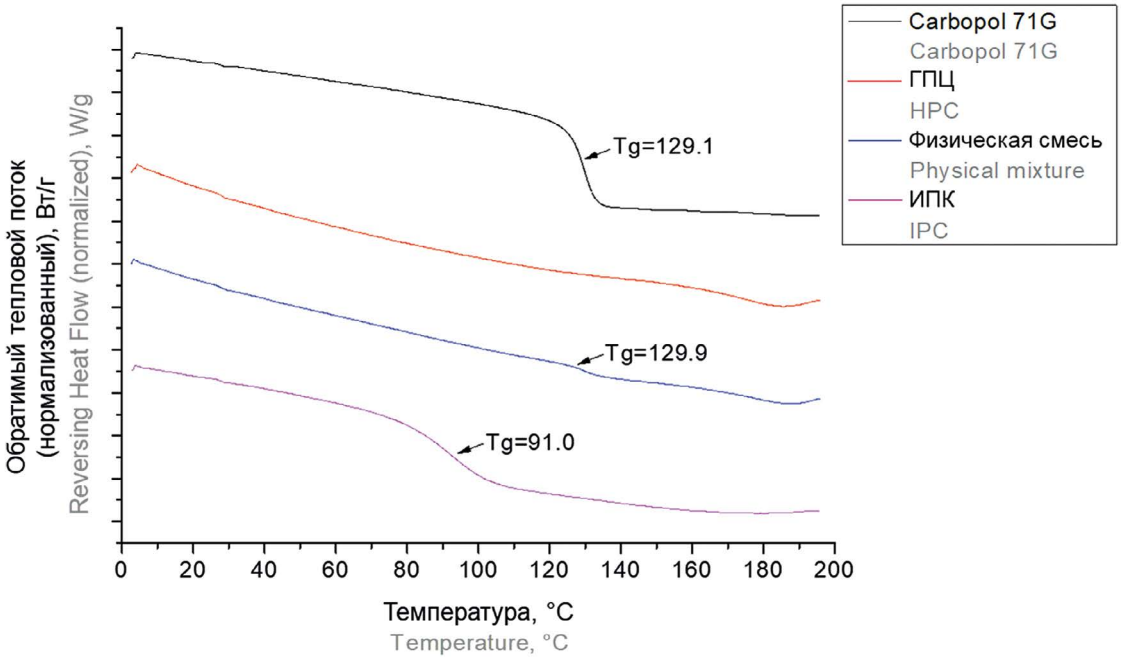


Рисунок 4. мДСК-термограммы ИПК, индивидуальных полимеров и их физической смеси (по оси ординат – обратимый тепловой поток, Вт/г; по оси абсцисс – температура, °C)

Figure 4. mDSC-thermograms of IPC, individual polymers and their physical mixtures (ordinate – reversing heat flow, W/g; abscissa – temperature, °C)

Набухаемость матриц индивидуальных полимеров (рисунок 5), их ФС и ИПК на основе ГПЦ / Carbopol® 71G была исследована в среде, имитирующей желудочный сок (0,1 М HCl), для того чтобы оценить возможность применения системы для гастроретентивной системы доставки, так как выбранная среда (0,1 М HCl с pH = 1,2) имитирует голодный желудок. На протяжении всего эксперимента матрицы сохраняли свою форму, при этом увеличивались в размерах (рисунок 6). В первые 30 мин эксперимента степень набухания матриц ИПК и Carbopol® 71G достигла величины 200 %, далее система с ИПК продолжала удерживать значения на близком уровне на протяжении всего эксперимента. Такой равномерный профиль позволяет обеспечить высвобождение АФИ с момента попадания в исследуемую среду на протяжении 6 ч на постоянном уровне. В то время как для матрицы с Carbopol® 71G характерно прогрессирующее увеличение значений набухания до 900 % с образованием гидрогелевого слоя, что обусловлено его сетчатым строением и гидратацией карбоксильных групп [32]. Матрица на основе ГПЦ полностью растворилась в среде спустя 4 ч эксперимента. Как можно заметить, матрицы на основе ИПК и ФС имеют схожие профили набухания, что может быть связано со схожестью внутриматричных процессов, а именно с образованием водородных связей между полимерами в матрице ФС по мере пенетрации среды, с кислым значением pH. Последнее приводит к образованию трехмерно сетчатой структуры вследствие спонтанного и хаотичного межмолекулярного взаимодействия реагирующих комплементарных звеньев макромолекул, что и изменяет поведение матрицы в ходе эксперимента. Видимое снижение степени набухаемости компактов из ФС по сравнению с поликомплексными матрицами объясняется стремительным образованием кооперативной системы водородных связей, что обуславливает гидрофобизацию системы из-за сегрегирования слабо набухающих в условиях кислой среды ИПК-последовательностей, что и приводит к контрактированию матрицы и вытеснению воды из структуры образующегося плотного геля [40, 43].

Для оценки возможных структурных изменений матриц ИПК, происходящих под влиянием среды с низким значением pH, был проведен мДСК-мониторинг высушенных образцов матриц, отобранных на разных временных отрезках в процессе оценки их набухаемости. В ходе термического анализа образцов поликомплексных матриц до набухания, а также спустя 2 ч и 6 ч после набухания в среде 0,1 М HCl была выявлена единственная T_c для каждого из анализируемых образцов, что свидетельствует об устойчивости поликомплекса в кислой среде, обусловленной кооперативной системой межмакромолекулярных водородных связей (рисунок 7). Тем не

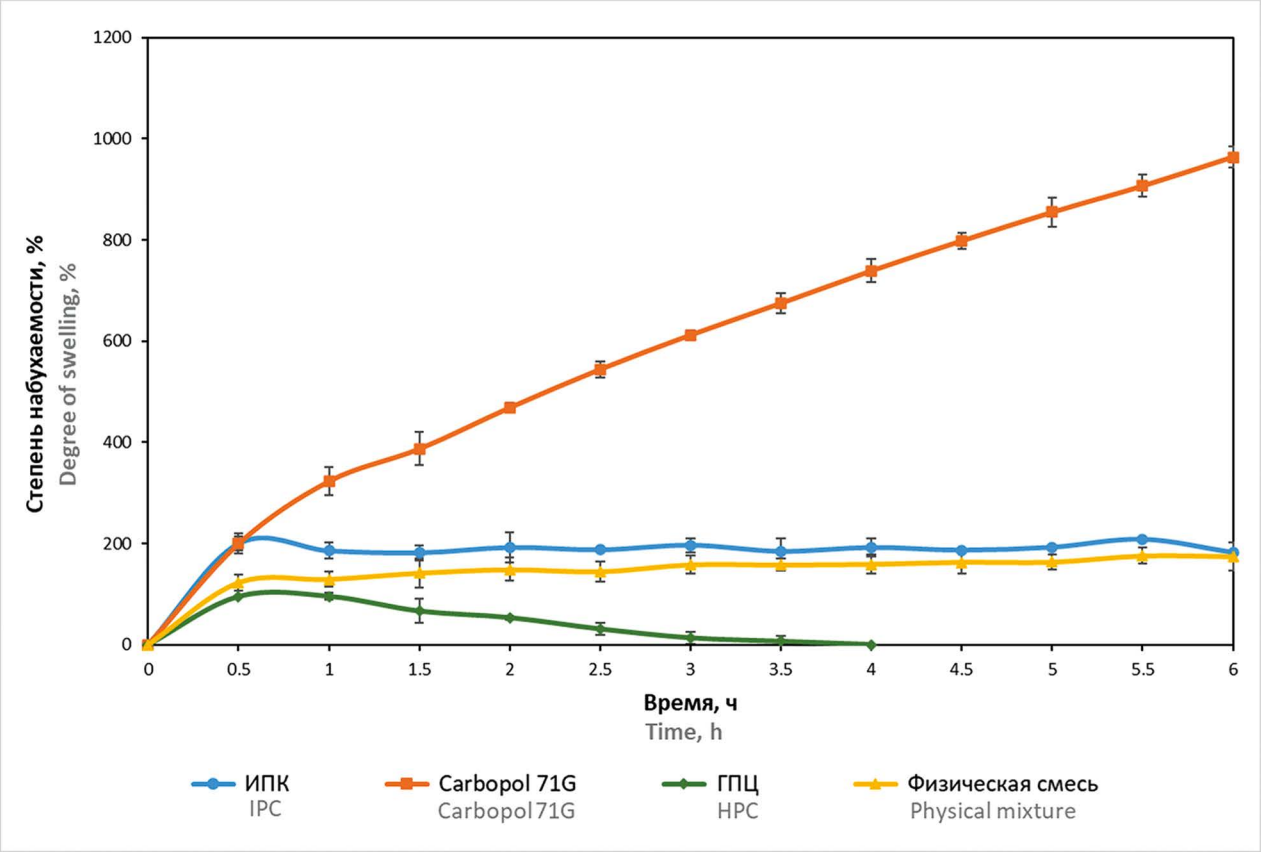


Рисунок 5. Профиль набухания матриц индивидуальных полимеров, их физической смеси и полученного ИПК в среде, имитирующей желудочный сок (0,1М HCl) (по оси ординат – степень набухаемости, %; по оси абсцисс – время, ч)

Figure 5. The swelling profile of the matrices of the individual polymers, their physical mixture and the resulting IPC in the media simulating stomach acid (0.1 M HCl) (ordinate – degree of swelling, %; abscissa – time, h)

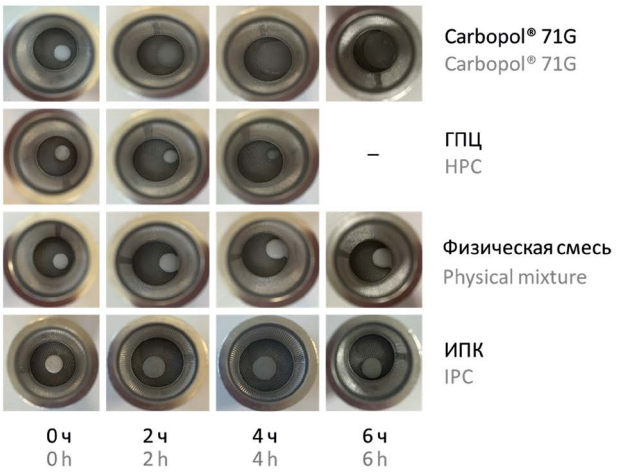


Рисунок 6. Экспериментальный внешний вид исходных веществ, их физической смеси и матриц ИПК при испытании на набухание

Figure 6. Experimental appearance of the initial substances, their physical mixture and IPC matrices during the swelling test

менее следует отметить, что нахождение поликомплексных матриц в кислой среде независимо от периода пребывания характеризуется небольшим увеличением результирующей T_c, что, по всей видимости, является подтверждением усиливающейся роли гидрофобных взаимодействий [1, 4].

По результатам исследования кинетики высвобождения модельного АФИ из полученных поликомплексных матриц состава ГПЦ / Carbopol® 71G в среду, имитирующую желудочный сок, максимальная концентрация ацикловира, перешедшего в среду, наблюдается на 30-й мин эксперимента и составляет 98,5 %, что, по всей видимости, может быть связано со стремительной гидратацией матриц и характерно для немедленного типа высвобождения [32]. По истечении 60 мин концентрация АФИ оставалась практически неизменной, что обусловлено восполнением среды после отбора проб ввиду того, что максимальная концентрация ацикловира в среде была достигнута ранее. Профили высвобождения ацикловира из матриц на основе индивидуальных полимеров и их ФС демонстрируют посте-

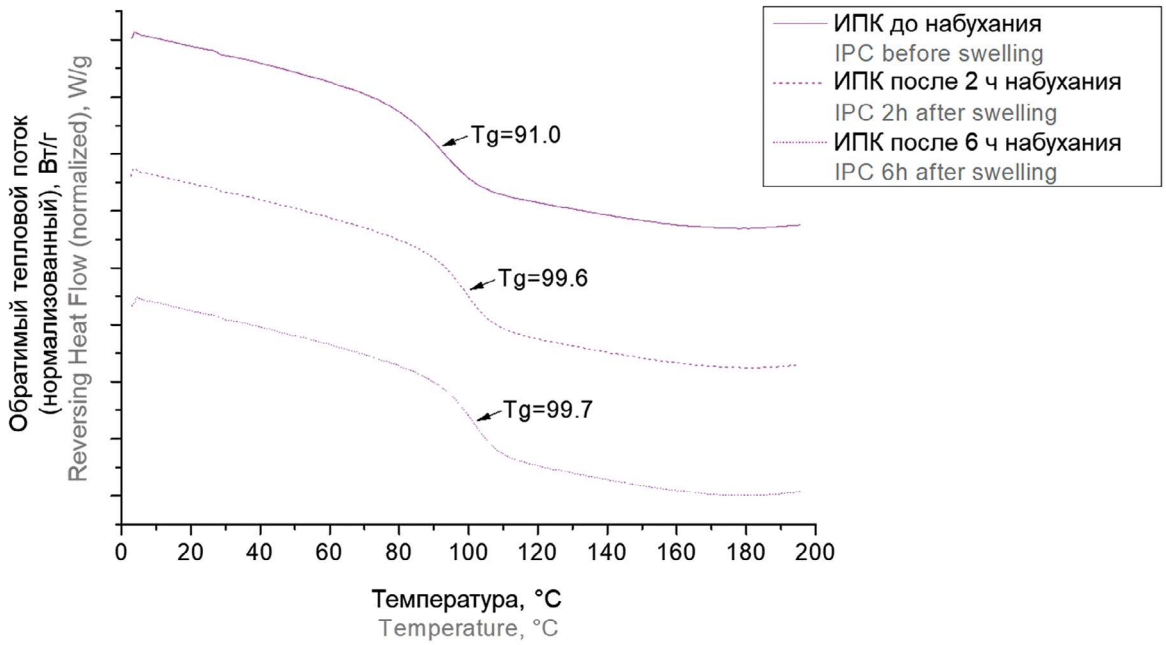


Рисунок 7. мДСК-термограммы ИПК спустя 2 и 6 ч эксперимента по набухаемости (по оси ординат – обратимый тепловой поток, Вт/г; по оси абсцисс – температура, °C)

Figure 7. mDSC-thermograms of IPC after 2 and 6 hours of swelling (ordinate – reversing heat flow, W/g; abscissa – temperature, °C)

пенное высвобождение используемого АФИ, причем если характер выхода ЛС из матриц на основе карбопола и ФС сопоставим, то ГПЦ-матрицы занимают промежуточное положение между поликомплексными и остальными системами (рисунок 8). Таким образом, матрицы на основе Carbopol® 71G характеризуются наиболее замедленным высвобождением, что, по всей видимости, связано со способностью карбополов образовывать гидрогелевый слой на поверхности компактов в процессе набухания, замедляющий пенетрацию среды растворения внутрь [32].

С целью изучения применимости изучаемого ИПК в качестве носителя для гастроадгезионной доставки нами также была произведена оценка мукоадгезии к компактам муцина, полученного из слизистой оболочки желудков свиней. Наиболее распространенным и широко используемым методом оценки биоадгезии является метод измерения прочности на отрыв. Во время стадии консолидации происходит взаимодействие между компактом муцина, имитирующим слизистую оболочку, и таблетированной матрицей изучаемого носителя. Известно, что мукоадгезивными свойствами могут обладать молекулы с группами, образующими водородные связи (—OH, —COOH), анионным поверхностным зарядом, высокой молекулярной массой, гибкими цепочками и поверхностно-активными свойствами [45–47].

Результаты изучения пиковой положительной силы полимерных матриц к муциновым компактам показаны на рисунке 9. При анализе полученных результатов было выявлено, что ИПК-матрицы обладают низкой способностью к мукоадгезии к компактам муцина по сравнению с исходными полимерами и их ФС. Последние, по всей видимости, ввиду наличия свободных гидроксильных и карбоксильных групп в их составе при кислом значении pH (0,1 M HCl) остаются в протонированном состоянии и способны образовывать водородные связи с гликопротеидами муцина. Ранее было показано, что именно протонированные, а не ионизированные карбоксильные группы вступают в реакцию с гликопротеинами муцина путем образования водородных связей [48–50]. Важным условием формирования такого типа связей является наличие протон-донорных и протон-акцепторных групп. Ввиду того, что синтезированный ИПК стабилизирован кооперативной системой межмакромолекулярных водородных связей и был получен в стехиометричном соотношении компонентов, наличие небольшого количества свободных реакционных групп в структуре ИПК возможно только в области так называемых «петель». Последние представляют собой участки стерического несоответствия, препятствующие ИПК-образованию. Такое строение поликомплексов и снижение доли реакционноспособных свободных протонированных карбоксильных групп в кислой среде и объясняет низкую мукоадгезионную способность к взаимодействию с гликопротеидами муцина.

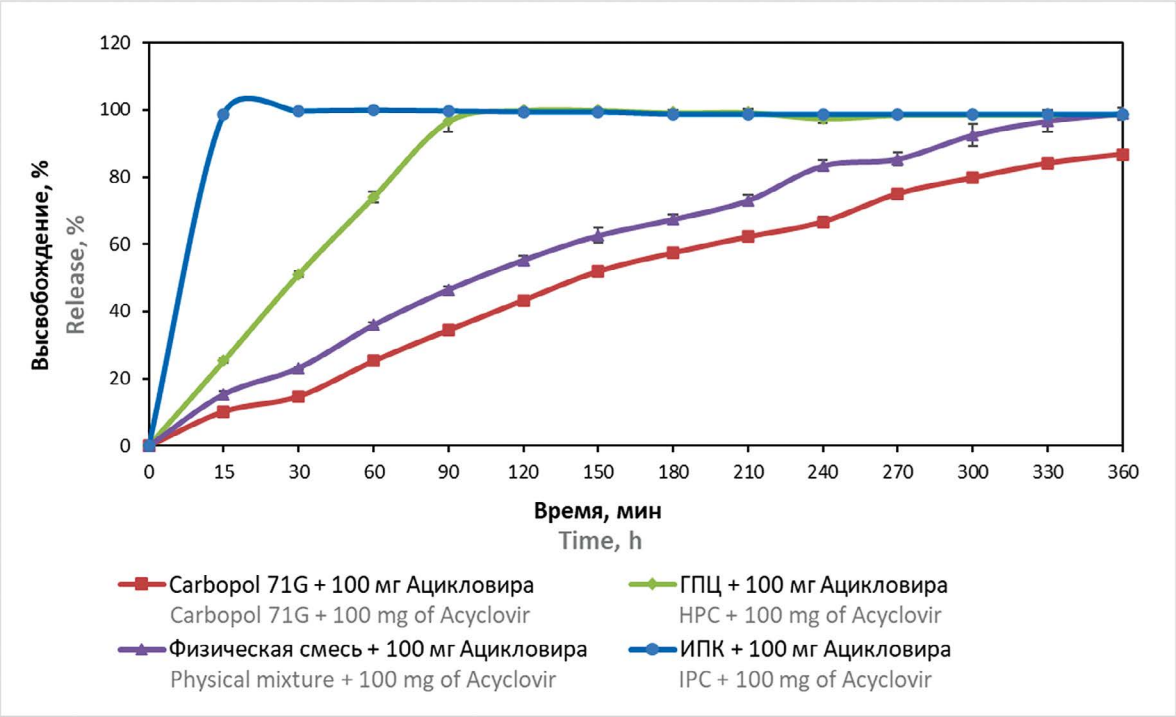


Рисунок 8. **Профиль высвобождения ацикловира из матриц индивидуальных полимеров, их физической смеси и полученного ИПК в среду, имитирующую желудочный сок (0,1 М HCl) (по оси ординат – высвобождение, %; по оси абсцисс – время, ч)**

Figure 8. **Profile of acyclovir release from matrices of individual polymers, their physical mixture and the resulting IPC into a media simulating stomach acid (0.1 M HCl) (ordinate – release, %; abscissa – time, h)**

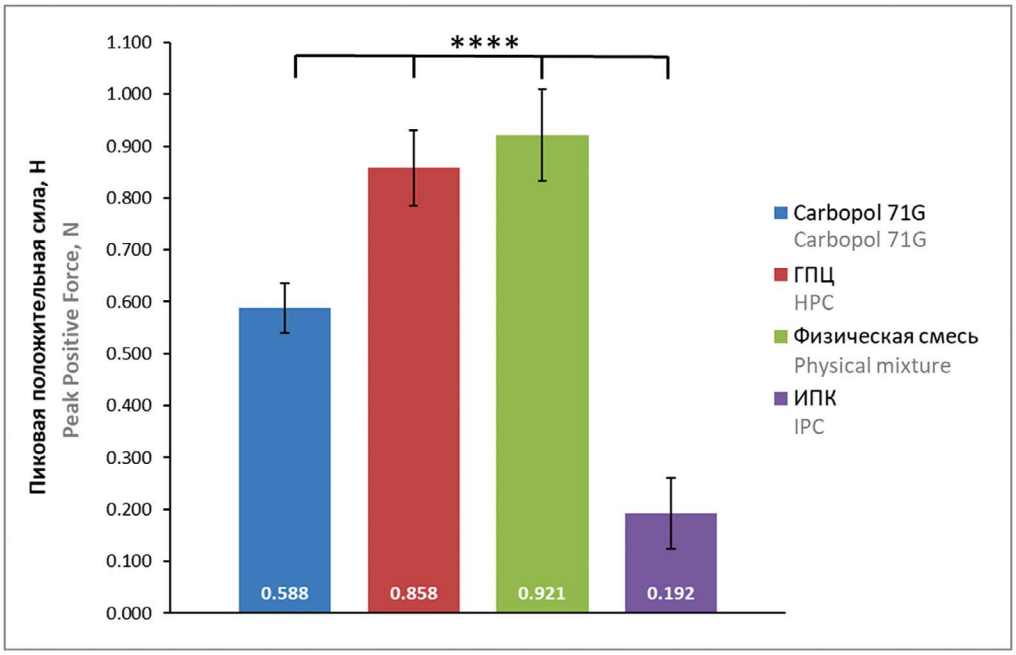


Рисунок 9. **Результаты измерения пиковой положительной силы индивидуальных полимеров, физической смеси и ИПК на муциновых компактах (Н) ($n = 6$, «****» означает $p < 0{,}0001$) (по оси ординат – пиковая положительная сила, Н)**

Figure 9. **Results of measuring the peak positive force of individual polymers, physical mixture and IPC from mucin compacts (N) ($n = 6$, "****" means $p < 0{,}0001$) (ordinate – peak positive force, N)**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на структурных и физико-химических особенностях полимеров фармацевтического назначения ГПЦ и Carbopol® 71G, мы получили интерполимерные комплексы с их участием. В результате проведенного исследования было доказано, что ГПЦ образует поликомплексы с Carbopol® марок 71G, 971, 974 в среде подкисленного этанола. Основываясь на данных турбидиметрии, можно заключить, что оптимальным с точки зрения максимальных значений мутности является состав реакционной смеси в соотношении 1:2 ГПЦ / Carbopol® 71G, причем при обоих порядках смешивания. По результатам ИК-спектроскопии и ТГА перспективным с точки зрения выявленных структурных особенностей и термической стабильности является стехиометрический состав ГПЦ / Carbopol® 71G, независимо от порядка смешивания растворов/дисперсий полимеров. На ИК-спектрах образца полученного ИПК наблюдался сдвиг полосы поглощения до 1730 $см^{-1}$, что подтверждает наличие карбоксильных групп Carbopol® 71G, связанных водородными связями с ОН-группами ГПЦ. Наличие единственной температуры стеклования у синтезированного образца ГПЦ / Carbopol® 71G подтверждает совместимость полимеров в составе ИПК. Согласно элементному анализу, соотношение компонентов в поликомплексе составляло 1:2 с избытком Carbopol® 71G. На основе данного носителя были получены матрицы для проведения оценки набухаемости и высвобождения. Для полученных таблетированных поликомплексных матриц с ацикловиром характерен немедленный тип высвобождения, так как максимальная концентрация ЛС в среде достигается уже через полчаса, что представляют интерес для дальнейшего исследования полученного ИПК с целью разработки на его основе систем гастроретентивной доставки. В связи с выявленной низкой мукоадгезионной способностью поликомплексных матриц перспективным является разработка «плавающей» гастроретентивной формы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khutoryanskiy V. V., Dubolazov A. V., Mun G. A. pH- and ionic strength effects on interpolymer complexation via hydrogen-bonding. In: Khutoryanskiy V. V., Staikos G., editors. Hydrogen-bonded interpolymer complexes: Formation, structure and applications. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2009. P. 1–21. DOI: 10.1142/9789812709776_0001.
2. Smyslov R. Y., Gorshkova Y. E., Nekrasova T. N., Makhayeva D. N., Mun G. A., Irmukhametova G. S., Khutoryanskiy V. V. Dynamic and structural insights into hydrogen-bonded interpolymer complexes of poly (2-alkyl-2-oxazolines) with poly (carboxylic acids). *Journal of Colloid and Interface Science*. 2025;699(1):138185. DOI: 10.1016/j.jcis.2025.138185.
3. Kopishev E., Jafarova F., Tolymbekova L., Seitenova G., Safarov R. Interpolymer Complexation Between Cellulose Ethers, Poloxamers, and Polyacrylic Acid: Surface-Dependent Behavior. *Polymers*. 2025;17(10):1414. DOI: 10.3390/polym17101414.
4. Khutoryanskiy V. V. Pharmaceutical applications of interpolymer complexes. In: Khutoryanskiy V. V., Staikos G., editors. Hydrogen-bonded interpolymer complexes. Formation, structure and applications. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2009. P. 235–258. DOI: 10.1142/9789812709776_0009.
5. Khutoryanskiy V. V. Hydrogen-bonded interpolymer complexes as materials for pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007;334(1–2):15–26. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.01.037.
6. Keldibekova R., Suleimenova S., Nurgozhina G., Kopishev E. Interpolymer Complexes Based on Cellulose Ethers: Application. *Polymers*. 2023;15(15):3326. DOI: 10.3390/polym15153326.
7. Adeleke O. A. Premium ethylcellulose polymer based architectures at work in drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;1:100023. DOI: 10.1016/j.ijpx.2019.100023.
8. Nurkeeva Z. S., Mun G. A., Khutoryanskiy V. V. Interpolymer complexes of water-soluble nonionic polysaccharides with polycarboxylic acids and their applications. *Macromolecular Bioscience*. 2003;3(6):283–295. DOI: 10.1002/chin.200408305.
9. Satoh K., Takayama K., Machida Y., Suzuki Y., Nakagaki M. Nagai T. Factors affecting the bioadhesive property of tablets consisting of hydroxypropyl cellulose and carboxyvinyl polymer. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1989;37(5):1366–1368. DOI: 10.1248/cpb.37.1366.
10. Mangazbaeva R. A., Mun G. A., Nurkeeva Z. S., Khutoryanskiy V. V. Interpolymer complexes of hydroxypropylmethylcellulose with polycarboxylic acids in aqueous solutions. *Polymer International*. 2006;55(6):668–674. DOI: 10.1002/pi.2012.
11. Mun G. A., Nurkeeva Z. S., Khutoryanskiy V., Dubolazov A. V. Effect of pH and ionic strength on the complex formation of poly (acrylic acid) with hydroxyethylcellulose in aqueous solutions. *Polymer Science*. 2003;45(12):2091–2095.
12. Şakar-Deliormanli A. Flow behavior of hydroxypropyl methyl cellulose/polyacrylic acid interpolymer complexes in aqueous media. *Polymer International*. 2012;61(12):1751–1757. DOI: 10.1002/pi.4266.
13. Negim E. S. M., Nurpeissova Z. A., Mangazbayeva R. A., Khatib J. M., Williams C., Mun G. A. Effect of pH on the physico-mechanical properties and miscibility of methyl cellulose/poly (acrylic acid) blends. *Carbohydrate Polymers*. 2014;101:415–422. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.09.047.
14. Khutoryanskaya O. V., Morrison P. W., Seilkhanov S. K., Mussin M. N., Ozhmukhametova E. K., Rakhypbekov T. K., Khutoryanskiy V. V. Hydrogen-bonded complexes and blends of poly (acrylic acid) and methylcellulose: nanoparticles and mucoadhesive films for ocular delivery of riboflavin. *Macromolecular Bioscience*. 2014;14(2):225–234. DOI: 10.1002/mabi.201300313.
15. Zhang X., Lin F., Yuan Q., Zhu L., Wang C., Yang S. Hydrogen-bonded thin films of cellulose ethers and poly (acrylic acid). *Carbohydrate Polymers*. 2019;215:58–62. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.03.066.
16. Khutoryanskiy V. V., Cascone M. G., Lazzeri L., Barbani N., Nurkeeva Z. S., Mun G. A., Dubolazov A. V. Morphological and thermal characterization of interpolymer comple-

xes and blends based on poly (acrylic acid) and hydroxypropylcellulose. *Polymer International*. 2004;53(3):307–311. DOI: 10.1002/pi.140.

17. Chen Y., Zhang L., Xu J., Xu S., Li Y., Sun R., Huang J., Peng J., Gong Z., Wang J., Tang L. Development of a hydroxypropyl methyl cellulose/polyacrylic acid interpolymer complex formulated buccal mucosa adhesive film to facilitate the delivery of insulin for diabetes treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;269:131876. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.131876.
18. Luo K., Yin J., Khutoryanskaya O. V., Khutoryanskiy V. V. Mucoadhesive and elastic films based on blends of chitosan and hydroxyethylcellulose. *Macromolecular Bioscience*. 2008;8(2):184–192. DOI: 10.1002/mabi.200700185.
19. Khutoryanskiy V. V., Cascone M. G., Lazzeri L., Nurkeeva Z. S., Mun G. A., Mangazbaeva R. A. Phase behaviour of methylcellulose–poly (acrylic acid) blends and preparation of related hydrophilic films. *Polymer International*. 2003;52(1):62–67. DOI: 10.1002/pi.1004.
20. Brovko O., Palamarchuk I., Gorshkova N. Chukhchin D. Investigation of interpolymer complexes of fucoidan with sodium alginate in solutions and films. *Journal of Applied Phycology*. 2025;37(1):539–551. DOI: 10.1007/s10811-024-03377-w.
21. Ramgonda P., Masareddy R. S., Patil A., Bolmal U. Development of budesonide oral colon specific drug delivery system using interpolymer Complexation method. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2021;55(1):164–175. DOI: 10.5530/ijper.55.1s.47.
22. Rahbar N., Darvish S., Farrahi F., Kouchak M. Chitosan/carbomer nanoparticles- laden in situ gel for improved ocular delivery of timolol: in vitro, in vivo, and ex vivo study. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15:1210–1220. DOI: 10.1007/s13346-024-01663-1.
23. Dou H., Jiang M., Peng H., Chen D., Hong Y. pH- Dependent Self- Assembly: Micellization and Micelle–Hollow- Sphere Transition of Cellulose- Based Copolymers. *Angewandte Chemie International Edition*. 2003;42(13):1516–1519. DOI: 10.1002/anie.200250254.
24. Dou H., Tang M., Sun K. A Facile One- Pot Synthesis to Dextran- Based Nanoparticles with Carboxy Functional Groups. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2005;206(21):2177–2181. DOI: 10.1002/macp.200500326.
25. Khutoryanskaya O. V., Williams A. C., Khutoryanskiy V. V. pH-mediated interactions between poly (acrylic acid) and methylcellulose in the formation of ultrathin multilayered hydrogels and spherical nanoparticles. *Macromolecules*. 2007;40(21):7707–7713. DOI: 10.1021/ma071644v.
26. Thakker S. P., Rokhade A. P., Abbigerimath S. S., Iliger S. R., Kulkarni V. H., More U. A., Aminabhavi T. M. Inter-polymer complex microspheres of chitosan and cellulose acetate phthalate for oral delivery of 5-fluorouracil. *Polymer bulletin*. 2014;71(8):2113–2131. DOI: 10.1007/s00289-014-1176-4.
27. Aziz M. S., Sabar M. H. Development and optimization of an innovative raft-forming antiemetic gastro-retentive system. *Pharmacia*. 2025;72:1–14. DOI: 10.3897/pharmacia.72.e147836.
28. Park S.-H., Chun M.-K., Choi H.-K. Preparation of an extended-release matrix tablet using chitosan/Carbopol interpolymer complex. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;347(1–2):39–44. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.06.024.
29. Zhang F., Meng F., Wang Z. Y., Na W. Interpolymer complexation between copovidone and carbopol and its effect on drug release from matrix tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2017;43(2):190–203. DOI: 10.1080/03639045.2016.1230625.
30. Ershadul Haque S. K., Sheela A. Biocompatible interpolymer complex matrix tablets – an oral sustained release class-III antidiabetic drug. In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. Bristol: IOP Publishing. 2017;263(2):022030. DOI: 10.1088/1757-899X/263/2/022030.
31. Zhang F., Lubach J., Na W., Momin S. Interpolymer complexation between Polyox and Carbopol, and its effect on drug release from matrix tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;105(8):2386–2396. DOI: 10.1016/j.xphs.2016.05.020.
32. Yusif R. M., Hashim I. I. A., Mohamed E. A., El Rakhawy M. M. Investigation and evaluation of an in situ interpolymer complex of carbopol with polyvinylpyrrolidone as a matrix for gastroretentive tablets of ranitidine hydrochloride. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2016;64(1):42–51. DOI: 10.1248/cpb.c15-00620.
33. Lu X., Hu Z., Schwartz J. Phase transition behavior of hydroxypropylcellulose under interpolymer complexation with poly (acrylic acid). *Macromolecules*. 2002;35(24):9164–9168. DOI: 10.1021/ma0208842.
34. Volkova I. F., Grigoryan E. S., Shandryuk G. A., Gorshkova M. Y. Hydrogels Based on Interpolymer Complexes of Sodium Alginate and Synthetic Polyacids. *Polymer Science, Series A*. 2023;65(1):85–95. DOI: 10.1134/S0965545X23700803.
35. Gorshkova M. Y., Volkova I. F., Grigoriyan E. S., Molchanov S. P. Structure and properties of hydrogels based on sodium alginate and synthetic polyacids. *Mendeleev Communications*. 2024;34(3):372–375. DOI: 10.1016/j.mencom.2024.04.019.
36. Schmidt R. F., Lutzki J., Dalgliesh R., Prévost S., Gradzielski M. pH-Responsive Rheology and Structure of Poly (ethylene oxide)–Poly (methacrylic acid) Interpolymer Complexes. *Macromolecules*. 2025;58:321–333. DOI: 10.1021/acs.macromol.4c02726.
37. Насибуллин Ш. Ф., Ван Дуонг Т., Николакакис И., Какриманис К., Ван Ден Мутер Г., Мустафин Р. И. Разработка и исследование гранул методом реактивной термоэкструзии на основе интерполимерных сочетаний сополимеров Eudragit® для доставки индометацина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(1):223–244. DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1983.
38. Гордеева Д. С., Насибуллин Ш. Ф., Карпов А. Г., Хуторянский В. В., Мустафин Р. И. Eudragit® EPO, модифицированный группами 4-фенилбороновой кислоты, как новый полимерный носитель с улучшенными мукоадгезивными свойствами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(3):93–102. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-3-1866.
39. Гордеева Д. С., Ситенкова (Буховец) А. В., Мустафин Р. И. Интерполиэлектролитные комплексы на основе сополимеров Eudragit® как носители для систем биоадгезивной гастроретентивной доставки метронидазола. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(2):72–76. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-2-72-76.
40. Викторова А. С., Елизарова Е. С., Романова Р. С., Тимергалиева В. Р., Хуторянский В. В., Мустафин Р. И. Интерполимерные комплексы на основе Carbopol® и поли(2-этил-2-оксазолина) как носители для трансбуккальной доставки метформина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):48–55. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-48-55.

41. Nasibullin S. F., Dunaeva J. V., Akramova L. A., Timergalieva V. R., Moustafine R. I. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes based on different types of pectin with Eudragit® EPO as novel carriers for colon-specific drug delivery. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(24):17622. DOI: 10.3390/ijms242417622.
42. Ngwuluka N. C., Choonara Y. E., Modi G. du Toit L. C., Kumar P., Ndesendo V. M. K., Pillay V. Design of an Interpolyelectrolyte Gastroretentive Matrix for the Site-Specific Zero-Order Delivery of Levodopa in Parkinson's Disease. *AAPS PharmSciTech*. 2013;14:605–619. DOI: 10.1208/s12249-013-9945-1.
43. Moustafine R. I., Viktorova A. S., Khutoryanskiy V. V. Interpolymer complexes of Carbopol® 971 and poly (2-ethyl-2-oxazoline): Physicochemical studies of complexation and formulations for oral drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;558:53–62. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.002.
44. Gómez-Carracedo A., Alvarez-Lorenzo C., Gómez-Amoza J. L., Concheiro A. Glass transitions and viscoelastic properties of Carbopol® and Noveon® compacts. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004;274(1–2):233–243. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2004.01.023.
45. Boddupalli Bindu M., Mohammed Z. N. K., Nath R. A., Banji D. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2010;1(4):381–387. DOI: 10.4103/0110-5558.76436.
46. Gordeeva D. S., Sitenkova (Bukhovets) A. V., Moustafine R. I. New Carriers for Bioadhesive Gastroretentive Drug Delivery Systems Based on Eudragit® EPO/Eudragit® L100 Interpolyelectrolyte Complexes. *Scientia Pharmaceutica*. 2024;92(1):14. DOI: 10.3390/scipharm92010014.
47. Zheng B., Liu D., Qin X., Zhang D., Zhang P. Mucoadhesive-to-Mucopenetrating Nanoparticles for Mucosal Drug Delivery: A Mini Review. *International Journal of Nanomedicine*. 2025;20:2241–2252. DOI: 10.2147/IJN.S505427.
48. Donnelly R., Shaikh R., Singh T. R. R., Garland M. J., Woolfson A. D., Donnelly R. F. Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 2011;3(1):89–100. DOI: 10.4103/0975-7406.76478.
49. Jabbari E., Wisniewski N., Peppas N. A. Evidence of mucoadhesion by chain interpenetration at a poly(acrylic acid)/mucin interface using ATR–FTIR spectroscopy. *Journal of Controlled Release*. 1993;26(2):99–108. DOI: 10.1016/0168-3659(93)90109-I.
50. Stankovits G., Szayly K., Galata D. L., Móczó J., Szilágyi A., Gyarmati B. The adhesion mechanism of mucoadhesive tablets with dissimilar chain flexibility on viscoelastic hydrogels. *Materials Today Bio*. 2025;30:101416. DOI: 10.1016/j.mtbio.2024.101416.

REFERENCES

1. Khutoryanskiy V. V., Dubolazov A. V., Mun G. A. pH- and ionic strength effects on interpolymer complexation via hydrogen-bonding. In: Khutoryanskiy V. V., Staikos G., editors. Hydrogen-bonded interpolymer complexes: Formation, structure and applications. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2009. P. 1–21. DOI: 10.1142/9789812709776_0001.
2. Smyslov R. Y., Gorshkova Y. E., Nekrasova T. N., Makhayeva D. N., Mun G. A., Irmukhametova G. S., Khutoryanskiy V. V. Dynamic and structural insights into hydrogen-bonded interpolymer complexes of poly (2-alkyl-2-oxazolines) with poly (carboxylic acids). *Journal of Colloid and Interface Science*. 2025;699(1):138185. DOI: 10.1016/j.jcis.2025.138185.
3. Kopishev E., Jafarova F., Tolymbekova L., Seitenova G., Safarov R. Interpolymer Complexation Between Cellulose Ethers, Poloxamers, and Polyacrylic Acid: Surface-Dependent Behavior. *Polymers*. 2025;17(10):1414. DOI: 10.3390/polym17101414.
4. Khutoryanskiy V. V. Pharmaceutical applications of interpolymer complexes. In: Khutoryanskiy V. V., Staikos G., editors. Hydrogen-bonded interpolymer complexes. Formation, structure and applications. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2009. P. 235–258. DOI: 10.1142/9789812709776_0009.
5. Khutoryanskiy V. V. Hydrogen-bonded interpolymer complexes as materials for pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007;334(1–2):15–26. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.01.037.
6. Keldibekova R., Suleimenova S., Nurgozhina G., Kopishev E. Interpolymer Complexes Based on Cellulose Ethers: Application. *Polymers*. 2023;15(15):3326. DOI: 10.3390/polym15153326.
7. Adeleke O. A. Premium ethylcellulose polymer based architectures at work in drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;1:100023. DOI: 10.1016/j.ijpx.2019.100023.
8. Nurkeeva Z. S., Mun G. A., Khutoryanskiy V. V. Interpolymer complexes of water-soluble nonionic polysaccharides with polycarboxylic acids and their applications. *Macromolecular Bioscience*. 2003;3(6):283–295. DOI: 10.1002/chin.200408305.
9. Satoh K., Takayama K., Machida Y., Suzuki Y., Nakagaki M. Nagai T. Factors affecting the bioadhesive property of tablets consisting of hydroxypropyl cellulose and carboxyvinyl polymer. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1989;37(5):1366–1368. DOI: 10.1248/cpb.37.1366.
10. Mangazbaeva R. A., Mun G. A., Nurkeeva Z. S., Khutoryanskiy V. V. Interpolymer complexes of hydroxypropylmethylcellulose with polycarboxylic acids in aqueous solutions. *Polymer International*. 2006;55(6):668–674. DOI: 10.1002/pi.2012.
11. Mun G. A., Nurkeeva Z. S., Khutoryanskiy V., Dubolazov A. V. Effect of pH and ionic strength on the complex formation of poly (acrylic acid) with hydroxyethylcellulose in aqueous solutions. *Polymer Science*. 2003;45(12):2091–2095.
12. Şakar-Deliormanli A. Flow behavior of hydroxypropyl methyl cellulose/polyacrylic acid interpolymer complexes in aqueous media. *Polymer International*. 2012;61(12):1751–1757. DOI: 10.1002/pi.4266.
13. Negim E. S. M., Nurpeissova Z. A., Mangazbayeva R. A., Khatib J. M., Williams C., Mun G. A. Effect of pH on the physico-mechanical properties and miscibility of methyl cellulose/poly (acrylic acid) blends. *Carbohydrate Polymers*. 2014;101:415–422. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.09.047.
14. Khutoryanskaya O. V., Morrison P. W., Seilkhanov S. K., Mussin M. N., Ozhmukhametova E. K., Rakhypbekov T. K., Khutoryanskiy V. V. Hydrogen-bonded complexes and blends of poly (acrylic acid) and methylcellulose: nano-

particles and mucoadhesive films for ocular delivery of riboflavin. *Macromolecular Bioscience*. 2014;14(2):225–234. DOI: 10.1002/mabi.201300313.
15. Zhang X., Lin F., Yuan Q., Zhu L., Wang C., Yang S. Hydrogen-bonded thin films of cellulose ethers and poly (acrylic acid). *Carbohydrate Polymers*. 2019;215:58–62. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.03.066.
16. Khutoryanskiy V. V., Cascone M. G., Lazzeri L., Barbani N., Nurkeeva Z. S., Mun G. A., Dubolazov A. V. Morphological and thermal characterization of interpolymer complexes and blends based on poly (acrylic acid) and hydroxypropylcellulose. *Polymer International*. 2004;53(3):307–311. DOI: 10.1002/pi.140.
17. Chen Y., Zhang L., Xu J., Xu S., Li Y., Sun R., Huang J., Peng J., Gong Z., Wang J., Tang L. Development of a hydroxypropyl methyl cellulose/polyacrylic acid interpolymer complex formulated buccal mucosa adhesive film to facilitate the delivery of insulin for diabetes treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;269:131876. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.131876.
18. Luo K., Yin J., Khutoryanskaya O. V., Khutoryanskiy V. V. Mucoadhesive and elastic films based on blends of chitosan and hydroxyethylcellulose. *Macromolecular Bioscience*. 2008;8(2):184–192. DOI: 10.1002/mabi.200700185.
19. Khutoryanskiy V. V., Cascone M. G., Lazzeri L., Nurkeeva Z. S., Mun G. A., Mangazbaeva R. A. Phase behaviour of methylcellulose–poly (acrylic acid) blends and preparation of related hydrophilic films. *Polymer International*. 2003;52(1):62–67. DOI: 10.1002/pi.1004.
20. Brovko O., Palamarchuk I., Gorshkova N. Chukhchin D. Investigation of interpolymer complexes of fucoidan with sodium alginate in solutions and films. *Journal of Applied Phycology*. 2025;37(1):539–551. DOI: 10.1007/s10811-024-03377-w.
21. Ramgonda P., Masareddy R. S., Patil A., Bolmal U. Development of budesonide oral colon specific drug delivery system using interpolymer Complexation method. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2021;55(1):164–175. DOI: 10.5530/ijper.55.1s.47.
22. Rahbar N., Darvish S., Farrahi F., Kouchak M. Chitosan/carbomer nanoparticles- laden in situ gel for improved ocular delivery of timolol: in vitro, in vivo, and ex vivo study. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15:1210–1220. DOI: 10.1007/s13346-024-01663-1.
23. Dou H., Jiang M., Peng H., Chen D., Hong Y. pH- Dependent Self- Assembly: Micellization and Micelle–Hollow- Sphere Transition of Cellulose- Based Copolymers. *Angewandte Chemie International Edition*. 2003;42(13):1516–1519. DOI: 10.1002/anie.200250254.
24. Dou H., Tang M., Sun K. A Facile One- Pot Synthesis to Dextran- Based Nanoparticles with Carboxy Functional Groups. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2005;206(21):2177–2181. DOI: 10.1002/macp.200500326.
25. Khutoryanskaya O. V., Williams A. C., Khutoryanskiy V. V. pH-mediated interactions between poly (acrylic acid) and methylcellulose in the formation of ultrathin multilayered hydrogels and spherical nanoparticles. *Macromolecules*. 2007;40(21):7707–7713. DOI: 10.1021/ma071644v.
26. Thakker S. P., Rokhade A. P., Abbigerimath S. S., Iliger S. R., Kulkarni V. H., More U. A., Aminabhavi T. M. Inter-polymer complex microspheres of chitosan and cellulose acetate phthalate for oral delivery of 5-fluorouracil. *Polymer bulletin*. 2014;71(8):2113–2131. DOI: 10.1007/s00289-014-1176-4.
27. Aziz M. S., Sabar M. H. Development and optimization of an innovative raft-forming antiemetic gastro-retentive system. *Pharmacia*. 2025;72:1–14. DOI: 10.3897/pharmacia.72.e147836.
28. Park S.-H., Chun M.-K., Choi H.-K. Preparation of an extended-release matrix tablet using chitosan/Carbopol interpolymer complex. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;347(1–2):39–44. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.06.024.
29. Zhang F., Meng F., Wang Z. Y., Na W. Interpolymer complexation between copovidone and carbopol and its effect on drug release from matrix tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2017;43(2):190–203. DOI: 10.1080/03639045.2016.1230625.
30. Ershadul Haque S. K., Sheela A. Biocompatible interpolymer complex matrix tablets – an oral sustained release class-III antidiabetic drug. In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. Bristol: IOP Publishing. 2017;263(2):022030. DOI: 10.1088/1757-899X/263/2/022030.
31. Zhang F., Lubach J., Na W., Momin S. Interpolymer complexation between Polyox and Carbopol, and its effect on drug release from matrix tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;105(8):2386–2396. DOI: 10.1016/j.xphs.2016.05.020.
32. Yusif R. M., Hashim I. I. A., Mohamed E. A., El Rakhawy M. M. Investigation and evaluation of an in situ interpolymer complex of carbopol with polyvinylpyrrolidone as a matrix for gastroretentive tablets of ranitidine hydrochloride. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2016;64(1):42–51. DOI: 10.1248/cpb.c15-00620.
33. Lu X., Hu Z., Schwartz J. Phase transition behavior of hydroxypropylcellulose under interpolymer complexation with poly (acrylic acid). *Macromolecules*. 2002;35(24):9164–9168. DOI: 10.1021/ma0208842.
34. Volkova I. F., Grigoryan E. S., Shandryuk G. A., Gorshkova M. Y. Hydrogels Based on Interpolymer Complexes of Sodium Alginate and Synthetic Polyacids. *Polymer Science, Series A*. 2023;65(1):85–95. DOI: 10.1134/S0965545X23700803.
35. Gorshkova M. Y., Volkova I. F., Grigoriyan E. S., Molchanov S. P. Structure and properties of hydrogels based on sodium alginate and synthetic polyacids. *Mendeleev Communications*. 2024;34(3):372–375. DOI: 10.1016/j.mencom.2024.04.019.
36. Schmidt R. F., Lutzki J., Dalgliesh R., Prévost S., Gradzielski M. pH-Responsive Rheology and Structure of Poly (ethylene oxide)–Poly (methacrylic acid) Interpolymer Complexes. *Macromolecules*. 2025;58:321–333. DOI: 10.1021/acs.macromol.4c02726.
37. Nasibullin S. F., Van Duong T., Nikolakakis I., Kachrimanis K., Van den Mooter G., Moustafine R. I. Development and study of reactive hot-melt extruded granules based on interpolymer combinations of Eudragit® copolymers for indomethacin delivery. *Drug development & registration*. 2025;14(1):223–244. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1983.
38. Gordeeva D. S., Nasibullin S. F., Karpov A. G., Khutoryanskiy V. V., Moustafine R. I. Eudragit® EPO, modified with 4-phenylboronic acid groups, as a novel polymeric excipient with enhanced mucoadhesive properties. *Drug development & registration*. 2024;13(3):93-102. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-3-1866.
39. Gordeeva D. S., Sitenkova (Bukhovets) A. V., Moustafine R. I. Interpolyelectrolyte Complexes Based on Eudragit® Copolymers as Carriers for Bioadhesive Gastro-

retentive Metronidazole Delivery System. *Drug development & registration*. 2020;9(2):72–76. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-2-72-76.

40. Viktorova A. S., Elizarova E. S., Romanova R. S., Timergalieva V. R., Khutoryanskiy V. V., Moustafine R. I. Interpolymer complexes based on Carbopol® and poly(2-ethyl-2-oxazoline) as carriers for buccal delivery of metformin. *Drug development & registration*. 2021;10(1):48–55. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-48-55.
41. Nasibullin S. F., Dunaeva J. V., Akramova L. A., Timergalieva V. R., Moustafine R. I. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes based on different types of pectin with Eudragit® EPO as novel carriers for colon-specific drug delivery. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(24):17622. DOI: 10.3390/ijms242417622.
42. Ngwuluka N. C., Choonara Y. E., Modi G. du Toit L. C., Kumar P., Ndesendo V. M. K., Pillay V. Design of an Interpolyelectrolyte Gastroretentive Matrix for the Site-Specific Zero-Order Delivery of Levodopa in Parkinson's Disease. *AAPS PharmSciTech*. 2013;14:605–619. DOI: 10.1208/s12249-013-9945-1.
43. Moustafine R. I., Viktorova A. S., Khutoryanskiy V. V. Interpolymer complexes of Carbopol® 971 and poly (2-ethyl-2-oxazoline): Physicochemical studies of complexation and formulations for oral drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019;558:53–62. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.002.
44. Gómez-Carracedo A., Alvarez-Lorenzo C., Gómez-Amoza J. L., Concheiro A. Glass transitions and viscoelastic properties of Carbopol® and Noveon® compacts. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004;274(1–2):233–243. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2004.01.023.
45. Boddupalli Bindu M., Mohammed Z. N. K., Nath R. A., Banji D. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2010;1(4):381–387. DOI: 10.4103/0110-5558.76436.
46. Gordeeva D. S., Sitenkova (Bukhovets) A. V., Moustafine R. I. New Carriers for Bioadhesive Gastroretentive Drug Delivery Systems Based on Eudragit® EPO/Eudragit® L100 Interpolyelectrolyte Complexes. *Scientia Pharmaceutica*. 2024;92(1):14. DOI: 10.3390/scipharm92010014.
47. Zheng B., Liu D., Qin X., Zhang D., Zhang P. Mucoadhesive-to-Mucopenetrating Nanoparticles for Mucosal Drug Delivery: A Mini Review. *International Journal of Nanomedicine*. 2025;20:2241–2252. DOI: 10.2147/IJN.S505427.
48. Donnelly R., Shaikh R., Singh T. R. R., Garland M. J., Woolfson A. D., Donnelly R. F. Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 2011;3(1):89–100. DOI: 10.4103/0975-7406.76478.
49. Jabbari E., Wisniewski N., Peppas N. A. Evidence of mucoadhesion by chain interpenetration at a poly(acrylic acid)/mucin interface using ATR–FTIR spectroscopy. *Journal of Controlled Release*. 1993;26(2):99–108. DOI: 10.1016/0168-3659(93)90109-I.
50. Stankovits G., Szayly K., Galata D. L., Móczó J., Szilágyi A., Gyarmati B. The adhesion mechanism of mucoadhesive tablets with dissimilar chain flexibility on viscoelastic hydrogels. *Materials Today Bio*. 2025;30:101416. DOI: 10.1016/j.mtbio.2024.101416.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.1; 615.4

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2198

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка и фармакотехнологические исследования трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом

К. Д. Якимов✉, У. В. Ногаева, Е. В. Флисюк

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

✉ **Контактное лицо:** Якимов Кирилл Дмитриевич. **E-mail:** kirill.yakimov@spcpu.ru

ORCID: К. Д. Якимов – https://orcid.org/0000-0001-5591-2558;
У. В. Ногаева – https://orcid.org/0000-0002-8214-7553;
Е. В. Флисюк – https://orcid.org/0000-0001-8077-2462.

Статья поступила: 06.10.2025 **Статья принята в печать:** 24.11.2025 **Статья опубликована:** 28.11.2025

Резюме

Введение. Благодаря широкому спектру биологической активности транс-ресвератрол является перспективным кандидатом для создания лекарственных препаратов на его основе. Однако низкая растворимость в воде и химическая нестабильность субстанции при пероральном приеме ограничивает его применение в клинической практике. В связи с этим перспективно рассмотреть альтернативные системы доставки, лимитирующие эффект первого прохождения через печень.

Цель. Разработка и фармакотехнологическая оценка трансдермальных пластырей с ресвератролом.

Материалы и методы. Объект исследования – субстанция транс-ресвератрола (DSM, Швейцария). В качестве полимеров-носителей, обеспечивающих адгезию пластырей, рассматривали поливинилпирролидон (ПВП) различной молекулярной массы (К-17, К-30, К-90, USP, Dalian Sinobio Chemistry Co., Ltd., Китай) и сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата (BASF, Германия). Роль пластификатора выполнял полиэтиленгликоль-400 (ПЭГ-400) (ООО ГК «РусХим», Россия). Натрия метабисульфит (Yantai Sodium Metabisulphite Co., Ltd., Китай) использовали как антиокислитель, а спирт этиловый 95%-й (ФС.2.1.0036, Р N003960/01, ООО «РОСБИО», Россия) – как растворитель компонентов матрицы. Полиэтилентерефталатная пленка толщиной 20 мкм была необходима для создания внешнего покровного слоя (подложки), антиадгезивная силиконизированная бумага – для защиты матриц. Пластыри готовили методом полива. Высушивание проводили в климатической камере HPP110 (Memmert, Германия). В рамках контроля качества готовых ТТС, согласно требованиям методики «FTM 8» руководства международной ассоциации FINAT, оценивали сопротивление сдвигу, а также проводили оценку липкости в соответствии с монографией «Methods of Adhesion Testing» Японской фармакопеи 18-го издания. Роль препарата сравнения выполнял трансдермальный пластырь Никоретте® (LTS Lohmann Therapy-Systems AG, Германия). Для изучения биофармацевтических свойств разработанных составов использовали тестер растворения ERWEKA DT 626 (ERWEKA GmbH, Германия) с диском-держателем. Оценку гигроскопичности матриц проводили при помощи сушильного шкафа BINDER FED 53 (BINDER GmbH, Германия). Результаты исследования анализировали стандартными методами статистики в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ. Для сравнения показателей адгезии между группами проводили однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA, GraphPad Prism 8.0.2, США) при $p < 0{,}0001$.

Результаты и обсуждение. При сравнительной оценке сопротивления сдвигу было установлено, что увеличение толщины матрицы приводит к росту числа сдвиговых слоев, что снижает ее когезионную прочность. Введение высокомолекулярных ПВП К-30 и К-90 в рецептуру к ПВП К-17 обеспечивает концентрационно зависимое увеличение внутренней прочности композиции и повышает ее сопротивление сдвиговым деформациям, при этом оказывает негативное влияние на высвобождение действующего вещества из полимерной матрицы. Состав на основе сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата иллюстрирует оптимальное сочетание адгезивных и биофармацевтических свойств.

Заключение. Исследование подтверждает, что разработка ТТС представляет собой сложный, многоэтапный процесс, требующий сбалансированного подхода к оптимизации состава. Критически важным аспектом является необходимость комплексной оценки нескольких ключевых показателей качества, поскольку модификация рецептуры, направленная

© Якимов К. Д., Ногаева У. В., Флисюк Е. В., 2025
© Yakimov K. D., Nogaeva U. V., Flisyuk E. V., 2025

на улучшение одних характеристик, может привести к ухудшению других. В рамках дальнейшей разработки пластырей с ресвератролом перспективно использовать матрицу на основе сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата, а также рассмотреть возможность совершенствования состава на основе ПВП К-17 с целью улучшения его адгезионных характеристик.

Ключевые слова: трансдермальный пластырь, транс-ресвератрол, биофармацевтические исследования *in vitro*, УФ-спектрофотометрия, липкость, адгезия при сдвиге

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

Вклад авторов. К. Д. Якимов, У. В. Ногаева – подбор составов, разработка технологии, получение образцов трансдермальных пластырей с ресвератролом. К. Д. Якимов – оценка адгезивных и биофармацевтических свойств ТТС. У. В. Ногаева – статистическая обработка результатов. К. Д. Якимов, У. В. Ногаева, Е. В. Флисюк – написание текста статьи и обсуждение результатов.

Финансирование. Работа выполнена на базе Центра коллективного пользования (ЦКП) «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России».

Для цитирования: Якимов К. Д., Ногаева У. В., Флисюк Е. В. Разработка и фармакотехнологические исследования трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):125–137. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2198

Development and pharmacotechnological studies of transdermal patches with trans-resveratrol

Kirill D. Yakimov✉, Ul'yana V. Nogaeva, Elena V. Flisyuk

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Kirill D. Yakimov. **E-mail:** kirill.yakimov@spcpu.ru

ORCID: Kirill D. Yakimov – https://orcid.org/0000-0001-5591-2558;
Ul'yana V. Nogaeva – https://orcid.org/0000-0002-8214-7553;
Elena V. Flisyuk – https://orcid.org/0000-0001-8077-2462.

Received: 06.10.2025 **Accepted:** 24.11.2025 **Published:** 28.11.2025

Abstract

Introduction. Due to its broad spectrum of biological activity, trans-resveratrol is a promising candidate for the development of pharmaceuticals. However, its low aqueous solubility and chemical instability when administered orally limit its clinical use. Therefore, alternative delivery methods that limit the first-pass effect through the liver are promising.

Aim. Development and pharmacotechnological evaluation of resveratrol transdermal patches.

Materials and methods. The object of the study was the substance trans-resveratrol (DSM, Switzerland). Polyvinylpyrrolidone (PVP) of various molecular weights (K-17, K-30, K-90, USP, Dalian Sinobio Chemistry Co., Ltd., China) and a copolymer of methacrylic acid and ethyl acrylate (BASF, Germany) were considered as carrier polymers that ensured the adhesion of the patches. Polyethyleneglycol-400 (PEG-400) (LLC GC "Ruskhim", Russia) served as a plasticizer. Sodium metabisulfite (Yantai Sodium Metabisulfite Co., Ltd, China) was used as an antioxidant, and ethyl alcohol 95 % (Pharmacopoeial Monograph 2.1.0036, P N003960/01, ROSBIO LLC, Russia) served as a solvent for the matrix components. A 20-μm-thick polyethylene terephthalate film formed the outer coating layer (backing), and anti-adhesive siliconized paper protected the matrices. Patches were prepared using the casting method and dried in an HPP110 climatic chamber (Memmert, Germany). As part of the quality control of the finished TTS, shear resistance was assessed in accordance with the requirements of the FTM 8 methodology of the FINAT International Association Guidelines, and adhesion was assessed in accordance with the "Methods of Adhesion Testing" monograph of the 18th edition of the Japanese Pharmacopoeia. The Nicorette® transdermal patch (LTS Lohmann Therapy-Systems AG, Germany) served as the reference drug. An ERWEKA DT 626 dissolution tester (ERWEKA GmbH, Germany) with a holder disk was used to study the biopharmaceutical properties of the developed formulations. The hygroscopicity of the matrices was assessed using a BINDER FED 53 drying oven (BINDER GmbH, Germany). The test results were processed using elementary statistical methods in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. To compare adhesion indices between groups, a one-way analysis of variance was performed (One-way ANOVA, GraphPad Prism 8.0.2, USA) at $p < 0{,}0001$.

Results and discussion. A comparative assessment of shear strength revealed that increasing matrix thickness leads to an increase in the number of shear layers, which reduces its cohesive strength. The introduction of high-molecular-weight PVP K-30 and K-90 into the PVP K-17 formulation provides a concentration-dependent increase in the composition's internal strength and enhances its resistance to shear deformations, but has a negative impact on the release of the active ingredient from the polymer matrix. The composition, based on a copolymer of methacrylic acid and ethyl acrylate, demonstrates an optimal combination of adhesive and biopharmaceutical properties.

Conclusion. The study confirms that developing a TTS is a complex, multi-step process that requires a balanced approach to formulation optimization. A critical aspect is the need for a comprehensive assessment of several key quality indicators, as modifying the formulation to improve some characteristics may degrade others. For further development of resveratrol patches, it is promising to use a matrix based on a copolymer of methacrylic acid and ethyl acrylate, and to consider optimizing the PVP K-17-based formulation to improve its adhesion properties.

Keywords: transdermal patch, trans-resveratrol, *in vitro* biopharmaceutical studies, UV spectrophotometry, tack, shear adhesion

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 D. Yakimov, Ul'yana V. Nogaeva – selection of formulations, technology development, production of transdermal patches with resveratrol samples. Kirill D. Yakimov – evaluation of the adhesive and biopharmaceutical properties of the TTS. Ul'yana V. Nogaeva – statistical processing of the results. Kirill D. Yakimov, Ul'yana V. Nogaeva, Elena V. Flisyuk – writing the article and discussing the results.

Funding. This work was carried out at the Shared Use Center (SUC) of the Analytical Center of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education St. Petersburg Chemical-Funded University of the Ministry of Health of the Russian Federation.

For citation: Yakimov K. D., Nogaeva U. V., Flisyuk E. V. Development and pharmacotechnological studies of transdermal patches with trans-resveratrol. *Drug development & registration*. 2025;14(4):125–137. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2198

ВВЕДЕНИЕ

Современные тенденции в фармацевтической технологии связаны с активным поиском и созданием инновационных лекарственных форм, призванных преодолеть ограничения традиционных способов доставки. На сегодняшний день трансдермальные терапевтические системы (ТТС) занимают особое положение благодаря своей способности обеспечивать контролируемое высвобождение действующего вещества (ДВ) и его стабильную концентрацию в системном кровотоке, минимизируя при этом эффект первичного прохождения через печень и снижая частоту побочных реакций. Эти преимущества делают ТТС особенно перспективными для доставки соединений с низкой биодоступностью при пероральном применении [1].

Транс-ресвератрол (3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен) представляет собой природное соединение класса стильбенов, обладающее мультитаргетным механизмом действия. Одной из его уникальных особенностей является возможность связываться как с α-, так и с β-эстрогеновыми рецепторами. Модулируя эстрогензависимые пути, подавляя развитие окислительного стресса и генерализованного воспаления, транс-ресвератрол способствует редукции вазомоторных симптомов, улучшает когнитивные функции и сдерживает темпы инволюционных нарушений, что особенно актуально в период менопаузы [2].

В настоящее время на фармацевтическом рынке Российской Федерации, согласно данным Государственного реестра лекарственных средств[1], нет зарегистрированных лекарственных препаратов, содержащих транс-ресвератрол. Однако он входит в состав некоторых биологически активных добавок, выпускаемых в форме капсул.

Основным лимитирующим фактором широкого клинического применения ресвератрола является его низкая растворимость в воде и химическая нестабильность при пероральном приеме. При прохождении через желудочно-кишечный тракт и печень молекула подвергается интенсивному метаболизму, в результате чего в системный кровоток поступает менее 1 % неизмененного активного вещества, что резко снижает его терапевтическую эффективность [2].

Для преодоления низкой биодоступности ресвератрола ученые прибегают к созданию композиций с солюбилизаторами и вспомогательными веществами (в частности, с полоксамером 407, полисорбатом-80, метил-бета-циклодекстрином) [3, 4]. Одной из перспективных стратегий внедрения ресвератрола в клиническую практику является использование альтернативных путей введения, позволяющих миновать печеночный метаболизм. В этой связи интерес приобретают сублингвальные формы – спреи и

[1] Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.minzdrav.gov.ru/default.aspx. Ссылка активна на 04.10.2025.

таблетки для рассасывания [2], мукоадгезивные пленки [5], трансдермальные формы, представленные пленками с твердыми дисперсиями ресвератрола [6] и пластырями для сайт-специфической доставки. Согласно имеющимся литературным данным, молекула ресвератрола в значительной степени отвечает требованиям к активным фармацевтическим субстанциям (АФС), предназначенным для трансдермальной доставки посредством пассивной диффузии (таблица 1) [7–12].

Способность ресвератрола к чрескожному транспорту подтверждена многочисленными исследованиями, посвященными разработке различных систем доставки.

S. Gadag и соавторы получили трансдермальный пластырь с ресвератролом на основе гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ) и ПВП для терапии рака молочной железы [17]. В исследованиях Kalita B. и соавторов фосфолипидный комплекс ресвератрола был включен в пластырь на основе полимеров-носителей Eudragit® RL 100 и ПВП К-30 для лечения воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата [18]. Результаты исследований демонстрируют пролонгированное и контролируемое высвобождение ресвератрола в системный кровоток. Известно также о разработке трансдермальных систем с микроиглами, содержащих наноразмерные носители ресвератрола для лечения болезни Паркинсона [19] и ревматоидного артрита [20].

На мировом рынке имеются готовые решения в виде комбинированных трансдермальных пластырей с ресвератролом (например, NAD+ Patch, Netrition, Inc., США, или Resveratrol Patch, LiveLoveThrive Pty, Ltd., США). Однако данные рецептуры не являются лекарственными препаратами и не имеют доказанной эффективности.

Целью представляемого исследования стала разработка и фармакотехнологическая оценка трансдермальных пластырей с ресвератролом, направленных на коррекцию климактерического синдрома.

Актуальность работы связана с уходом с фармацевтического рынка Российской Федерации препаратов для менопаузальной гормональной терапии в форме ТТС (в частности ТТС Климара®, Bayer Weimar GmbH & Co., KG, Германия), что создало значительный дефицит в выборе удобных и эффективных терапевтических решений и послужило стимулом для развития отечественных технологий.

При этом выбор фитоэстрогена в качестве действующего вещества обусловлен приверженностью к концепции поиска безопасных альтернатив традиционной гормонотерапии. Транс-ресвератрол обладает доказанным терапевтическим потенциалом при коррекции климактерических расстройств, характеризуется более мягким действием и благоприятным профилем безопасности по сравнению с синтетическими гормонами [2, 21–24].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Роль действующего вещества (ДВ) в трансдермальных пластырях выполнял транс-ресвератрол – субстанция с содержанием основного вещества не менее 99 % (DSM, Швейцария). В качестве вспомогательных веществ (ВВ) были использованы:

- полимеры-носители, обеспечивающие адгезию го-товых пластырей: поливинилпирролидон (ПВП) различной молекулярной массы (К-17, К-30, К-90, USP, Dalian Sinobio Chemistry Co., Ltd., Китай), сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата (BASF, Германия);
- пластификатор – полиэтиленгликоль-400 (ПЭГ-400) (ООО ГК «РусХим», Россия);

Таблица 1. Характеристика транс-ресвератрола с точки зрения требований к АФС для трансдермальной доставки

Table 1. Characterization of trans-resveratrol in terms of API requirements for transdermal delivery

Молекулярная масса Molecular weight	**Число доноров водородных связей** Number of H-bond donors	**Число акцепторов водородных связей** Number of H-bond acceptors	**Коэффициент распределения н-октанол/вода (log P)** Octanol-water partition coefficient (log P)	**Нейтральный заряд** Neutral charge
Требования к АФС Requirements for AFS				
Не более 500 Да (оптимально не более 335 Да) <500 Da (optimal <335 Da)	Не более 5 (оптимально не более 2) ≤5 (optimal ≤2)	Не более 10 (оптимально не более 5) ≤10 (optimal ≤5)	1–3	+
Характеристика транс-ресвератрола [13–16] Characteristics of trans-resveratrol [13–16]				
228,2 Да 228,2 Da	3	3	~3	+

- антиокислитель – натрия метабисульфит (Yantai Sodium Metabisulphite Co., Ltd., Китай);
- растворитель компонентов матрицы – спирт этиловый 95%-й (ФС.2.1.0036, Р N003960/01, ООО «РОСБИО», Россия).

В качестве внешнего покровного слоя (подложки) была выбрана полиэтилентерефталатная пленка толщиной 20 мкм, для защиты матриц использовали антиадгезионную силиконизированную бумагу.

Субстанция транс-ресвератрола обладает выраженной гидрофобностью и электростатическим поведением частиц, поэтому полное растворение ДВ в гидрофильной пластырной массе являлось одной из основных технологических задач. Правильно подобранные количества и соотношения ВВ должны обеспечивать оптимальную толщину и когезионную прочность матрицы, а также предотвращать рекристаллизацию ДВ, обеспечивая стабильность при хранении.

Технология получения ТТС

Модельные образцы пластырей матричного типа («лекарство в адгезиве») изготавливали методом полива (рисунок 1).

На первом этапе готовили 0,05%-й раствор натрия метабисульфита в полиэтиленгликоле-400. Далее смешивали полученный раствор пластификатора с половинным количеством спирта этилового 95%-го и постепенно растворяли в данной смеси транс-ресвератрол. Получали прозрачный раствор ярко-желтого цвета без видимых механических включений. Затем полимер-носитель (или их комбинацию) растворяли в оставшемся количестве спирта до получения вязкой массы. После чего раствор ресвератрола в смеси пластификатора и спирта вносили в раствор полимера-носителя при перемешивании. Полученную пластырную массу выливали на защитную пленку-подложку, разравнивали и в случае необходимости образцы помещали в вакуумную камеру для дерации. Сушку осуществляли в климатической камере HPP110 (Memmert, Германия) при температуре 23 ± 2 °C и относительной влажности воздуха 50 ± 5 % в течение 24 ч.

Оценка адгезивных свойств

Для исследования влияния ВВ и их количеств на адгезивные характеристики пластырей была проведена оценка сдвиговой адгезии (shear adhesion) и липкости (tack). Перед проведением испытаний образцы пластырей нарезали на полоски подходящей длины и выдерживали в течение 24 ч при температуре 23 ± 2 °C и относительной влажности 50 ± 5 %. Испытания проводили при аналогичных условиях.

Сопротивление сдвигу (shear resistance), или **сдвиговая адгезия** (shear adhesion), – способность адгезива противостоять сдвиговым нагрузкам, действующим параллельно поверхности контакта. Исследование сдвиговой адгезии позволяет оценить устойчивость АЧД к тангенциальным напряжениям, что характеризует когезионную прочность матрицы. При изучении данного параметра определяют усилие, необходимое для смещения испытуемого образца пластыря относительно тестовой пластины в направлении, параллельном плоскости контакта. Если для матрицы характерна высокая степень текучести, то возможна миграция адгезива («cold flow») в процессе транспортировки, хранения и применения пластыря [25].

Исследование сопротивления сдвигу проводили статическим методом согласно требованиям методики «FTM 8» руководства международной ассоциации FINAT. Образец пластыря площадью 25 × 25 мм наклеивали на тестовую панель из полированной нержавеющей стали. Дважды обрабатывали наклеенный участок прикаточным роликом массой 2 кг без приложения дополнительного усилия. Тестовую пластину с образцом устанавливали на штативе под наклоном 2° и выдерживали в течении 7 мин. После чего свободный конец образца нагружали гирей массой 1 кг и отсчитывали время, необходи-

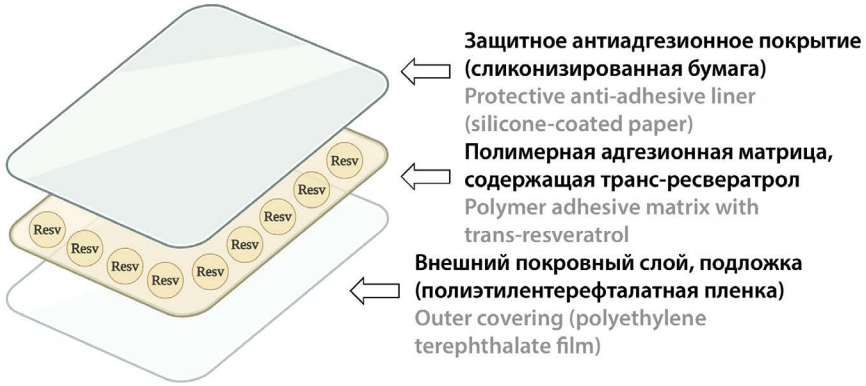


Рисунок 1. Строение полимерного пластыря матричного типа с транс-ресвератролом

Figure 1. Structure of polymer matrix patch with trans-resveratrol

мое для полного отслоения образца от тестовой панели (рисунок 2).

Результат испытания выражали в минутах. В качестве референтного препарата был использован трансдермальный пластырь Никоретте® (LTS Lohmann Therapy-Systems AG, Германия). Испытания проводили в трех повторностях.

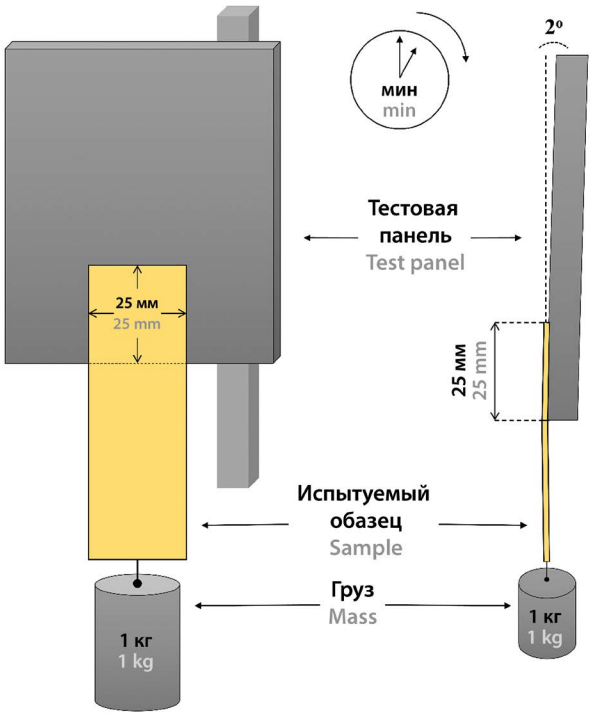


Рисунок 2. Схема оборудования для оценки сопротивления сдвигу статическим методом

Figure 2. Schematic illustration of equipment for Static shear adhesion testing

Липкость (tack) – способность пластыря формировать первоначальное соединение с поверхностью кожи при кратковременном контакте и минимальном давлении.

Первоначальное соединение определяется молекулярными взаимодействиями на границе раздела «адгезив – субстрат», поверхностной энергией и реологическими свойствами матрицы, в особенности ее вязкоупругими характеристиками. Для формирования прочного соединения адгезивная матрица должна обладать умеренной вязкостью, но при этом достаточной текучестью и иметь способность к быстрой деформации и смачиванию поверхности кожи. Контроль данного параметра необходим для оценки качества формирования первоначального соединения при нанесении ТТС. При низких показателях липкости система не будет способна мгновенно фиксироваться на коже пациента при минимальном давлении, что может привести к отклеиванию пластыря практически сразу после нанесения [25].

Оценку липкости проводили в соответствии с монографией «Methods of Adhesion Testing» Японской фармакопеи 18-го издания при помощи катящегося стального шарика с его фиксацией на горизонтальной поверхности (Rolling Ball Tack Test). Для испытания использовали специальный прибор ZL-2608 (Dongguan Zhongli Instrument Technology Co., Ltd., Китай), представленный в виде схемы на рисунке 3.

Во время исследования образцы закрепляли на ровной поверхности, избегая образования складок и загибов пластыря, удаляя при этом защитное антиадгезионное покрытие. Прибор ставили на образец и при помощи рычага отпускали стальной шарик стандартного диаметра (11,1 мм) и массы (5,64 г) на адгезивный слой исследуемого пластыря под углом (21,5°).

За результат испытания принимали расстояние, которое проходил шарик до полной остановки. Если оно составляло 25 см и более, значение липкости считали неудовлетворительным [26]. В качестве препарата сравнения использовали трансдермальный пластырь Никоретте® площадью 22,5 см^2 (LTS Lohmann Therapy-Systems AG, Германия). Испытания проводили в пяти повторностях. При обработке результатов и построении графиков для большей наглядности за значение липкости принимали величину, обратную пройденному шариком расстоянию (1/см).

Биофармацевтическое исследование ТТС – тест растворения

В рамках сравнительного изучения биофармацевтических свойств разработанных составов проводили тест растворения в соответствии с методикой, изложенной в ОФС.1.4.2.0017 Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XV издания[1]. При проведении испытаний использовали тестер растворения ERWEKA DT 626 (ERWEKA GmbH, Германия). На первом этапе с пластырей удаляли защитный слой, после чего на адгезивную матрицу наклеивали полупроницаемую мембрану из инертной пористой целлюлозы. ТТС с мембраной закрепляли в специально изготовленном из инертных материалов диске-держателе (рисунок 4), обеспечивающем площадь высвобождения, равную площади исследуемых пластырей, и помещали в сосуд для растворения с 500 мл воды очищенной (pH = 5,7 ± 0,1).

Испытание проводили при температуре диализной среды 32 ± 0,5 °С. Скорость вращения мешалки составляла 100 об/мин. Отбор проб (4 мл) осуществляли через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 16, 20, 24 ч с последующим восполнением объема. Количест-

[1] ОФС.1.4.2.0017 «Растворение для трансдермальных пластырей» Государственной фармакопеи РФ XV издания. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-4/1-4-2/rastvorenie-dlya-transdermalnykh-plastyrey/ Ссылка активна на 04.10.2025.

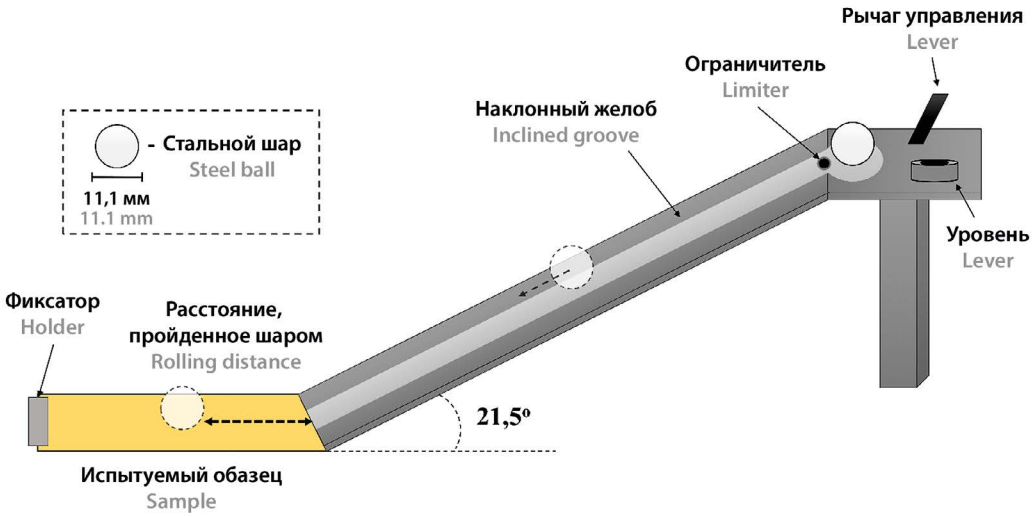


Рисунок 3. **Схема оборудования для оценки липкости при помощи катящегося шарика**

Figure 3. **Schematic illustration of equipment for Rolling ball tack testing**

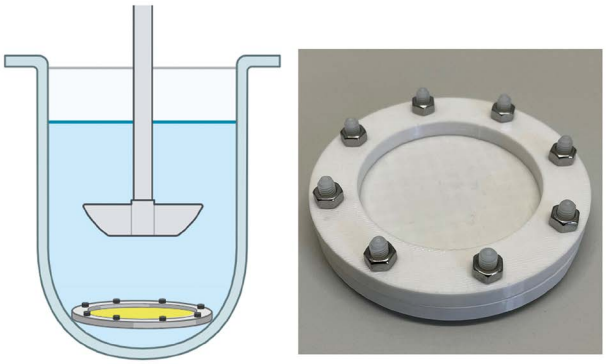


Рисунок 4. **Оборудование для проведения испытания «Растворение для пластырей трансдермальных»**

Figure 4. **Equipment for dissolution test for transdermal patches**

венное содержание транс-ресвератрола в отобранных пробах определяли УФ-спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Genesys 10 UV (Spectronic Unicam, США) в диапазоне длин волн 240–340 нм. Оптическую плотность измеряли в максимуме поглощения 312 ± 2 нм при толщине слоя 10 мм. Параллельно проводили контрольный опыт, исследуя образцы без ДВ. Содержание транс-ресвератрола в диализате рассчитывали с использованием калибровочного графика. Испытания проводили в пяти повторностях.

В результате исследования были изучены такие ключевые параметры, как количество высвободившегося ресвератрола (мг/см^2), скорость трансдермальной подачи за определенный промежуток времени (мг/ч · см^2) и степень высвобождения (%) ресвератрола из матриц.

Оценка гигроскопичности матриц

Потерю в массе при высушивании определяли в соответствии со способом № 1 ОФС.1.2.1.0010 ГФ РФ[1] с использованием сушильного шкафа BINDER FED 53 (BINDER GmbH, Германия) в трех повторностях.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов была основана на требованиях ОФС.1.1.0013 ГФ РФ[2]. Для полученных данных рассчитывали средние значения и стандартные ошибки среднего ($M \pm m$).

Поскольку результаты оценки адгезивных свойств ТТС соответствовали законам нормального распределения, их анализ проводили посредством однофакторного дисперсионного анализа (One-way ANOVA and nonparametric or mixed, GraphPad Prism 8.0.2, США), уровень статистической значимости различий составил: $p < 0{,}0001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании литературных данных и ранее проводимых исследований были подобраны рецептуры и изучены свойства 10 модельных образцов транс-

[1] ОФС.1.2.1.0010 «Потеря в массе при высушивании» Государственной фармакопеи РФ XV издания. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-2/1-2-1/poterya-v-masse-pri-vysushivanii/ Ссылка активна на 04.10.2025.

[2] ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» Государственной фармакопеи РФ XV издания. Доступно: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/statisticheskaya-obrabotka-rezultatov-fizicheskikh-fiziko-khimicheskikh-i-khimicheskikh-ispytaniy/ Ссылка активна на 04.10.2025.

дермальных пластырей, содержащих транс-ресвератрол в количестве 100 мг/пластырь [5, 17, 27]. Полученные составы можно условно разделить на 4 группы в зависимости от используемых полимеров-носителей (таблица 2).

Готовые пластыри представляли собой равномерно распределенную по пленке-подложке прозрачную, однородную матрицу желтого цвета.

При подборе технологического режима сушки пластырей было установлено, что внешний вид, структурно-механические и адгезивные свойства матриц на основе ПВП сильно зависят от влажности воздуха, при которой выдерживались образцы. Согласно литературным данным [6, 28, 29], ввиду высокой гигроскопичности ПВП и связанного с ней поглощения молекул воды из окружающей среды полимерные цепи ПВП получают большую свободу движения, делая матрицу более мягкой и гибкой. За счет этого явления увеличивается эффективная площадь контакта ТТС с рельефными поверхностями, в частности с неровностями кожных покровов. Влага в данном случае выполняет роль дополнительного естественного пластификатора, поэтому контроль параметров окружающей среды при высушивании пластырей является неотъемлемой частью технологического процесса.

В ходе проведенного эксперимента при недостаточной относительной влажности воздуха (менее 45 %) матрицы на основе ПВП становились хрупкими, стеклообразными и утрачивали адгезивные свойства. Для корректировки данного феномена увеличение количества ПЭГ-400 не представлялось возможным ввиду нерационального утолщения матрицы и потери когезионной прочности.

В результате испытаний для пластырей на основе ПВП и сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата был рекомендован режим сушки при температуре 23 ± 2 °C и относительной влажности 50 ± 5 %.

Потери в массе при высушивании у образцов на основе ПВП составляли от 10 до 15 %, в то время как у образцов на основе акрилового полимера – не более 8 %, что подтверждает особенности используемых ВВ и укладывается в оптимальный интервал значений для трансдермальных пластырей на гидрофильной основе: от 6 до 15 % [30]. При этом для композиций с ПВП была установлена полная обратимость структурно-механических свойств: высушенные образцы восстанавливали свои первоначальные характеристики после суточной выдержки при температуре 23 ± 2 °C и относительной влажности 50 ± 5 %. Образцы на основе сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата (№ 9 и 10) сохраняли адгезивные свойства на протяжении всего испытания.

При сравнительной оценке сопротивления сдвигу разработанных образцов было установлено, что увеличение толщины матрицы приводит к росту числа сдвиговых слоев, что снижает когезионную прочность матрицы (образцы № 1, 3, 6, 9).

Введение ПВП К-30 и К-90 в рецептуру образца № 2 обеспечивает концентрационно зависимое увеличение внутренней прочности композиции и повышает ее сопротивление сдвиговым деформациям (образцы № 4 и 5; 7 и 8).

Таблица 2. Составы трансдермальных пластырей с ресвератролом (площадь 26 см², г)

Table 2. Composition of resveratrol transdermal patches (area 26 cm², g)

Компоненты Ingredients		Образец № Sample №									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ДВ Active substance	Транс-ресвератрол Trans-resveratrol	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Полимер-носитель (адгезив) Polymer carrier (adhesive)	ПВП К-17 PVP K-17	0,4	0,25	0,3	0,23	0,21	0,38	0,23	0,21	–	–
	ПВП К-30 PVP K-30	–	–	0,1	0,02	0,04	–	–	–	–	–
	ПВП К-90 PVP K-90	–	–	–	–	–	0,02	0,02	0,04	–	–
	Сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата Copolymer of methacrylic acid and ethyl acrylate	–	–	–	–	–	–	–	–	0,3	0,225
Пластификатор Plasticizer	ПЭГ-400 PEG 400	0,3	0,25	0,3	0,25	0,25	0,3	0,25	0,25	0,4	0,225
Антиокислитель Antioxidant	Натрия метабисульфит Sodium metabisulfite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Растворитель Solvent	Спирт этиловый 95%-й Ehanol 95 %	1,1	1,0	1,1	1,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,6	1,5

При обработке результатов посредством проведения однофакторного дисперсионного анализа (One-way ANOVA and nonparametric or mixed, GraphPad Prism 8.0.2, США) было установлено, что между всеми образцами, кроме № 5, 7, 10, а также парами № 3 и 6, № 6 и 9 наблюдаются статистически значимые различия при $p < 0{,}005$ и $p < 0{,}0001$.

Результаты исследования отражены на рисунке 5.

Для дальнейшего изучения показателя липкости были отобраны образцы № 4, 5, 7, 8, 10, поскольку они продемонстрировали наибольшее сопротивление сдвиговым нагрузкам в своей группе.

В ходе испытания образцы на основе ПВП, выполняющего роль адгезива, имели низкие показатели липкости по сравнению с образцом на основе сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата.

Во время исследования образца № 10 и препарата сравнения (трансдермального пластыря Никоретте®) были получены сопоставимые результаты (статистически значимых отличий нет, $p = 0{,}6941$). При этом стоит отметить, что образец № 10 продемонстрировал возможность формирования прочного соединения при кратковременном контакте и минимальном давлении (рисунок 6).

Делая вывод по результатам оценки параметров адгезии разработанных систем, можно сказать о том, что наиболее предпочтительным для дальнейших исследований является образец № 10, обладающий

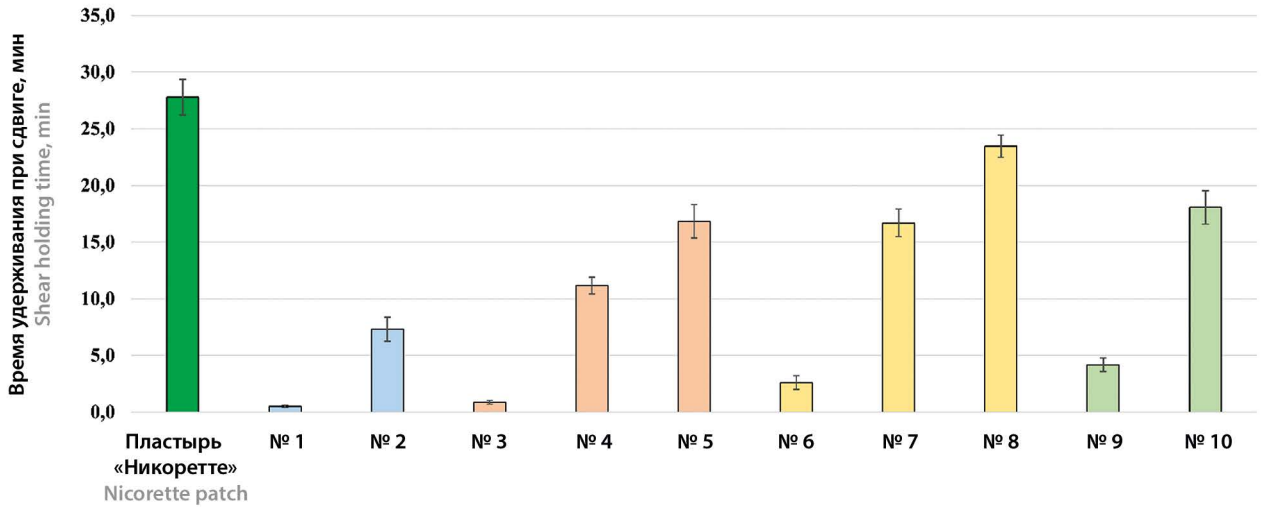


Рисунок 5. **Результаты исследования сдвиговой адгезии**

Figure 5. **Static shear adhesion test results**

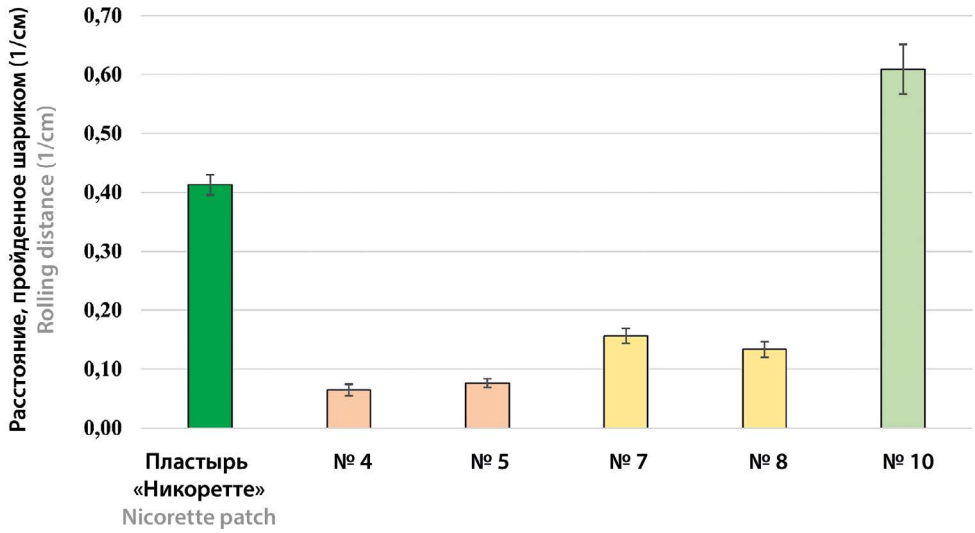


Рисунок 6. **Результаты исследования липкости**

Figure 6. **Rolling ball tack test results**

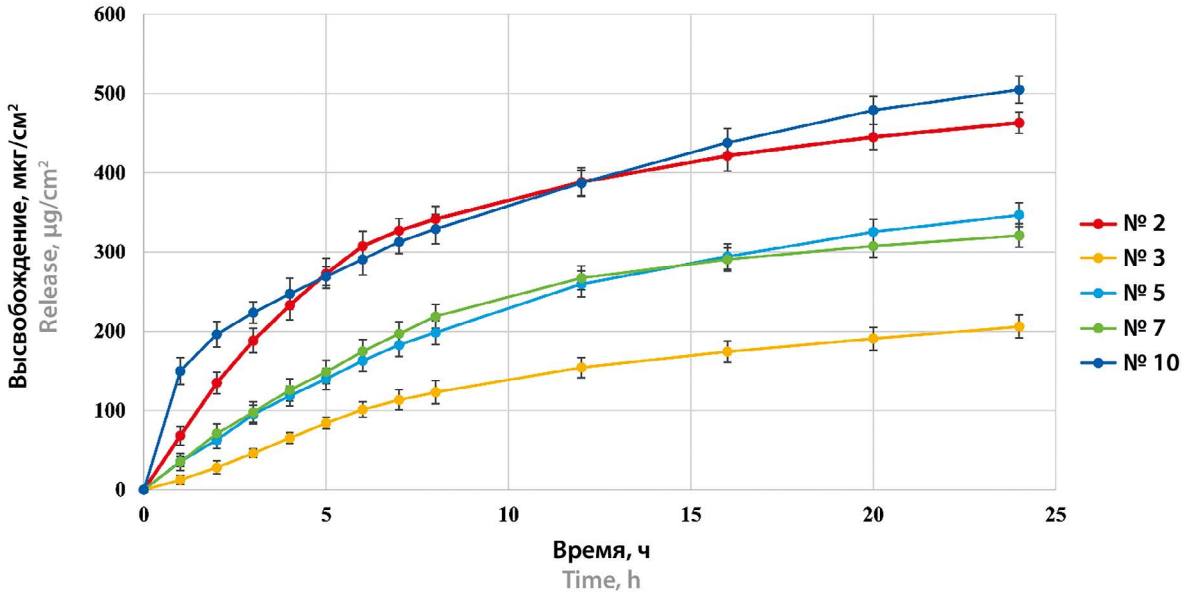


Рисунок 7. Результаты испытания «Растворение для пластырей трансдермальных»

Figure 7. Transdermal patch dissolution test results

удовлетворительными показателями сопротивления сдвигу и высокими показателями липкости.

Однако стоит учесть, что проведенные испытания не могут в полной мере отражать реальные эксплуатационные свойства ТТС, так как идеально гладкая и химически инертная поверхность нержавеющей стали кардинально отличается от сложной структуры живой ткани.

Биофармацевтическое исследование ТТС – тест растворения

Биофармацевтическое исследование *in vitro* было направлено на определение возможности трансдермального переноса ресвератрола из разработанных ЛФ, а также на изучение влияния ВВ и их количеств на скорость и полноту высвобождения.

Для проведения испытания были отобраны образцы, содержащие в качестве полимеров-носителей:

- исключительно ПВП К-17 (образец № 2);
- комбинацию ПВП К-30 и К-17 в соотношении 1:3 (образец № 3) и в соотношении 1:5,25 (образец № 5);
- комбинацию ПВП К-90 и К-17 в соотношении 1:11,5 (образец № 7);
- сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата (образец № 10).

Результаты оценки высвобождения (мкг/мл) транс-ресвератрола из указанных матриц за 24 ч представлен на рисунке 7.

В ходе исследования было установлено, что включение в состав матрицы на основе ПВП К-17 (образец № 2) высокомолекулярных ПВП приводит значительному замедлению кинетики высвобождения ДВ. Установлена обратная корреляция между молекулярной массой полимерного компонента, его концентрацией в системе и скоростью транспорта ресвератрола через полупроницаемую мембрану. В частности, при соотношении ПВП К-30 к ПВП К-17 1:3 (образец № 3) скорость высвобождения транс-ресвератрола оказалась практически в два раза ниже по сравнению с композицией, где указанное соотношение составляло 1:5,25 (образец № 5).

Сопоставимые кинетические профили высвобождения ресвератрола, характерные для образцов № 5 и 7, указывают на то, что при соотношении ПВП К-90 к К-17, превышающем 1:11.5, происходит дальнейшее снижение скорости высвобождения ДВ из полимерной матрицы.

Образец № 10, содержащий в качестве адгезива сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата, обладает наибольшими показателями высвобождения ДВ, демонстрируя в первые часы высокую скорость подачи ДВ и к 24-му часу степень высвобождения, равную 12,88 ± 0,43 %.

Состав образца № 2 также обеспечивает сопоставимо высокие значения высвобождения, однако его адгезивные характеристики признаны неудовлетворительными, что указывает на целесообразность модификации состава и дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование подтверждает, что разработка ТТС представляет собой сложный, многоэтапный процесс, требующий сбалансированного подхода к оптимизации состава. Критически важным

аспектом является необходимость комплексной оценки нескольких ключевых показателей качества, поскольку модификация рецептуры, направленная на улучшение одних характеристик, может привести к ухудшению других. Это было наглядно продемонстрировано на примере введения высокомолекулярных фракций ПВП, где их присутствие в составе матриц одновременно с повышением структурной прочности и сопротивления сдвигу вызывало значительное замедление кинетики высвобождения транс-ресвератрола.

В качестве наиболее перспективного состава для дальнейших исследований на основе совокупности результатов (оптимального соотношения адгезивных свойств и высвобождающей способности) выбран образец № 10, содержащий в составе сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата.

Образец № 2 также продемонстрировал высокую скорость трансдермальной подачи, однако ввиду неудовлетворительных адгезионных характеристик рецептура нуждается в последующей доработке.

Полученные данные *in vitro* свидетельствуют о принципиальной возможности создания трансдермального пластыря для пролонгированной доставки ресвератрола. Достигнутые показатели контролируемого высвобождения позволяют рассматривать разработанные ТТС как потенциальное средство для долгосрочной терапии, направленной на купирование менопаузальных расстройств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арефьев А. С., Жукова И. В. Трансдермальные терапевтические системы, их типы и преимущества. *Инновационные научные исследования*. 2022;1–3(15):13–20. DOI: 10.5281/zenodo.6368638.
2. Марченкова Л. А., Котенко Н. В., Карева Е. Н. Альтернативная терапия климактерического синдрома для замедления процессов старения. *Доктор.Ру*. 2025;24(5):101–109. DOI: 10.31550/1727-2378-2025-24-5-101-109.
3. Сокуренко М. С., Кречетов С. П., Олифер С. А., Краснюк И. И., Соловьёва Н. Л., Макаренко М. А., Демина Н. Б. Разработка состава и технологии капсул с ресвератролом. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(4):16–19. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-4-16-19.
4. Кречетов С. П., Масленникова М. С., Куксин А. Ю., Малинкин А. Д., Соловьева Н. Л., Краснюк И. И. Получение и исследование свойств композиций ресвератрола с солюбилизаторами. *Российский биотерапевтический журнал*. 2023;22(2):65–73. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-2-65-73.
5. Dołowacka-Jóźwiak A., Nawrot-Hadzik I., Matkowski A., Ciecieląg T., Gawin-Mikołajewicz A., Dudek-Wicher R., Karolewicz B. L. Mucoadhesive PVA Film for Sustained Resveratrol Delivery: Formulation, Characterization, and Release Profile. *Molecules*. 2025;30(12):2642. DOI: 10.3390/molecules30122642.
6. Riccio B. V. F., Soares do Nascimento A. L. C., Bagliotti Meneguin A., Rodero C. F., Santos K. P., Sábio R. M., de Annunzio S. R., Fontana C. R., da Silva Barud H., Colerato Ferrari P., Chorilli M. Solid dispersions incorporated into PVP films for the controlled release of trans-resveratrol: development, physicochemical and in vitro characterizations and in vivo cutaneous anti-inflammatory evaluation. *Pharmaceutics*. 2022;14(6):1149. DOI: 10.3390/pharmaceutics14061149.
7. Choy Y. B., Prausnitz M. R. The rule of five for non-oral routes of drug delivery: ophthalmic, inhalation and transdermal. *Pharmaceutical research*. 2011;28(5):943–948. DOI: 10.1007/s11095-010-0292-6.
8. Sivadasan D., Madkhali O. A. The Design Features, Quality by Design Approach, Characterization, Therapeutic Applications, and Clinical Considerations of Transdermal Drug Delivery Systems-A Comprehensive Review. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(10):1346. DOI: 10.3390/ph17101346.
9. Vaseem R. S., D'cruz A., Shetty S., Hafsa, Vardhan A., Shenoy R. S., Marques S. M., Kumar L., Verma R. Transdermal Drug Delivery Systems: A Focused Review of the Physical Methods of Permeation Enhancement. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2024;14(1):67–85. DOI: 10.34172/apb.2024.018.
10. Zhang L., Dong Z., Liu W., Wu X., He H., Lu Y., Wu W., Qi J. Novel Pharmaceutical Strategies for Enhancing Skin Penetration of Biomacromolecules. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(7):877. DOI: 10.3390/ph15070877.
11. Ribeiro A., Pereira-Leite C., Rosado C., Aruci E., Colley H. E., Krohn I. K., Baldea I., Pantelić I., Fluhr J. W., Simões S. I., Savić S., Costa Lima S. A. Enhancing Transcutaneous Drug Delivery: Advanced Perspectives on Skin Models. *JID Innovations*. 2024;5(2):100340. DOI: 10.1016/j.xjidi.2024.100340.
12. Cheng T., Tai Z., Shen M., Li Y., Yu J., Wang J., Zhu Q., Chen Z. Advance and Challenges in the Treatment of Skin Diseases with the Transdermal Drug Delivery System. *Pharmaceutics*. 2023;15(8):2165. DOI: 10.3390/pharmaceutics15082165.
13. Agbadua O. G., Kúsz N., Berkecz R., Vass E., Csámpai A., Tóth G., Balogh G. T., Marcourt L., Wolfender J.-L., Ferreira Queiroz E., Hunyadi A. New Insights into the French Paradox: Free Radical Scavenging by Resveratrol Yields Cardiovascular Protective Metabolites. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2025;68(10):10031–10047. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.4c03061.
14. Grau L., Soucek R., Pujol M. D. Resveratrol derivatives: Synthesis and their biological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023;246:114962. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114962.
15. Mitrović D., Pavlović N. In silico approach in the development of structural analogues of resveratrol with improved distribution in the central nervous system. *Kragujevac Journal of Science*. 2024;46:59–71. DOI: 10.5937/KgJSci2400000M.
16. Gironde C., Rigal M., Dufour C., Furger C. AOP1, a New Live Cell Assay for the Direct and Quantitative Measure of Intracellular Antioxidant Effects. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(6):471. DOI: 10.3390/antiox9060471.
17. Gadag S., Narayan R., Nayak Y., Garg S., Nayak U. Y. Design, development and evaluation of Resveratrol transdermal patches for breast cancer therapy. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;632:122558. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.122558.
18. Kalita B., Das M. K., Sarma M., Deka A. Sustained Anti-inflammatory Effect of Resveratrol-Phospholipid Complex Embedded Polymeric Patch. *AAPS PharmSciTech*. 2017;18(3):629–645. DOI: 10.1208/s12249-016-0542-y.

19. Bandiwadekar A., Jose J., Gopan G., Augustin V., Ashtekar H., Khot K. B. Transdermal delivery of resveratrol loaded solid lipid nanoparticle as a microneedle patch: a novel approach for the treatment of Parkinson's disease. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15(3):1043–1073. DOI: 10.1007/s13346-024-01656-0.
20. Diao N., Liu Y., Wang W., Cao M., Liu X., Yang W., Cao Y., Sun T., Pei H., Guo C., Chen D. Resveratrol nanocrystals based dissolving microneedles with highly efficient for rheumatoid arthritis. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15(1):203–215. DOI: 10.1007/s13346-024-01581-2.
21. Wu W., Meng T., Jin F., Li J., Huang J., Guo Z., Yu M., Zhou Y. Effects of resveratrol on postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*. 2025;16:1588284. DOI: 10.3389/fphar.2025.1588284.
22. Montoya-Estrada A., García-Cortés A. Y., Romo-Yañez J., Ortiz-Luna G. F., Arellano-Eguiluz A., Belmont-Gómez A., Lopéz-Ugalde V., León-Reyes G., Flores-Pliego A., Espejel-Nuñez A., Solis-Paredes J. M., Reyes-Muñoz E. The Administration of Resveratrol and Vitamin C Reduces Oxidative Stress in Postmenopausal Women-A Pilot Randomized Clinical Trial. *Nutrients*. 2024;16(21):3775. DOI: 10.3390/nu16213775.
23. Rodrigues Uggioni M. L., Ronsani L., Motta S., Denoni Júnior J. C., Marçal F., Dagostin Ferraz S., Rosa M. I., Colonetti T. Effects of resveratrol on the lipid profile of post-menopause women: Systematic review and meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2025;35(4):103827. DOI: 10.1016/j.numecd.2024.103827.
24. Menegas S., Keller G. S., Possamai-Della T., Aguiar-Geraldo J. M., Quevedo J., Valvassori S. S. Potential mechanisms of action of resveratrol in prevention and therapy for mental disorders. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2023;121:109435. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2023.109435.
25. Al-Smadi K., Ali M., Zhu J., Abdoh A., Phan K., Mohammed Y. Advances in Characterization of Transdermal and Topical Products using Texture Analyzer Systems. *AAPS PharmSciTech*. 2025;26(5):157. DOI: 10.1208/s12249-025-03148-x.
26. 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.
27. Aung N. N., Ngawhirunpat T., Rojanarata T., Patrojanasophon P., Opanasopit P., Pamornpathomkul B. Enhancement of transdermal delivery of resveratrol using Eudragit and polyvinyl pyrrolidone-based dissolving microneedle patches. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;61:102284. DOI: 10.1016/j.jddst.2020.102284.
28. Сидельковская Ф. А. Химия N-винилпирролидона и его полимеров. М.: Наука; 1970. 150 с.
29. Oikonomou P., Sanopoulou M., Papadokostaki K. G. Blends of poly (vinyl alcohol) and poly (vinyl pyrrolidone): Interrelation between the degree of hydration and thermal and mechanical properties. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2021;60(39):14203–14212. DOI: 10.1021/acs.iecr.1c02650.
30. Степанова Э. Ф., Лосенкова С. О., Морозов Ю. А. Создание и фармакотехнологические исследования инновационных лекарственных форм мексидола. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;(4):37–43.

REFERENSES

1. Arefyev A. S., Zhukova I. V. Transdermal therapeutic systems, their types and advantages. *Innovative scientific research*. 2022;1–3(15):13–20. (In Russ.) DOI: 10.5281/zenodo.6368638.
2. Marchenkova L. A., Kotenko N. V., Kareva E. N. Alternative therapy of menopausal syndrome from the perspective of comprehensive aging prevention. *Doctor.Ru*. 2025;24(5):101–109. (In Russ.) DOI: 10.31550/1727-2378-2025-24-5-101-109.
3. Sokurenko M. S., Krechetov S. P., Olifer S. A., Krasnyuk I. I., Solovyova N. L., Makarenko M. A., Demina N. B. Development of composition and technology of resveratrol capsules. *Drug development & registration*. 2019;8(4):16–19. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-4-16-19.
4. Krechetov S. P., Maslennikova M. S., Kuksin A. Yu., Malinkin A. D., Solovieva N. L., Krasnyuk I. I. Preparation and investigation of properties of resveratrol and solubilizers compositions. *Russian Journal of Biotherapy*. 2023;22(2):65–73. (In Russ.) DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-2-65-73.
5. Dołowacka-Jóźwiak A., Nawrot-Hadzik I., Matkowski A., Ciecieląg T., Gawin-Mikołajewicz A., Dudek-Wicher R., Karolewicz B. L. Mucoadhesive PVA Film for Sustained Resveratrol Delivery: Formulation, Characterization, and Release Profile. *Molecules*. 2025;30(12):2642. DOI: 10.3390/molecules30122642.
6. Riccio B. V. F., Soares do Nascimento A. L. C., Bagliotti Meneguin A., Rodero C. F., Santos K. P., Sábio R. M., de Annunzio S. R., Fontana C. R., da Silva Barud H., Colerato Ferrari P., Chorilli M. Solid dispersions incorporated into PVP films for the controlled release of trans-resveratrol: development, physicochemical and in vitro characterizations and in vivo cutaneous anti-inflammatory evaluation. *Pharmaceutics*. 2022;14(6):1149. DOI: 10.3390/pharmaceutics14061149.
7. Choy Y. B., Prausnitz M. R. The rule of five for non-oral routes of drug delivery: ophthalmic, inhalation and transdermal. *Pharmaceutical research*. 2011;28(5):943–948. DOI: 10.1007/s11095-010-0292-6.
8. Sivadasan D., Madkhali O. A. The Design Features, Quality by Design Approach, Characterization, Therapeutic Applications, and Clinical Considerations of Transdermal Drug Delivery Systems-A Comprehensive Review. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(10):1346. DOI: 10.3390/ph17101346.
9. Vaseem R. S., D'cruz A., Shetty S., Hafsa, Vardhan A., Shenoy R. S., Marques S. M., Kumar L., Verma R. Transdermal Drug Delivery Systems: A Focused Review of the Physical Methods of Permeation Enhancement. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2024;14(1):67–85. DOI: 10.34172/apb.2024.018.
10. Zhang L., Dong Z., Liu W., Wu X., He H., Lu Y., Wu W., Qi J. Novel Pharmaceutical Strategies for Enhancing Skin Penetration of Biomacromolecules. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(7):877. DOI: 10.3390/ph15070877.
11. Ribeiro A., Pereira-Leite C., Rosado C., Aruci E., Colley H. E., Krohn I. K., Baldea I., Pantelić I., Fluhr J. W., Simões S. I., Savić S., Costa Lima S. A. Enhancing Transcutaneous Drug Delivery: Advanced Perspectives on Skin Models. *JID Innovations*. 2024;5(2):100340. DOI: 10.1016/j.xjidi.2024.100340.
12. Cheng T., Tai Z., Shen M., Li Y., Yu J., Wang J., Zhu Q., Chen Z. Advance and Challenges in the Treatment of Skin Diseases with the Transdermal Drug Delivery System. *Pharmaceutics*. 2023;15(8):2165. DOI: 10.3390/pharmaceutics15082165.

13. Agbadua O. G., Kúsz N., Berkecz R., Vass E., Csámpai A., Tóth G., Balogh G. T., Marcourt L., Wolfender J.-L., Ferreira Queiroz E., Hunyadi A. New Insights into the French Paradox: Free Radical Scavenging by Resveratrol Yields Cardiovascular Protective Metabolites. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2025;68(10):10031–10047. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.4c03061.
14. Grau L., Soucek R., Pujol M. D. Resveratrol derivatives: Synthesis and their biological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023;246:114962. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114962.
15. Mitrović D., Pavlović N. In silico approach in the development of structural analogues of resveratrol with improved distribution in the central nervous system. *Kragujevac Journal of Science*. 2024;46:59–71. DOI: 10.5937/KgJSci2400000M.
16. Gironde C., Rigal M., Dufour C., Furger C. AOP1, a New Live Cell Assay for the Direct and Quantitative Measure of Intracellular Antioxidant Effects. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(6):471. DOI: 10.3390/antiox9060471.
17. Gadag S., Narayan R., Nayak Y., Garg S., Nayak U. Y. Design, development and evaluation of Resveratrol transdermal patches for breast cancer therapy. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;632:122558. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.122558.
18. Kalita B., Das M. K., Sarma M., Deka A. Sustained Anti-inflammatory Effect of Resveratrol-Phospholipid Complex Embedded Polymeric Patch. *AAPS PharmSciTech*. 2017;18(3):629–645. DOI: 10.1208/s12249-016-0542-y.
19. Bandiwadekar A., Jose J., Gopan G., Augustin V., Ashtekar H., Khot K. B. Transdermal delivery of resveratrol loaded solid lipid nanoparticle as a microneedle patch: a novel approach for the treatment of Parkinson's disease. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15(3):1043–1073. DOI: 10.1007/s13346-024-01656-0.
20. Diao N., Liu Y., Wang W., Cao M., Liu X., Yang W., Cao Y., Sun T., Pei H., Guo C., Chen D. Resveratrol nanocrystals based dissolving microneedles with highly efficient for rheumatoid arthritis. *Drug Delivery and Translational Research*. 2025;15(1):203–215. DOI: 10.1007/s13346-024-01581-2.
21. Wu W., Meng T., Jin F., Li J., Huang J., Guo Z., Yu M., Zhou Y. Effects of resveratrol on postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*. 2025;16:1588284. DOI: 10.3389/fphar.2025.1588284.
22. Montoya-Estrada A., García-Cortés A. Y., Romo-Yañez J., Ortiz-Luna G. F., Arellano-Eguiluz A., Belmont-Gómez A., Lopéz-Ugalde V., León-Reyes G., Flores-Pliego A., Espejel-Nuñez A., Solis-Paredes J. M., Reyes-Muñoz E. The Administration of Resveratrol and Vitamin C Reduces Oxidative Stress in Postmenopausal Women-A Pilot Randomized Clinical Trial. *Nutrients*. 2024;16(21):3775. DOI: 10.3390/nu16213775.
23. Rodrigues Uggioni M. L., Ronsani L., Motta S., Denoni Júnior J. C., Marçal F., Dagostin Ferraz S., Rosa M. I., Colonetti T. Effects of resveratrol on the lipid profile of post-menopause women: Systematic review and meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2025;35(4):103827. DOI: 10.1016/j.numecd.2024.103827.
24. Menegas S., Keller G. S., Possamai-Della T., Aguiar-Geraldo J. M., Quevedo J., Valvassori S. S. Potential mechanisms of action of resveratrol in prevention and therapy for mental disorders. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2023;121:109435. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2023.109435.
25. Al-Smadi K., Ali M., Zhu J., Abdoh A., Phan K., Mohammed Y. Advances in Characterization of Transdermal and Topical Products using Texture Analyzer Systems. *AAPS PharmSciTech*. 2025;26(5):157. DOI: 10.1208/s12249-025-03148-x.
26. 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.
27. Aung N. N., Ngawhirunpat T., Rojanarata T., Patrojanasophon P., Opanasopit P., Pamornpathomkul B. Enhancement of transdermal delivery of resveratrol using Eudragit and polyvinyl pyrrolidone-based dissolving microneedle patches. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;61:102284. DOI: 10.1016/j.jddst.2020.102284.
28. Sidelkovskaya F. A. Chemistry of N-vinylpyrrolidone and its polymers. Moscow: Nauka; 1970. 150 p. (In Russ.)
29. Oikonomou P., Sanopoulou M., Papadokostaki K. G. Blends of poly (vinyl alcohol) and poly (vinyl pyrrolidone): Interrelation between the degree of hydration and thermal and mechanical properties. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2021;60(39):14203–14212. DOI: 10.1021/acs.iecr.1c02650.
30. Stepanova E. F., Losenkova S. O., Morozov Yu. A. Creation and pharmacotechnological investigations of innovative dosage forms of Mexidol. *Drug development & registration*. 2018;(4):37–43. (In Russ.)

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.072

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2043

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка методик контроля качества химического предшественника – рекомбинантного белка с анкириновыми повторами для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2 в злокачественных опухолях

Р. Н. Варвашеня[1, 2]✉, Г. Е. Янович[1, 2], Е. В. Плотников[2], А. А. Шульга[2, 3], Е. В. Коновалова[2, 3], Р. Х. Зиганшин[3], С. М. Деев[2, 3], К. С. Бразовский[2], М. В. Белоусов[1, 2], В. И. Чернов[2, 4], М. С. Ларькина[1, 2]

[1] 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

[2] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (НИ ТПУ). 634050, Россия, г. Томск, проспект Ленина, д. 30

[3] 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 (ГНЦ ИБХ РАН). 117997, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

[4] Научно-исследовательский институт онкологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (НИИ онкологии Томского НИМЦ). 634009, Россия, г. Томск, Кооперативный переулок, д. 5

✉ **Контактное лицо:** Варвашеня Руслан Николаевич. **E-mail:** mr.varvashenya@mail.ru

ORCID: Р. Н. Варвашеня – https://orcid.org/0009-0002-4282-3198;
Г. Е. Янович – https://orcid.org/0009-0006-0383-3296;
Е. В. Плотников – https://orcid.org/0000-0002-4374-6422;
А. А. Шульга – https://orcid.org/0000-0003-3425-0828;
Е. В. Коновалова – https://orcid.org/0000-0002-4187-376X;
Р. Х. Зиганшин – https://orcid.org/0000-0002-7931-519X;
С. М. Деев – https://orcid.org/0000-0002-3952-0631;
К. С. Бразовский – https://orcid.org/0000-0002-4779-9820;
М. В. Белоусов – https://orcid.org/0000-0002-2153-7945;
В. И. Чернов – https://orcid.org/0000-0001-8753-7916;
М. С. Ларькина – https://orcid.org/0000-0003-1176-2441.

Статья поступила: 16.03.2025 **Статья принята в печать:** 12.09.2025 **Статья опубликована:** 12.09.2025

Резюме

Введение. Сверхэкспрессия рецептора HER2 ассоциирована с агрессивным течением онкологических заболеваний и неблагоприятным прогнозом. Традиционная иммуногистохимическая диагностика имеет ряд ограничений, включая инвазивность, невозможность оценки гетерогенности опухоли и тотального распространения процесса. Перспективной альтернативой является радионуклидная визуализация с использованием каркасных таргетных белков DARPin G3. По результатам доклинических исследований препарат ^{99m}Tc[Tc]-G3-$(G_3S)_3$C был предложен для проведения I фазы клинических исследований. Экспериментальный препарат представляет собой стерильный лиофилизат химического предшественника в одном флаконе и должен соответствовать требованиям ОФС 1.11.0005 «Химические предшественники для радиофармацевтических лекарственных препаратов» и ОФС 1.7.1.0007.15 «Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК» Государственной фармакопеи РФ XV издания.

Цель. Целью настоящего исследования была разработка подходов и методик контроля качества белка DARPin G3-$(G_3S)_3$C, входящего в состав разработанной композиции лиофилизата химических предшественников для получения ^{99m}Tc-содержащего препарата для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2 в злокачественных опухолях

Материалы и методы. Объектом исследования явился лиофилизат, содержащий DARPin G3-$(G_3S)_3$C со вспомогательными веществами. Для регистрации масс-спектров белка использовали ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометром, снабженным

© Варвашеня Р. Н., Янович Г. Е., Плотников Е. В., Шульга А. А., Коновалова Е. В., Зиганшин Р. Х., Деев С. М., Бразовский К. С., Белоусов М. В., Чернов В. И., Ларькина М. С., 2025

© Varvashenya R. N., Yanovich G. E., Plotnikov E. V., Shulga A. A., Konovalova E. V., Zigashin R. H., Deev S. M., Brazovskii K. S., Belousov M. V., Chernov V. I., Larkina M. S., 2025

источником ионизации электрораспылением. Вертикальный электрофорез с натрия додецилсульфатом (SDS) в полиакриламидном геле с концентрацией акриламида 15 % проводили при напряжении 110 В в течение 2 ч. В качестве красящего раствора использовали раствор кумасси В-250. Тандемную масс-спектрометрию проводили с помощью системы ВЭЖХ с масс-спектрометром посредством наноэлектроспрейного источника. При корреляции аминокислотной последовательности карбамидометилирование Cys, деамидирование Asn/Gln и окисление Met учитывались как вариабельные модификации. Для определения количества белка в лиофилизате был использован спектрофотометрический метод при длине волны 280 нм. Валидационная оценка разработанной методики проводилась в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» Государственной фармакопеи РФ XV издания.

Результаты и обсуждение. Подлинность и чистота DARPin G3-$(G_3S)_3$C была подтверждена с использованием ВЭЖХ-МС. Молекулярная масса мономера согласуется с расчетной и составила 14075,9 Да с точностью до 0,5 Да, чистота белка была близка к 100 %. Для определения подлинности и чистоты DARPin G3-$(G_3S)_3$C методом электрофореза в полиакриаламидном геле предложено использовать 2 мкг и 20 мкг белка соответственно. Рассчитанная молекулярная масса белка составила 13,58 ± 0,82 кДа. В лиофилизате содержание примеси гомодимера, определенной электрофорезом в полиакриламидном геле, не превышало 3 %, другие белковые примеси наблюдались в количестве не более 1 %. Чистота белка, установленная методом ВЭЖХ-МС/МС для анализа первичной структуры, составила 98 %. Перекрытие аминокислотной последовательности целевого белка с идентифицированными пептидными фрагментами составило 100 %. В результате анализа гидролизата белка было идентифицировано более 700 его пептидных фрагментов (значение –10LogP – более 20). Разработанная методика УФ-спектрофотомерии соответствует валидационным требованиям и позволяет определять количественного содержание белка DARPin G3-$(G_3S)_3$C в лиофилизате ±10 % от номинального содержания.

Заключение. Для определения показателя «подлинность» нового химического предшественника белка DARPin G3-$(G_3S)_3$C в составе лиофилизата для получения ^{99m}Tc-содержащего препарата для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2 в злокачественных опухолях были предложены методики масс-спектрометрии, пептидного картирования, электрофорез в полиакриламидном геле. Для показателя «родственные примеси» – методика электрофореза в полиакриламидном геле. Для определения показателя «количественное определение» – методика УФ-спектрофотометрии.

Ключевые слова: злокачественные опухоли, HER2, радионуклидная диагностика, DARPin G3, контроль качества

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

Вклад авторов. А. А. Шульга и М. С. Ларькина – концептуализация. К. С. Бразовский, М. В. Белоусов, М. С. Ларькина – методология. Р. Н. Варвашеня, Г. Е. Янович, Е. В. Коновалова, Р. Х. Зигашин – проведение исследования. М. В. Белоусов, В. И. Чернов, М. С. Ларькина, Е. В. Плотников, К. С. Бразовский – курирование данных. Р. Н. Варвашеня, Г. Е. Янович, Е. В. Плотников, А. А. Шульга, Е. В. Коновалова, Р. Х. Зигашин, М. В. Белоусов, В. И. Чернов, М. С. Ларькина – подготовка рукописи. Р. Н. Варвашеня, М. С. Ларькина, Р. Х. Зигашин – рецензирование и редактирование рукописи. М. С. Ларькина, В. И. Чернов, М. В. Белоусов, А. А. Шульга, К. С. Бразовский – руководство.

Финансирование. Работа была выполнена за счет финансирования проекта ТПУ (Приоритет-2030-НИП/ИЗ-104-375/423-2023).

Для цитирования: Варвашеня Р. Н., Янович Г. Е., Плотников Е. В., Шульга А. А., Коновалова Е. В., Зиганшин Р. Х., Деев С. М., Бразовский К. С., Белоусов М. В., Чернов В. И., Ларькина М. С. Разработка методик контроля качества химического предшественника – рекомбинантного белка с анкириновыми повторами для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2 в злокачественных опухолях. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):138–151. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2043

Development of quality control techniques of chemical precursor – recombinant protein with ankyrin repeats for radionuclide imaging of HER2 overexpression in malignant tumors

Ruslan N. Varvashenya[1, 2]✉, Gleb E. Yanovich[1,2], Evgeny V. Plotnikov[2], Aleksey A. Shulga[2, 3], Elena V. Konovalova[2, 3], Rustam H. Zigashin[3], Sergey M. Deev[2, 3], Konstantin S. Brazovskii[2], Mikhail V. Belousov[1, 2], Vladimir I. Chernov[2, 4], Maria S. Larkina[1, 2]

[1] Siberian State Medical University, SSMU. 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia
[2] National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk Polytechnic University (TPU). 30, prospekt Lenina, Tomsk, 634050, Russia
[3] Shemyakin-Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry. 16/10, Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117997, Russia
[4] Cancer Research Institute is a subdivision of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences" (Tomsk NRMC). 5, Kooperativny pereulok, Tomsk, 634009, Russia

✉ **Corresponding author:** Ruslan N. Varvashenya. **E-mail:** mr.varvashenya@mail.ru

ORCID: Ruslan N. Varvashenya – https://orcid.org/0009-0002-4282-3198;
Gleb E. Yanovich – https://orcid.org/0009-0006-0383-3296;
Evgeny V. Plotnikov – https://orcid.org/0000-0002-4374-6422;
Aleksey A. Shulga – https://orcid.org/0000-0003-3425-0828;

Elena V. Konovalova – https://orcid.org/0000-0002-4187-376X;
Rustam H. Ziganshin – https://orcid.org/0000-0002-7931-519X;
Sergey M. Deev – https://orcid.org/0000-0002-3952-0631;
Konstantin S. Brazovskii – https://orcid.org/0000-0002-4779-9820;
Mikhail V. Belousov – https://orcid.org/0000-0002-2153-7945;
Vladimir I. Chernov – https://orcid.org/0000-0001-8753-7916;
Maria S. Larkina – https://orcid.org/0000-0003-1176-2441.

Received: 16.03.2025 **Accepted:** 12.09.2025 **Published:** 12.09.2025

Abstract

Introduction. Overexpression of the HER2 receptor is associated with aggressive cancer progression and poor prognosis. Traditional immunohistochemical diagnostics have a number of limitations, including invasiveness, inability to assess tumor heterogeneity, and total spread of the process. A promising alternative is radionuclide imaging using targeted scaffold DARPin G3 proteins. Based on the results of preclinical studies, the drug ^{99m}Tc[Tc]-G3-$(G_3S)_3$C has been proposed for Phase I clinical trials. The experimental drug is a sterile lyophilizate of a chemical precursor in a single vial and must comply with the requirements of OFS 1.11.0005 "Chemical Precursors for Radiopharmaceuticals" and OFS 1.7.1.0007.15 "Medicinal Products Obtained by Recombinant DNA Methods."

Aim. The aim of the present study was to develop approaches and techniques for quality control of DARPin G3-$(G_3S)_3$C protein included in the developed composition of chemical precursor lyophilizate lyophilizate for preparation of ^{99m}Tc-containing preparation for radionuclide imaging of HER2 overexpression in malignant tumors

Materials and methods. A lyophilizate containing DARPin G3-$(G_3S)_3$C with excipients was prepared for quality control. HPLC with a tandem mass spectrometer equipped with an electrospray ionization source was used to record mass spectra. Vertical electrophoresis with SDS in a heterogeneous buffer system was carried out in a polyacrylamide gel with an acrylamide concentration of 15 % at 110 V for 2 hours. Coomassie B-250 solution was used as the dye solution. Peptide mapping was performed using an HPLC system with a mass spectrometer via a nano-electrospray source. When correlating the amino acid sequence, carbamidomethylation of Cys, deamidation of Asn/Gln and oxidation of Met were counted as variable modifications. UV spectrophotometry was performed to determine the Quantification index at a wavelength of 280 nm. Validation evaluation of the developed method was carried out in accordance with the requirements of OFS.1.1.0012 "Validation of analytical methods".

Results and discussion. The authenticity and purity of DARPin G3-$(G_3S)_3$C was confirmed using HPLC-MS. The purity of the protein was close to 100 %. Application of 2 μg of protein for electrophoresis in polyacrylamide gel showed a distinct stain allowing the authenticity of DARPin G3-$(G_3S)_3$C to be established. To determine the homodimer impurity, 10 μg of protein should be applied. The purity of the protein established by the peptide mapping method is 98 %. More than 700 variations of peptide fragments were identified by protein hydrolysate analysis. The value of –10LogP was more than 20. The developed UV-visible spectrophotometry technique meets the validation requirements and allows the quantification of DARPin G3-$(G_3S)_3$C protein in the lyophilizer ±10 % of the nominal content.

Conclusion. To determine the "Genuineness" of a new chemical precursor of DARPin G3-$(G_3S)_3$C protein in the lyophilizate for the preparation of ^{99m}Tc-containing preparation for radionuclide imaging of HER2 overexpression in malignant tumors the following methods were proposed: mass spectrometry, peptide mapping, electrophoresis in polyacrylamide gel. For the indicator "Related impurities" – the technique of electrophoresis in polyacrylamide gel. For the indicator "Quantitative determination" the method of UV-spectrophotometry.

Keywords: malignant tumors, HER2, radionuclide diagnostics, DARPin G3, quality control

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. Aleksey A. Shulga and Maria S. Larkina – conceptualization. Konstantin S. Brazovskii, Mikhail V. Belousov, Maria S. Larkina – methodology. Ruslan N. Varvashenya, Gleb E. Yanovich, Elena V. Konovalova, Rustam H. Zigashin – conducting the study. Mikhail V. Belousov, Vladimir I. Chernov, Maria S. Larkina, Evgeny V. Plotnikov, Konstantin S. Brazovskii – data supervision. Ruslan N. Varvashenya, Gleb E. Yanovich, Evgeny V. Plotnikov, Aleksey A. Shulga, Elena V. Konovalova, Rustam H. Zigashin, Mikhail V. Belousov, Vladimir I. Chernov, Maria S. Larkina – preparation of the manuscript. Ruslan N. Varvashenya, Maria S. Larkina, Rustam H. Zigashin – reviewing and editing of the manuscript. Maria S. Larkina, Vladimir I. Chernov, Mikhail V. Belousov, Aleksey A. Shulga, Konstantin S. Brazovskii – guidance.

Funding. The work was carried out using funding from the the National Research Tomsk Polytechnic University project (Priority-2030-NIP/IZ-104-375/423-2023).

For citation: Varvashenya R. N., Yanovich G. E., Plotnikov E. V., Shulga A. A., Konovalova E. V., Zigashin R. H., Deev S. M., Brazovskii K. S., Belousov M. V., Chernov V. I., Larkina M. S. Development of quality control techniques of chemical precursor – recombinant protein with ankyrin repeats for radionuclide imaging of HER2 overexpression in malignant tumors. *Drug development & registration*. 2025;14(4):138–151. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2043

ВВЕДЕНИЕ

Рецепторы семейства эпидермального фактора роста представляют собой тирозиновую протеинкиназу и отвечают за процессы деления, дифференцирования и апоптоза в нормальных и опухолевых клетках [1, 2]. Рецептор HER2 (человеческий эпидермальный фактор роста типа 2) часто демонстрирует сверхэкспрессию при различных онкологических заболеваниях. Это связано с повышенной агрессивностью опухолей и неблагоприятным прогнозом для пациентов [3]. Для применения терапии зарегистрированными HER2-таргетными препаратами необходимо определение уровня экспрессии рецептора. В случае недостаточно высокой экспрессии мишени противоопухолевый эффект может отсутствовать, а риск побочных эффектов для пациента повышается. Одним из методов диагностики уровня экспрессии HER2 является иммуногистохимический метод, который основан на биопсии [1, 4]. Такой метод имеет ряд недостатков, среди которых невозможность определения распространенности опухолевого процесса, высокая степень гетерогенности экспрессии HER2 в опухолевой ткани, трудности забора биопсийных образцов при множественных метастазах [5].

В качестве альтернативы определению HER2-статуса у пациентов было предложено использовать радионуклидную молекулярную визуализацию экспрессии HER2 *in vivo* [6, 7].

Наиболее перспективными в этом плане являются каркасные белки (или скаффолды), которые по сравнению с анти-HER-моноклональными антителами (трастузумабом, пертузумабом и др.) обеспечивают более высокую контрастность изображения в короткие сроки (2–4 ч после инъекции) [8, 9].

Перспективными для разработки таргетных радиофармацевтических лекарственных средств для визуализации молекулярных мишеней считаются рекомбинантные белки с анкириновыми повторами (DARPin) [10–12]. DARPin – это сконструированные белки с высокой аффинностью и стабильностью, структурная основа которых состоит из множества анкириновых повторов. Каждый такой повтор, как правило, включает 33 аминокислотных остатка, формирующих β-поворот и пару антипараллельных α-спиралей. При объединении повторы образуют правозакрученную соленоидную структуру: ее внутренняя часть представляет собой гидрофобное ядро, а внешняя поверхность обладает гидрофильными свойствами, обеспечивая взаимодействие с растворителем [13].

Небольшой размер молекулы DARPin (14–18 кДа) облегчает локализацию в опухоли, что является преимуществом при разработке препаратов для визуализации. Также стоит отметить стабильность DARPin в широком диапазоне pH и температуры, что позволяет использовать широкий спектр методов мечения радионуклидами [14]. Ранее Goldstein et al. показали способность DARPin, меченных ^{111}In и ^{125}I, визуализировать экспрессию HER2 в ксенотрансплантатах опухолей человека у мышей [15]. Дальнейшие исследования показали, что вариант DARPin G3 является лучшим вариантом для разработки агентов для радионуклидной визуализации HER2-экспрессии [16].

В I фазе клинических исследований был изучен DARPin G3, меченный трикарбонилом одновалентного технеция, – [^{99m}Tc]Tc-$(HE)_3$-G3 [17]. Было установлено, что применение [^{99m}Tc]Tc-$(HE)_3$-G3 для радионуклидной визуализации безопасно при воздействии на пациентов. С помощью диагностической визуализации с применением $(HE)_3$-G3, меченного ^{99m}Tc, удалось четко визуализировать HER2-экспрессирующий рак молочной железы уже через 2–4 ч после введения препарата. Метод позволил достоверно дифференцировать HER2-положительные и HER2-отрицательные опухоли. Недостатками этого экспериментального радиофармпрепарата для клинического применения являются сложная технология получения с последующей хроматографической очисткой от радиохимических примесей. В следующих исследованиях по улучшению DARPin G3 для мечения технецием-99м [18] был создан вариант DARPin G3 с хелатором глицил-глицил-глицил-серил-цистеином (GGGSC), соединенным посредством дважды повторяющегося линкера триглицил-серил-$(G_3S)_2$ на С-концевой последовательности белка. Этот вариант белка получил наименование G3-$(G_3S)_3$C. По результатам доклинических исследований предложенная структура, меченная технецием-99м, показала способность специфически и высокоафинно связываться с HER2-экспрессируемыми опухолевыми клетками человека *in vitro*, специфически накапливаться в ксенотрансплантатах человеческих опухолей с HER2-экспрессией *in vivo* [19]; также ^{99m}Tc[Tc]-G3-$(G_3S)_3$C был предложен для пилотных клинических исследований (NCT05923268).

Экспериментальный препарат представляет собой стерильный лиофилизат химического предшественника в одном флаконе, содержащий необходимое количество белка G3-$(G_3S)_3$C и вспомогательные вещества [20], при добавлении к которому натрия пертехнетата (^{99m}Tc) с последующей инкубацией при нагревании и стерилизацией получается готовый для использования раствор.

Требования к качеству химического предшественника регламентируются ОФС 1.11.0005 «Химические предшественники для радиофармацевтических лекарственных препаратов» Государственной фармакопеи РФ XV издания. Идентификация, испытание на химическую чистоту и анализы должны проводиться по валидированным фармакопейным аналитическим методикам с использованием квалифицированного оборудования.

Кроме того, вариант G3-$(G_3S)_3$C – это белок, полученный методом рекомбинантной ДНК, контроль качества которого должен также проводиться с соблюдением требований ОФС 1.7.1.0007.15 «Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК».

Целью исследования явилась разработка подходов и методик контроля качества белка G3-$(G_3S)_3$C, входящего в состав разработанной композиции лио-

филизата химического предшественника для получения ^{99m}Tc-содержащего препарата для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2 в злокачественных опухолях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение и характеристика протеина

Нуклеотидная последовательность гена DARPin G3 была синтезирована на основе данных аминокислотной структуры, доступной в базе данных PBD (идентификатор 2JAB). Для оптимизации кодонного состава с учетом высокой экспрессии в *Escherichia coli* использовалась программа DNABuilder с открытым доступом.

Ген собрали методом ПЦР на основе синтетических олигонуклеотидов (длина 50 н.о.) с частично комплементарными участками. Экспрессию белка G3-$(G_3S)_3$C провели в штамме *Escherichia coli* BL21(DE3) (Novagen-EMD Millipore, США), получив С-концевые химерные белки, включающие модифицированный SUMO-домен, сшитый с убиквитином [21], так же, как описано в [22].

Аминокислотная последовательность для G3-$(G_3S)_3$C была следующей: DLGKKLLEAARAGQDDEVRIL MANGADVNAKDEYGLPLYLATAHGHLEIVEVLLNGADVNAV DAIGFTPLHLAAFIGHLEIAEVLLKHGADVNAQDKFGKTAFDI SIGNGNEDLAEILQKLNGGGSGGGSGGGSC. Расчетная молекулярная масса составила 13,83 Да.

Лиофилизат, включающий смесь G3-$(G_3S)_3$C, D-маннит, ПЭГ-4000, дигидрат хлорида олова (II), глюконат натрия, тетранатриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты и фосфатный буфер, был приготовлен в соответствии с ранее описанной методикой [20].

Хромато-масс-спектрометрия

Масс-спектры G3-$(G_3S)_3$C регистрировали на системе ВЭЖХ LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), сопряженной с тандемным масс-спектрометром QTRAP 3200 (AB SCIEX, Канада), оснащенным источником электрораспылительной ионизации. Разделение проводили на аналитической колонке Macherey-Nagel NUCLEODUR C18 Gravity (50 × 2 мм, 3 мкм) с предколоночным картриджем при температуре 40 °C. Объем вводимой пробы составлял 1 мкл.

Подвижная фаза включала два компонента: элюент А – 0,1%-й водный раствор муравьиной кислоты; элюент В – ацетонитрил.

Хроматографию выполняли в изократическом режиме с 50 % элюента В в течение 5 мин, после чего переходили к градиентному промыванию: 5,5–6 мин – 50–100 % В; 6–7 мин – 100 % В; 7–8 мин – возврат к 50 % В. Скорость потока поддерживали на уровне 0,2 мл/мин.

Для ионизации в положительном режиме $(M + H)^+$ использовали следующие параметры: напряжение на капилляре – 2.8 кВ; потенциал декластеризации – 20 В; входной потенциал – 9 В. Осушающий газ (азот) подавали при температуре 300 °C.

Качественный анализ проводили методом полного сканирования ионов в диапазоне *m/z* 100–1700 с использованием первого квадруполя (Q1). Оптимальное время сканирования составило 0,5 с.

Электрофорез в полиакриламидном геле

Приготовление испытуемого раствора. Лиофилизат, содержащий 3,3 мг белка G3-$(G_3S)_3$C и вспомогательные вещества, растворяли в 1 мл воды очищенной при комнатной температуре в течение 10 мин, периодически перемешивая на вортексе. Из полученного раствора взяли аликвоту 5 мкл, довели до 82 мкл водой очищенной.

Приготовление разделяющего геля. 5 мл раствора, содержащего 30%-й N,N'-метилен-бисакриламида (АКА), смешивали с компонентами смеси в соответствии с пропорциями, указанными в таблице 1. Компоненты добавляли последовательно, как указано в таблице. После внесения персульфата аммония и N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина (TEMED) смесь тщательно перемешивали и сразу же заливали в пространство между стеклянными пластинами гелевой ячейки, оставляя место для нанесения концентрирующего геля. Гель оставляли в вертикальном положении до полной полимеризации.

Таблица 1. Приготовление разделяющего геля

Table 1. Preparation of separating gel

Компоненты смеси Mixture components	**Объем компонента** Component volume
30 % АКА (ООО «Медиген», Россия) 30 % AKA (LLC "Medigen", Russia)	2,5 мл 2.5 ml
Вода очищенная Purified water	1,124 мл 1.124 ml
1,5 М трис-HCl (ООО «Компания Хеликон», Россия), pH 8,8 1.5 M Tris-HCl (LLC "Helikon Company", Russia), pH 8.8	1,25 мл 1.25 ml
10 % додецилсульфата натрия (SDS) (ООО «Медиген», Россия) 10 % sodium dodecyl sulfate (SDS) (LLC "Medigen", Russia)	50 мкл 50 µl
10 % персульфата аммония (ООО «Медиген», Россия) 10 % ammonium persulfate (LLC "Medigen", Russia)	50 мкл 50 µl
TEMED (ООО «Компания Хеликон», Россия) TEMED (LLC "Helikon Company", Russia)	5 мкл 5 µl

Приготовление концентрирующего геля. Для приготовления концентрирующего геля 2,5 мл раствора 30%-го АКА смешивали с компонентами смеси, следуя последовательности, приведенной в таблице 2. После добавления персульфата аммония и TEMED смесь тщательно перемешивали и сразу заливали в пространство между стеклянными пластинами гелевой ячейки. В верхнюю часть геля помещали гребенку для формирования лунок. Гель оставляли в вер-

тикальном положении до завершения полимеризации, после чего гребенку аккуратно извлекали.

Методика. Камеры заполняли электродным буфером: трис-HCl (ООО «Компания Хеликон», Россия), глицин («Мединген», Россия), SDS (ООО «Мединген», Россия), вода деминерализованная. После чего в ячейку, сформированную гребенкой, помещали 7 мкл маркера молекулярной массы PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Fisher Scientific, США), в соседние ячейки помещали 2 и 20 мкг DARPin G3-$(G_3S)_3$C. Электрофорез проводили с помощью WIX-easyPRO2 Mini Easy (WIX Technology, Китай) при напряжении 110 В в течение 2 ч. После завершения электрофореза положение полосы бромфенолового синего, соответствующей электрофоретическому фронту, отмечали с помощью надрезов-меток. Гель фиксировали в 10%-й трихлоруксусной кислоте (ТХУ) в течение часа, окрашивали в красящем растворе кумасси B-250 в течение 45 мин. Излишки красителя смывали раствором, содержащим 7 % ледяной уксусной кислоты, 10 % изопропанола в воде, в течение 12 ч.

Таблица 2. Приготовление концентрирующего геля

Table 2. Preparation of concentrating gel

Компоненты смеси Mixture components	**Объем компонента** Component volume
30 % АКА (ООО «Мединген», Россия) 30 % AKA (LLC "Medigen", Russia)	0,325 мл 0,325 ml
Вода очищенная Purified water	1,5 мл 1.5 ml
5,5 М трис-HCl (ООО «Компания Хеликон», Россия), pH 6,8 5.5 M Tris-HCl (LLC "Helikon Company", Russia), pH 6.8	0,625 мл 0,625 ml
10 % додецилсульфата натрия (SDS) (ООО «Мединген», Россия) 10 % sodium dodecyl sulfate (SDS) (LLC "Medigen", Russia)	25 мкл 25 µl
10 % персульфата аммония (ООО «Мединген», Россия) 10 % ammonium persulfate (LLC "Medigen", Russia)	25 мкл 25 µl
TEMED (ООО «Компания Хеликон», Россия) TEMED (LLC "Helikon Company", Russia)	2,5 мкл 2,5 µl

Анализ геля проводили на белой подложке с помощью программы GelAnalyzer (версия 23.1.1 для Windows by Istvan Lazar Jr., PhD, and Istvan Lazar Sr., PhD, CsC.). Молекулярную массу белка G3-$(G_3S)_3$C определяли по сравнению его подвижности с подвижностью белков-маркеров. Для этого измеряли расстояния пробега для каждой полосы белков (маркеров и испытуемого образца) от вершины разделяющего геля до середины полосы. Определяли отношение расстояния пробега каждого белка к расстоянию пробега фронта красителя (R_f). Строили график зависимости логарифма относительных молекулярных масс стандартов белков-маркеров от значения R_f.

ВЭЖХ-МС/МС для анализа первичной структуры

Анализ DARPin G3-$(G_3S)_3$C методом ВЭЖХ-МС/МС для анализа первичной структуры проводили с помощью системы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) UltiMate 3000 Nano LC System (Thermo Fisher Scientific, США), с масс-спектрометром Orbitrap Tribrid Lumos (Thermo Fisher Scientific) с наноэлектроспрейным источником. Пробоподготовка описана ранее [23], при этом время ферментативного гидролиза составляло до 16 ч.

Образцы загружали на предколонку 50 × 0,1 мм, заполненную сорбентом ReproSil-Pur 200 C18-AQ, 5 мкм (Dr. Maisch HPLC GmbH, Германия), с размером пор 120 Å. Пептиды растворяли в смеси, содержащей 2 % ацетонитрила, 98 % воды и 0,1 % трифторуксусной кислоты. Разделение проводили на кварцевой колонке 300 × 0,1 мм с эмиттером, изготовленной на приборе P2000 Laser Puller (Sutter, США) и заполненной сорбентом Reprosil Pur C18 AQ, 1,9 мкм, 120 Å (Dr. Maisch HPLC GmbH, Германия), при скорости потока 4,2 мкл/мин.

Для элюирования использовали два растворителя: А (99,9 % воды и 0,1 % муравьиной кислоты); Б (19,9 % воды, 0,1 % муравьиной кислоты и 80 % ацетонитрила).

Пептиды разделяли линейным градиентом при скорости потока 500 нл/мин. Анализ и статистическую обработку полученных масс-спектров проводили с помощью программы PEAKS Studio 11 (Bioinformatics Solutions Inc., Канада) [24]. При сопоставлении аминокислотных последовательностей с базой данных учитывали следующие пост-трансляционные модификации: карбамидометилирование цистеина (Cys); деамидирование аспарагиновой и глутаминовой кислот (Asn/Gln); окисление метионина (Met).

Дополнительно учитывали целевую модификацию Cys с брутто-формулой C(9)H(8)N(2)O(2) и моноизотопной массой 204,0641. Уровень ложноположительных идентификаций установили на уровне 0,01, проверяя результаты по реверсной базе данных. В настройках поиска специфичность протеазы была установлена на трипсин (полуспецифичность) с допущением до 3 пропущенных сайтов протеолиза. Допустимое отклонение массы иона-предшественника составляло до 10 м.д., а массы фрагментов – до 0,2 Да.

Количественное определение методом спектрофотометрии

Для приготовления испытуемого раствора с концентрацией 1,65 мг/мл лиофилизат, содержащий 3,3 мг белка G3-$(G_3S)_3$C со вспомогательными веществами, растворяли в 2 мл фосфатного буфера (0,01 М) при комнатной температуре в течение 10 мин, периодически перемешивая на вортексе.

В качестве раствора сравнения применяли 2 мл 0,01 М фосфатного буфера, содержащего вспомога-

тельные вещества. Стандартный раствор готовили с концентрацией G3-$(G_3S)_3$C 3,3 мг/мл.

В соответствии с ОФС.1.2.3.0012.15 для высокоочищенных белков допустимо определять концентрацию с использованием удельного показателя поглощения (весового коэффициента). Количество G3-$(G_3S)_3$C во флаконе рассчитывали с использованием весового коэффициента поглощения [25], который составляет 0,22 $г \cdot л^{-1} \cdot см^{-1}$. Этот коэффициент отражает оптическую плотность при концентрации 1 г/л (или 1 мг/мл) и толщине слоя 1 см.

Методика. Испытуемый раствор и раствор сравнения выдерживали при комнатной температуре в течение 10 мин. Оптическую плотность испытуемого раствора измеряли в кварцевых кюветах с толщиной слоя 1 см при длине волны 280 нм, используя раствор сравнения. Анализ проводили в трех повторениях для обеспечения точности результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка подлинности лекарственных средств, полученных методами рекомбинантной ДНК, является обязательным критерием контроля качества.

Согласно требованиям ОФС.1.7.1.0007.15, для подтверждения подлинности могут применяться различные методы, включая электрофорез в полиакриламидном геле, капиллярный электрофорез, изоэлектрическое фокусирование, ионообменную или обращенно-фазовую хроматографию, иммуноблоттинг и тандемную масс-спектрометрию, сопряженную с ВЭЖХ (ВЭЖХ-МС/МС) с использованием стандартных образцов, указанных в фармакопейной статье или нормативной документации. Дополнительно для оценки подлинности может быть использован метод определения специфической активности.

В случае с DARPin G3-$(G_3S)_3$C для подтверждения подлинности были предложены следующие методы: хромато-масс-спектрометрия, электрофорез в полиакриламидном геле и ВЭЖХ-МС/МС.

Хромато-масс-спектрометрия

Подлинность G3-$(G_3S)_3$C была подтверждена с использованием ВЭЖХ-МС. Масс-спектр показал, что белок в основном присутствует в форме гомодимера (Mw = 28149,8 Да) (рисунок 1). Молекулярная масса мономера согласуется с расчетной и составила 14075,9 Да с точностью до 0,5 Да. Кроме того, анализ чистоты этим методом показал, что чистота белка была близка к 100 %.

Электрофорез в полиакриламидном геле

Подбор оптимальной концентрации белка G3-$(G_3S)_3$C для анализа показал, что необходимо наносить 2 мкг белка в соответствующей аликвоте из испытуемого раствора с концентрацией белка 0,2 мг/мл для определения подлинности. В предлагаемых условиях будет наблюдаться визуально отчетливая компактная полоса белка в полиакриламидном геле. Длина пробега белков маркеров составляла не менее 80 % длины разделяющего геля. Для определения молекулярной массы белка G3-$(G_3S)_3$C проводили сравнение его относительной подвижности с подвижностью белков-маркеров. Для этого был построен график линейной регрессии логарифма относительных молекулярных масс (M_r) стандартов белков-маркеров к фактору удерживания (R_f). Зависимость их R_f от логарифма молекулярной массы являлась линейной ($r > 0,95$). Молекулярную массу G3-$(G_3S)_3$C вычисляли обратным логарифмированием (рисунок 2).

Значение R_f белка DARPin G3-$(G_3S)_3$C составило 0,717 ± 0,015. Рассчитанная молекулярная масса равна 13,58 ± 0,82 кДа ($n = 4$, RSD = 10 %).

Белок DARPin G3-$(G_3S)_3$C в своей структуре содержит цистеин на С-конце, поэтому в процессе получения, хранения способен окисляться по тиольной группе цистеина и образовывать дисульфиды белка в форме гомодимера. В связи с этим электрофорез в полиакриламидном геле следует проводить в невосстанавливающихся условиях для контролирования предела содержания родственной примеси гомодимера. Для определения примеси гомодимера не-

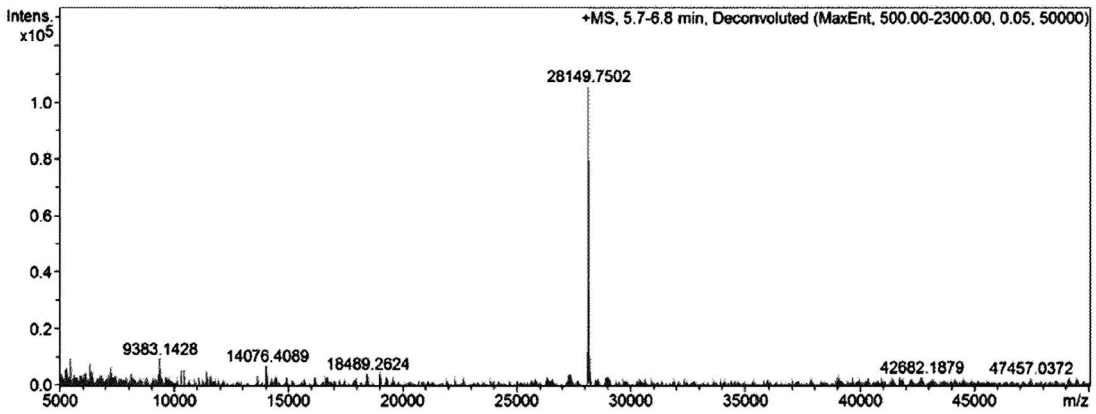


Рисунок 1. Деконволюция масс-спектра DARPin G3-$(G_3S)_3$C

Figure 1. Deconvolution of mass spectra of DARPin G3-$(G_3S)_3$C

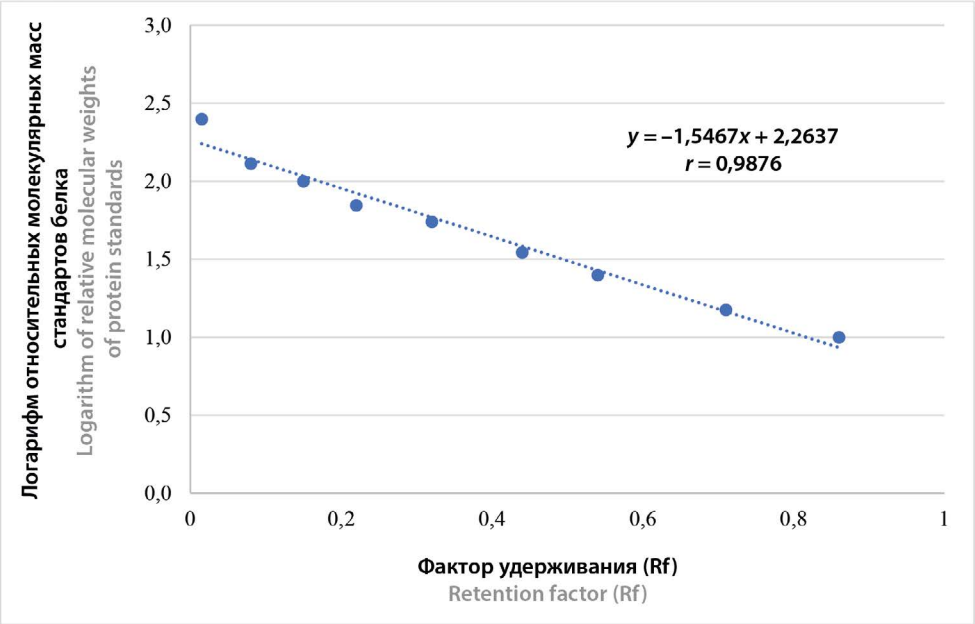


Рисунок 2. График линейной регрессии относительных молекулярных масс (M_r) белка-маркера от значений их факторов удерживания R_f

Figure 2. Linear regression plot of relative molecular masses (M_r) of marker proteins on the values of their retention factors R_f

обходимо помещать не менее 20 мкг белка в аликвоте 6 мкл из исходного раствора. При этом на электрофореграмме также допускается наличие дополнительных полос, кроме основной полосы белка и примеси гомодимера. При анализе пяти серий лиофилизата содержание примеси гомодимера, определенной электрофорезом в полиакриламидном геле, не превышало 3 %, другие белковые примеси наблюдались в количестве не более 1 %. Для разрабатываемого лиофилизата предел содержания примеси гомодимера предложено определить как «не более 5 %». Наличие других белковых примесей предложено контролировать с требованием к качеству «не более 2 %».

ВЭЖХ-МС/МС для анализа первичной структуры

Метод позволяет идентифицировать аминокислотную последовательность белка путем расщепления его до пептидных фрагментов с последующим разделением и идентификацией этих фрагментов в воспроизводимых условиях.

Перед проведением гидролиза пептидных связей в белке G3-$(G_3S)_3$C провели восстановление дисульфидных связей гомодимера с использованием восстановителя трис(2-карбонилэтил)фосфата (TCEP) с последующим метиламидированием свободного цистеина. Для ферментного расщепления белка до пептидных фрагментов были подобраны оптимальные воспроизводимые условия – инкубация при 85 °C в течение 16 ч в присутствии трипсина.

В результате анализа гидролизата белка было идентифицировано более 700 пептидных фрагментов, основные фрагменты с площадью пика более 10^6 приведены в таблице 3. Перекрытие аминокислотной последовательности целевого белка с идентифицированными пептидными фрагментами составило 100 % (рисунок 3). Значение 10LogP составило более 20 (вероятность случайного совпадения идентифицированного пептида с базой данных составило менее 1 %). Это позволяет идентифицировать индивидуальные пептиды с высокой степенью достоверности.

Содержание предполагаемых примесей других белков составило не более 2 %. Соответственно чистота белка, установленная этим методом, составляет 98 %.

Следовательно, методика ВЭЖХ-МС/МС для определения первичной структуры белка G3-$(G_3S)_3$C позволяет с высоким процентом перекрытия идентифицировать аминокислотную последовательность и также характеризует чистоту белка.

Количественное определение методом спектрофотомерии

Разработка методики количественного определения белка G3-$(G_3S)_3$C проводилась в соответствии с требованиями ОФС.1.2.3.0012.15 «Определение белка» (метод 1) при длине волны 280 нм. Для расчета содержания белка G3-$(G_3S)_3$C в лиофилизате был выбран способ расчета через весовой коэффициент поглощения, поскольку белок имеет высокую степень очистки. Содержание белка G3-$(G_3S)_3$C в лиофилизате должно быть ±10 % от номинального содержания.



Рисунок 3. Перекрытие аминокислотной последовательности белка DARPin G3-$(G_3S)_3$C идентифицированными пептидными фрагментами. Аминокислоты обозначены в соответствии с номенклатурой ИЮПАК (приведены буквенные обозначения). Аминокислоты, подвергшиеся модификации в процессе анализа, обозначены красным квадратом («C» – карбамидометилирование) или синим квадратом («D» – деамидирование)

Figure 3. Overlap of the amino acid sequence of DARPin G3-$(G_3S)_3$C protein with identified peptide fragments. Amino acids are designated according to IUPAC nomenclature (letter designations are given). Amino acids subjected to modification during analysis are indicated by a red square ("C" – carbamidomethylation) or a blue square ("D" –deamidation)

Таблица 3. Основные пептиды, обнаруженные при трипсинолизе DARPin G3-$(G_3S)_3$C, с площадью пика более 10^6

Table 3. Major peptides detected by trypsinolysis of DARPin G3-(G3S)3C with peak area greater than 10^6

Пептид Peptide	–10LogP	Молекулярная масса, Да Molecular weight, Da	m/z	Время удерживания, мин Retention time, min	Площадь пика, мин · мВ Peak area, min · mV
HGADVNAQDKFGK	113,77	1385,7	693,8	22,5	$11,6 \cdot 10^9$
KLLEAAR	105,48	799,5	267,5	20,4	$15,5 \cdot 10^8$
ILMANGADVNAK	112,51	1215,6	608,8	41,8	$75,8 \cdot 10^7$
ILMANGADVNAK	110,14	1216,6	609,3	41,8	$40,8 \cdot 10^7$
ILMANGADVNAK	104,35	1216,6	609,3	41,8	$35,3 \cdot 10^7$
HGADVNAQDKFGK	102,78	1386,6	347,7	20,6	$34,1 \cdot 10^7$
HGADVNAQDKFGK	101,15	1386,6	463,2	21,2	$34,1 \cdot 10^7$
ILMANGADVNAKDEYGLTPLYLATAHGHLEIVEVLLK	107,38	3991,1	799,2	79,6	$33,5 \cdot 10^7$
TAFDISIGNGNEDLAEILQK	109,11	2148,1	717,0	69,7	$26,3 \cdot 10^7$
TAFDISIGNGNEDLAEILQK	113,04	2147,1	716,7	71,2	$21,3 \cdot 10^7$
ILMANGADVNAK	106,17	1232,6	617,3	38,3	$10,8 \cdot 10^7$
TAFDISIGNGNEDLAEILQK	100,38	2148,1	1075,0	69,6	$10,8 \cdot 10^7$
ILMANGADVNAK	107,24	1231,6	616,8	28,7	$10,2 \cdot 10^7$
IGHLEIAEVLLK	107,33	1333,8	1334,8	68,9	$49,4 \cdot 10^6$
TAHGHLEIVEVLLK	90,51	1557,9	390,5	67,7	$38,4 \cdot 10^6$
GNEDLAEILQK	106,44	1228,6	615,3	67,0	$37,2 \cdot 10^6$
DEYGLTPLYLATAHGHLEIVEVLLK	112,79	2793,5	932,2	69,9	$36,2 \cdot 10^6$
ILMANGADVNAKDEYGLTPLYLATAHGHLEIVEVLLK	102,04	4007,1	802,4	70,7	$35,7 \cdot 10^6$
YLATAHGHLEIVEVLLK	110,42	1905,1	636,0	70,6	$23,5 \cdot 10^6$
HGADVNAQDKFGKTAFDISIGNGNEDLAEILQK	96,83	3514,7	1172,6	68,7	$12,1 \cdot 10^6$
EDLAEILQK	92,67	1057,6	529,8	65,5	$10,9 \cdot 10^6$

Специфичность. Тирозин и фенилаланин в структуре G3-$(G_3S)_3$C обеспечивают избирательность анализа. Данный метод рекомендуется для включения в нормативную документацию с целью количественного определения этого белка. При этом соли буфера и другие вспомогательные компоненты, входящие в состав лиофилизата, не имеют поглощения при этой длине волны и не влияют на результаты анализа.

Линейность. Линейность методики оценивали путем измерения шести стандартных растворов G3-$(G_3S)_3$C в диапазоне концентраций от 80 до 120 % (1,95; 1,8; 1,65; 1,5; 1,4 и 1,3 мг/мл). Каждый стандартный раствор анализировали в пяти повторах, после чего рассчитывали среднее значение оптической плотности для дальнейшей оценки линейной зависимости (рисунок 4).

Коэффициент корреляции равен 0,9923 при

$$y = 0,2311 \cdot x - 0,0148,$$

где y – оптическая плотность; x – концентрация (мг/мл), что свидетельствует о линейной зависимости оптической плотности G3-$(G_3S)_3$C от концентрации G3-$(G_3S)_3$C в растворе.

Сходимость и внутрилабораторная прецизионность. Сходимость определяли на основании результатов, полученных при анализе 9 образцов G3-$(G_3S)_3$C одной серии одним аналитиком в один день. Результаты представлены в таблице 4. Для определения внутрилабораторной прецизионности проводили повторение эксперимента для определения сходимости другим аналитиком лаборатории. Результаты представлены в таблице 4.

Расчетное содержание G3-$(G_3S)_3$C в лиофилизате составило 3,296 ± 0,032 мг. Коэффициент корреляции составил 0,9923 при уравнении линейной зависимости

$$y = 0,2311 \cdot x - 0,0148,$$

где y – оптическая плотность; x – концентрация (мг/мл). Это подтверждает наличие линейной зависимости между оптической плотностью и концентрацией DARPin G3-$(G_3S)_3$C в растворе.

Правильность методики оценивали методом добавок. Для этого использовали три модельных раствора с концентрациями 80, 100 и 120 % от номинального значения (всего 9 измерений: по 5 для каждой концентрации). В качестве добавки применяли стандартный раствор G3-$(G_3S)_3$C с концентрацией 3,3 мг/мл. Рассчитанные коэффициенты вариации не превышали 2 % в диапазоне концентраций 80–120 %, что подтверждает валидность методики по параметру «правильность» (таблица 5).

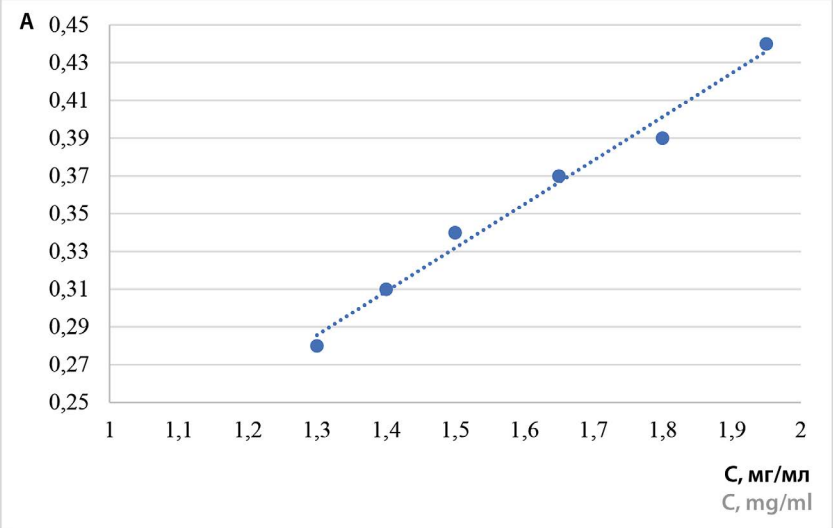


Рисунок 4. **График зависимости оптической плотности DARPin G3-$(G_3S)_3$C от концентрации**

Figure 4. **Plot of the dependence of the optical density of DARPin G3-$(G_3S)_3$C on concentration**

Таблица 4. **Оценка прецизионности методики определения содержания G3-$(G_3S)_3$C**

Table 4. **Precision assessment of the methodology for determination of DARPin G3-$(G_3S)_3$C content**

	$\bar{x}$, мг, в лиофилизате $\bar{x}$, mg in lyophilizate	***f***	***S***	$S_{\bar{x}}$	$RSD_{\bar{x}}$, %	***p***	$t_{(p,f)}$	$\Delta\bar{x}$
Сходимость Convergence	3,296	8	0,0323	0,0114	0,98	0,95	2,31	0,0249
Внутрилабораторная прецизионность Intra-laboratory precision	3,291	8	0,0265	0,0094	0,81	0,95	2,31	0,204

Примечание. $\bar{x}$ – среднее значение; *f* – число степеней свободы; *S* – стандартное отклонение; $S_{\bar{x}}$ – стандартное отклонение среднего результата; $RSD_{\bar{x}}$ – относительное стандартное отклонение среднего результата, выраженное в процентах (коэффициент вариации); *p* – уровень значимости; $t_{(p,f)}$ – критерий Стьюдента; $\Delta\bar{x}$ – полуширина доверительного интервала неопределенности среднего результата.

Note. $\bar{x}$ – mean value; *f* – number of degrees of freedom; *S* – standard deviation; $S_{\bar{x}}$ – standard deviation of the mean result; $RSD_{\bar{x}}$ – relative standard deviation of the mean result, expressed as a percentage (coefficient of variation); *p* – significance level; $t_{(p,f)}$ – Student's t-test; $\Delta\bar{x}$ – half-width of the confidence interval of the uncertainty of the mean result.

Таблица 5. **Результаты определения правильности методики**

Table 5. **Results of methodology validity determination**

Номер модельного раствора Model solution number	**Введено белка, %** Introduced protein, %	**Найдено белка, $\bar{x}$, мг/мл** Protein found, $\bar{x}$, mg/ml	***S***	$S_{\bar{x}}$	$RSD_{\bar{x}}$, %	$\Delta\bar{x}$
1	80	2,633	0,025	0,0125	0,95	0,0311
2	100	3,287	0,02	0,01	0,61	0,0249
3	120	3,97	0,015	0,0075	0,38	0,0186

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для оценки показателя «подлинность» нового химического предшественника белка G3-$(G_3S)_3$C, входящего в состав лиофилизата для получения ^{99m}Tc-содержащего препарата для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2 в злокачественных опухолях, предложены следующие методики: хромато-масс-спектрометрия, ВЭЖХ-МС/МС и электрофорез в полиакриламидном геле. Для определения показателя «родственные примеси» рекомендована методика электрофореза в полиакриламидном геле. Показатель «количественное определение» может быть оценен с помощью УФ-спектрофотометрии.

Установлено, что методика количественного определения соответствует требованиям, предъявляемым к валидации в фармацевтическом анализе, и может быть включена в проект нормативной документации для контроля качества химического предшественника белка G3-$(G_3S)_3$C в составе лиофилизата, предназначенного для получения нового радиофармацевтического лекарственного препарата на основе ^{99m}Tc.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bartley A. N., Washington M. K., Ventura C. B., Ismaila N., Colasacco C., Benson A. B., Carrato A., Gulley M. L., Jain D., Kakar S., Mackay H. J., Streutker C., Tang L., Troxell M., Ajani J. A. HER2 Testing and Clinical Decision Making in Gastroesophageal Adenocarcinoma: Guideline From the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2016;140(12):1345–1363. DOI: 10.5858/arpa.2016-0331-CP.
2. Gebhart G., Lamberts L. E., Wimana Z., Garcia C, Emonts P., Ameye L., Stroobants S., Huizing M., Aftimos P., Tol J., Oyen W. J. G., Vugts D. J., Hoekstra O. S., Schröder C. P., Menke-van der Houven van Oordt C. W., Guiot T., Brouwers A. H., Awada A., de Vries E. G. E., Flamen P. Molecular imaging as a tool to investigate heterogeneity of advanced HER2-positive breast cancer and to predict patient outcome under trastuzumab emtansine (T-DM1): the ZEPHIR trial. *Annals of oncology*. 2016;27(4):619–624. DOI: 10.1093/annonc/mdv577.
3. Tolmachev V. Imaging of HER-2 overexpression in tumors for guiding therapy. *Current Pharmaceutical Design*. 2008;14(28):2999–3019. DOI: 10.2174/138161208786404290.
4. Wolff A. C., Somerfield M. R., Dowsett M., Hammond M. E. H., Hayes D. F., McShane L. M., Saphner T. J., Spears P. A., Allison K. H. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: ASCO-College of American Pathologists Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*. 2023;41(22):3867–3872. DOI: 10.1200/jco.22.02864.
5. Azhar A., Ahmad E., Zia Q., Rauf M. A., Owais M., Ashraf G. M. Recent advances in the development of novel protein scaffolds based therapeutics. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;102:630–641. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.045.
6. Sörensen J., Velikyan I., Sandberg D., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V., Orlova A., Sandström M., Lubberink M., Olofsson H. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [68Ga] ABY-025 Affibody PET/CT. *Theranostics*. 2016;6(2):262.
7. Skuridin V. S., Stasyuk E. S., Bragina O. D., Yusubov M. S., Chernov V. I., Larkina M. S., Zelchan R. V., Rogov A., Sinilkin I., Larionova L. Development of radiopharmaceutical based on mini-antibody for early cancer detection. *Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine*. 2016;43:465–465.
8. Брагина О. Д., Ларькина М. С., Стасюк Е. С., Чернов В. И., Юсубов М. С., Скуридин В. С., Деев С. М., Зельчан Р. В., Булдаков М. А., Подрезова Е. В., Белоусов М. В. Разработка высокоспецифичного радиохимического соединения на основе меченых ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(3):25–33. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-25-33.
9. Брагина О. Д., Чернов В. И., Зельчан Р. В., Синилкин И. Г., Медведева А. А., Ларькина М. С. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(3):125–133. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-125-133.
10. Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPins): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2015;55:489–511.
11. Deyev S. M., Xu T., Liu Y., Schulga A., Konovalova E., Garousi J., Rinne S. S., Larkina M., Ding H., Gräslund T., Orlova A., Tolmachev V., Vorobyeva A. Influence of the Position and Composition of Radiometals and Radioiodine Labels on Imaging of Epcam Expression in Prostate Cancer Model Using the DARPin Ec1. *Cancers*. 2021;13(14):3589. DOI: 10.3390/cancers13143589.
12. Zelchan R., Chernov V., Medvedeva A., Rybina A., Bragina O., Mishina E., Larkina M., Varvashenya R., Fominykh A., Schulga A., Konovalova E., Vorobyeva A., Orlova A., Tashireva L., Deyev S. M., Tolmachev V. Phase I Clinical Evaluation of Designed Ankyrin Repeat Protein [^{99m}Tc]Tc$(CO)_3$-$(HE)_3$-Ec1 for Visualization of EpCAM-Expressing Lung Cancer. *Cancers*. 2024;16(16):2815. DOI: 10.3390/cancers16162815.
13. Kobe B, Kajava A.V. When protein folding is simplified to protein coiling: the continuum of solenoid protein structures. *Trends in Biochemical Sciences*. 2000;25(10):509–515. DOI: 10.1016/s0968-0004(00)01667-4.
14. Binz H. K., Stumpp M. T., Forrer P., Amstutz P., Plückthun A. Designing repeat proteins: well-expressed, soluble and stable proteins from combinatorial libraries of consensus ankyrin repeat proteins. *Journal of Molecular Biology*. 2003;332(2):489–503. DOI: 10.1016/s0022-2836(03)00896-9.
15. Goldstein R., Sosabowski J., Livanos M., Leyton J., Vigor K., Bhavsar G., Nagy-Davidescu G., Rashid M., Miranda E., Yeung J., Tolner B., Plückthun A., Mather S., Meyer T., Chester K. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 for HER2 molecular imaging. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2015;42(2):288–301. DOI: 10.1007/s00259-014-2940-2.
16. Vorobyeva A., Schulga A., Konovalova E., Güler R., Löfblom J., Sandström M., Garousi J., Chernov V., Bragina O., Orlova A. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of 99mTc-labeled DARPin G3. *Scientific Reports*. 2019;9(1):9405.
17. Bragina O., Chernov V., Schulga A., Konovalova E., Garbukov E., Vorobyeva A., Orlova A., Tashireva L., Sörensen J., Zelchan R., Medvedeva A., Deyev S., Tolmachev V. Phase I Trial of ^{99m}Tc-$(HE)_3$-G3, a DARPin-Based Probe

for Imaging of HER2 Expression in Breast Cancer. *Journal of Nuclear Medicine*. 2022;63(4):528–535. DOI: 10.2967/jnumed.121.262542.
18. Larkina M., Plotnikov E., Bezverkhniaia E., Shabanova Y., Tretyakova M., Yuldasheva F., Zelchan R., Schulga A., Konovalova E., Vorobyeva A. Comparative Preclinical Evaluation of Peptide-Based Chelators for the Labeling of DARPin G3 with ^{99m}Tc for Radionuclide Imaging of HER2 Expression in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(21):13443.
19. Larkina M., Varvashenya R., Yuldasheva F., Plotnikov E., Bezverkhniaia E., Tretyakova M., Zelchan R., Schulga A., Konovalova E., Vorobyeva A., Belousov M., Orlova A., Tolmachev V., Deyev S. Comparative Preclinical Evaluation of HYNIC-Modified Designed Ankyrin Repeat Proteins G3 for the ^{99m}Tc-Based Imaging of HER2-Expressing Malignant Tumors. *Molecular Pharmaceutics*. 2024;21(4):1919–1932. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.3c01173.
20. Варвашеня Р. Н. Прач А. А., Плотников Е. В., Деев С. М., Белоусов М. В., Ларькина М. С., Чернов В. И. Оценка функциональной пригодности лиофилизата таргетных каркасных белков с анкириновыми повторами для радионуклидной визуализации гиперэкспрессии HER2/neu в злокачественных опухолях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(3):16–24. DOI: 10.20538/1682-0363-2024-3-16-24.
21. Malakhov M. P., Mattern M. R., Malakhova O. A., Drinker M., Weeks S. D., Butt T. R. SUMO fusions and SUMO-specific protease for efficient expression and purification of proteins. *Journal of Structural and Functional Genomics*. 2004;5(1–2):75–86.
22. Vorobyeva A., Schulga A., Konovalova E., Güler R., Mitran B., Garousi J., Rinne S., Löfblom J., Orlova A., Deyev S. Comparison of tumor-targeting properties of directly and indirectly radioiodinated designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 variants for molecular imaging of HER2. *International Journal of Oncology*. 2019;54(4):1209–1220.
23. Киселева Д. Г., Зигашин Р. Х., Фотин Д. П.,Маркин А. М., Проатерогенный протеомный профиль ЛПНП, полученных от пациентов с сахарным диабетом: иммунологические аспекты. *Российский иммунологический журнал*. 2024;27(2):253–258. DOI: 10.46235//1028-7221-16674-PPP.
24. Ma B., Zhang K., Hendrie C., Liang C., Li M., Doherty-Kirby A., Lajoie G. PEAKS: powerful software for peptide *de novo* sequencing by tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2003;17(20):2337–2342. DOI: 10.1002/rcm.1196.
25. Gill S. C., von Hippel P. H. Calculation of protein extinction coefficients from amino acid sequence data. *Analytical Biochemistry*. 1989;182(2):319–326. DOI: 10.1016/0003-2697(89)90602-7.

REFERENCES

1. Bartley A. N., Washington M. K., Ventura C. B., Ismaila N., Colasacco C., Benson A. B., Carrato A., Gulley M. L., Jain D., Kakar S., Mackay H. J., Streutker C., Tang L., Troxell M., Ajani J. A. HER2 Testing and Clinical Decision Making in Gastroesophageal Adenocarcinoma: Guideline From the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2016;140(12):1345–1363. DOI: 10.5858/arpa.2016-0331-CP.
2. Gebhart G., Lamberts L. E., Wimana Z., Garcia C, Emonts P., Ameye L., Stroobants S., Huizing M., Aftimos P., Tol J., Oyen W. J. G., Vugts D. J., Hoekstra O. S., Schröder C. P., Menke-van der Houven van Oordt C. W., Guiot T., Brouwers A. H., Awada A., de Vries E. G. E., Flamen P. Molecular imaging as a tool to investigate heterogeneity of advanced HER2-positive breast cancer and to predict patient outcome under trastuzumab emtansine (T-DM1): the ZEPHIR trial. *Annals of oncology*. 2016;27(4):619–624. DOI: 10.1093/annonc/mdv577.
3. Tolmachev V. Imaging of HER-2 overexpression in tumors for guiding therapy. *Current Pharmaceutical Design*. 2008;14(28):2999–3019. DOI: 10.2174/138161208786404290.
4. Wolff A. C., Somerfield M. R., Dowsett M., Hammond M. E. H., Hayes D. F., McShane L. M., Saphner T. J., Spears P. A., Allison K. H. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: ASCO-College of American Pathologists Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*. 2023;41(22):3867–3872. DOI: 10.1200/jco.22.02864.
5. Azhar A., Ahmad E., Zia Q., Rauf M. A., Owais M., Ashraf G. M. Recent advances in the development of novel protein scaffolds based therapeutics. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;102:630–641. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.045.
6. Sörensen J., Velikyan I., Sandberg D., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V., Orlova A., Sandström M., Lubberink M., Olofsson H. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [68Ga] ABY-025 Affibody PET/CT. *Theranostics*. 2016;6(2):262.
7. Skuridin V. S., Stasyuk E. S., Bragina O. D., Yusubov M. S., Chernov V. I., Larkina M. S., Zelchan R. V., Rogov A., Sinilkin I., Larionova L. Development of radiopharmaceutical based on mini-antibody for early cancer detection. *Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine*. 2016;43:465–465.
8. Bragina O. D., Larkina M. S., Stasyuk E. S., Chernov V. I., Yusubov M. S., Skuridin V. S., Deyev S. M., Zel'chan R. V., Buldakov M. A., Podrezova E. V., Belousov M. V. The development of a highly specific radiochemical compound based on labeled ^{99m}Tc recombinant molecules for targeted imaging of cells with the overexpression of Her-2/neu. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16(3):25–33. (In Russ.) DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-25-33.
9. Bragina O. D., Chernov V. I., Zeltchan R. V., Sinilkin I. G., Medvedeva A. A., Larkina M. S. Alternative scaffolds in radionuclide diagnosis of malignancies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019;18(3):125–133. (In Russ.) DOI: 10.20538/1682-0363-2019-3-125-133
10. Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPins): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2015;55:489–511.
11. Deyev S. M., Xu T., Liu Y., Schulga A., Konovalova E., Garousi J., Rinne S. S., Larkina M., Ding H., Gräslund T., Orlova A., Tolmachev V., Vorobyeva A. Influence of the Position and Composition of Radiometals and Radioiodine Labels on Imaging of Epcam Expression in Prostate Cancer Model Using the DARPin Ec1. *Cancers*. 2021;13(14):3589. DOI: 10.3390/cancers13143589.
12. Zelchan R., Chernov V., Medvedeva A., Rybina A., Bragina O., Mishina E., Larkina M., Varvashenya R., Fominykh A., Schulga A., Konovalova E., Vorobyeva A., Orlova A., Tashireva L., Deyev S. M., Tolmachev V. Phase I Clinical Evaluation of Designed Ankyrin Repeat Protein [^{99m}Tc]Tc$(CO)_3$-$(HE)_3$-Ec1 for Visualization of EpCAM-Expressing Lung Cancer. *Cancers*. 2024;16(16):2815. DOI: 10.3390/cancers16162815.

13. Kobe B, Kajava A.V. When protein folding is simplified to protein coiling: the continuum of solenoid protein structures. *Trends in Biochemical Sciences*. 2000;25(10):509–515. DOI: 10.1016/s0968-0004(00)01667-4.
14. Binz H. K., Stumpp M. T., Forrer P., Amstutz P., Plückthun A. Designing repeat proteins: well-expressed, soluble and stable proteins from combinatorial libraries of consensus ankyrin repeat proteins. *Journal of Molecular Biology*. 2003;332(2):489–503. DOI: 10.1016/s0022-2836(03)00896-9.
15. Goldstein R., Sosabowski J., Livanos M., Leyton J., Vigor K., Bhavsar G., Nagy-Davidescu G., Rashid M., Miranda E., Yeung J., Tolner B., Plückthun A., Mather S., Meyer T., Chester K. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 for HER2 molecular imaging. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2015;42(2):288–301. DOI: 10.1007/s00259-014-2940-2.
16. Vorobyeva A., Schulga A., Konovalova E., Güler R., Löfblom J., Sandström M., Garousi J., Chernov V., Bragina O., Orlova A. Optimal composition and position of histidine-containing tags improves biodistribution of 99mTc-labeled DARPin G3. *Scientific Reports*. 2019;9(1):9405.
17. Bragina O., Chernov V., Schulga A., Konovalova E., Garbukov E., Vorobyeva A., Orlova A., Tashireva L., Sörensen J., Zelchan R., Medvedeva A., Deyev S., Tolmachev V. Phase I Trial of ^{99m}Tc-$(HE)_3$-G3, a DARPin-Based Probe for Imaging of HER2 Expression in Breast Cancer. *Journal of Nuclear Medicine*. 2022;63(4):528–535. DOI: 10.2967/jnumed.121.262542.
18. Larkina M., Plotnikov E., Bezverkhniaia E., Shabanova Y., Tretyakova M., Yuldasheva F., Zelchan R., Schulga A., Konovalova E., Vorobyeva A. Comparative Preclinical Evaluation of Peptide-Based Chelators for the Labeling of DARPin G3 with ^{99m}Tc for Radionuclide Imaging of HER2 Expression in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(21):13443.
19. Larkina M., Varvashenya R., Yuldasheva F., Plotnikov E., Bezverkhniaia E., Tretyakova M., Zelchan R., Schulga A., Konovalova E., Vorobyeva A., Belousov M., Orlova A., Tolmachev V., Deyev S. Comparative Preclinical Evaluation of HYNIC-Modified Designed Ankyrin Repeat Proteins G3 for the ^{99m}Tc-Based Imaging of HER2-Expressing Malignant Tumors. *Molecular Pharmaceutics*. 2024;21(4):1919–1932. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.3c01173.
20. Varvashenya R. N. Prach A. A., Plotnikov E. B., Deev S. M., Belousov M. V., Larkina M. S., Chernov V. I. Assessing functional suitability of a lyophilized formulation containing designed ankyrin repeat proteins for radionuclide imaging of HER2/neu overexpression in malignant tumors. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(3):16–24. (In Russ.) DOI: 10.20538/1682-0363-2024-3-16-24.
21. Malakhov M. P., Mattern M. R., Malakhova O. A., Drinker M., Weeks S. D., Butt T. R. SUMO fusions and SUMO-specific protease for efficient expression and purification of proteins. *Journal of Structural and Functional Genomics*. 2004;5(1–2):75–86.
22. Vorobyeva A., Schulga A., Konovalova E., Güler R., Mitran B., Garousi J., Rinne S., Löfblom J., Orlova A., Deyev S. Comparison of tumor-targeting properties of directly and indirectly radioiodinated designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 variants for molecular imaging of HER2. *International Journal of Oncology*. 2019;54(4):1209–1220.
23. Kiseleva D. G., Zigashin R. H., Fotin D. P., Markin A. M. Proatherogenic proteomic profile of LDL isolated from plasma of patients with diabetes mellitus: immunological aspects. *Russian Journal of Immunology*. 2024;27(2):253–258. (In Russ.) DOI: 10.46235//1028-7221-16674-PPP.
24. Ma B., Zhang K., Hendrie C., Liang C., Li M., Doherty-Kirby A., Lajoie G. PEAKS: powerful software for peptide *de novo* sequencing by tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2003;17(20):2337–2342. DOI: 10.1002/rcm.1196.
25. Gill S. C., von Hippel P. H. Calculation of protein extinction coefficients from amino acid sequence data. *Analytical Biochemistry*. 1989;182(2):319–326. DOI: 10.1016/0003-2697(89)90602-7.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.322

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2026

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*Lysimachia vulgaris* L.)

Е. М. Крипак✉, **Е. В. Жохова**

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

✉ **Контактное лицо:** Крипак Екатерина Максимовна. **E-mail:** katunhik@gmail.com

ORCID: Е. М. Крипак – https://orcid.org/0000-0002-3551-5632;
Е. В. Жохова – https://orcid.org/0000-0002-9763-096X.

Статья поступила: 31.01.2025 **Статья принята в печать:** 03.10.2025 **Статья опубликована:** 03.10.2025

Резюме

Введение. Исследование качественного и количественного состава растений и выявление перспективных лекарственных видов – одна из важнейших задач современной фармакогнозии. Вербейник обыкновенный (*Lysimachia vulgaris* L.) сем. первоцветных (*Primulaceae* Batsch ex Borkh.) – многолетнее травянистое растение, для надземной части которого основной группой действующих веществ являются фенольные соединения. *L. vulgaris* распространен в России практически повсеместно, известно о его применении в традиционной медицине, а также о видах биологической активности, рассмотренных в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, но поиск научной литературы в отечественном сегменте не выявил достаточной информации о количественном содержании биологически активных веществ (далее – БАВ).

Цель. Разработка и валидация методики оценки количественного содержания суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*L. vulgaris*) в пересчете на рутин методом спектрофотометрии.

Материалы и методы. В качестве объекта использовали спиртовые извлечения из надземной части *L. vulgaris*, заготовленного в период цветения в Ленинградской области. Количественное определение проводили методом спектрофотометрии. Предложенную методику валидировали в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» Государственной фармакопеи РФ XV издания по показателям «специфичность», «линейность», «аналитическая область», «повторяемость», «прецизионность» и «правильность».

Результаты и обсуждение. Для методики количественного определения флавоноидов в траве *L. vulgaris* методом спектрофотометрии в качестве стандартного образца был предложен рутин. Было установлено, что оптимальное извлечение флавоноидов из травы *L. vulgaris* достигается путем использования однократной экстракции спиртом этиловым 70%-м в течение 30 мин при соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 100 и измельченности сырья 2–1 мм. В качестве комплексообразователя был предложен раствор алюминия хлорида 1%-й спиртовой, были подобраны условия комплексообразования (аликвота раствора алюминия хлорида 1%-го – 2 мл, время комплексообразования – 30 мин). Методика отвечает требованиям валидационных характеристик. По разработанной методике было установлено, что сумма флавоноидов в траве *L. vulgaris*, заготовленного в Ленинградской области, составляет 2,97 ± 0,05 % в пересчете на рутин.

Заключение. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*L. vulgaris*) методом спектрофотометрии в пересчете на рутин.

Ключевые слова: флавоноиды, дифференциальная спектрофотометрия, вербейник обыкновенный, *Lysimachia vulgaris* L., валидация

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

Вклад авторов. Е. М. Крипак и Е. В. Жохова разработали и спланировали исследование. Е. М. Крипак провела экспериментальную часть. Е. В. Жохова провела исследование методики по показателю «внутрилабораторная прецизионность» в качестве второго аналитика. Е. М. Крипак и Е. В. Жохова подготовили статью к публикации.

© Крипак Е. М., Жохова Е. В., 2025
© Kripak E. M., Zhokhova E. V., 2025

Для цитирования: Крипак Е. М., Жохова Е. В. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*Lysimachia vulgaris L.*). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):152–163. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2026

Development and validation of a method for quantitative determination of the flavonoid content in the herb of yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.)

Ekaterina M. Kripak✉, Elena V. Zhokhova

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Ekaterina M. Kripak. **E-mail:** katunhik@gmail.com

ORCID: Ekaterina M. Kripak – https://orcid.org/0000-0002-3551-5632;
Elena V. Zhokhova – https://orcid.org/0000-0002-9763-096X.

Received: 31.01.2025 **Accepted:** 03.10.2025 **Published:** 03.10.2025

Abstract

Introduction. The study of the qualitative and quantitative composition of plants and the identification of promising medicinal species is one of the most important tasks of modern pharmacognosy. Yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.) of the *Primulaceae* family is a perennial herbaceous plant. The main group of active substances in the herb of *L. vulgaris* are phenolic compounds. *L. vulgaris* is widely distributed in Russia, is known in traditional medicine, its biological activities have been examined *in vitro* and *in vivo* experiments. A search of scientific literature in the Russian segment did not reveal sufficient information on the quantitative content of biologically active substances.

Aim. Development and validation of an analytical procedure for assessing the quantitative content of flavonoids in the herb of yellow loosestrife (*L. vulgaris*) in terms of rutin using spectrophotometry.

Materials and methods. The object of the study was alcohol extracts from the aerial part of *L. vulgaris*, harvested during the flowering period in the Leningrad region. Quantitative determination was carried out by spectrophotometry. The proposed analytical procedure was validated in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia XV in terms of specificity, linearity, range, repeatability (intra-assay precision), precision and accuracy (trueness).

Results and discussion. For the proposed analytical procedure, rutin was proposed as a standard sample. It was found that the maximum extraction of flavonoids from the herb of *L. vulgaris* is achieved by using a single extraction with 70 % ethyl alcohol for 30 min at a raw material : extractant ratio of 1 : 100 and a raw material grinding of 2–1 mm. A 1 % alcohol solution of aluminum chloride was proposed as a complexing agent, and the complexation conditions were selected (aliquot of aluminum chloride 1 % solution 2 ml, complexation time 30 min). The analytical procedure meets the requirements of the validation characteristics. According to the developed method, it was found that the amount of flavonoids in the herb of *L. vulgaris*, harvested in the Leningrad region, is 2,97 ± 0,05 % expressed in rutin.

Conclusion. A method for the quantitative determination of the flavonoid content in the herb of yellow loosestrife (*L. vulgaris*) by spectrophotometry expressed in rutin has been developed and validated.

Keywords: flavonoids, differential spectrophotometry, yellow loosestrife, *Lysimachia vulgaris* L., validation

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 M. Kripak and Elena V. Zhokhova developed and planned the study, Ekaterina M. Kripak conducted the experimental part, Elena V. Zhokhova conducted a study of the methodology for the precision as a second analyst. Ekaterina M. Kripak and Elena V. Zhokhova prepared the article for publication.

For citation: Kripak E. M., Zhokhova E. V. Development and validation of a method for quantitative determination of the flavonoid content in the herb of yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.). *Drug development & registration*. 2025;14(4):152–163. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2026

ВВЕДЕНИЕ

Изучение перспективных видов растений, находивших применение в народной медицине, и методов их стандартизации в настоящее время остается одной из основных задач фармакогнозии. Большинство исследований фармакологических свойств *L. vulgaris* были проведены зарубежными исследователями [1, 2]. Была установлена антибактериальная активность этанольных и ацетоновых экстрактов надземных частей *L. vulgaris* в отношении грамположительных бактерий (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus*

aureus и *Staphylococcus epidermidis*) [3]. Для метанольных, водных и этанольных экстрактов надземной части *L. vulgaris* была определена антиоксидантная активность (в отношении DPPH• и ABTS•+) [4–6].

Кроме этого, для спиртового экстракта *L. vulgaris* var. *davurica* были выявлены гепатопротекторные свойства на модели неалкогольного стеатогепатита печени у мышей. Определено, что при приеме экстракта *L. vulgaris* var. *davurica* в сыворотке крови снижаются уровни ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы – маркеров повреждения печени, а биохимический анализ тканей печени показал снижение уровня малондиальдегида, который известен как маркер окислительного стресса. Теми же авторами установлено, что при приеме экстракта *L. vulgaris* var. *davurica* в тканях печени больных мышей увеличивается экспрессия белков NRF2 и HO-1, снижается экспрессия мРНК MCP-1 и ICAM-1, что свидетельствует об уменьшении окислительного стресса и активации антиоксидантных систем; снижается экспрессия белков TGFβ, Smad2/3, p-Smad2/3, Smad4, MMP2 и α-SMA и экспрессия мРНК α-SMA и COL3A1, связанных с фиброзом печени [7].

Исследование модели неалкогольной жировой болезни печени у мышей показало, что экстракт *L. vulgaris* снижает: накопление липидов в подкожной клетчатке и печени; уровни АЛТ, АСТ, глюкозы и триглицеридов в сыворотке крови; экспрессию липогенных белков LXRβ, SREBP-1, ACC, FAS и SCD1 в ткани печени [8].

Для надземной части *L. vulgaris* характерны разные группы БАВ: флавоноиды (кверцетин-3-O-β-D-рутинозид, кемпферол, мирицетин, апигенин, лютеолин, кверцетин, лютеолин-7-O-β-D-глюкозид, кемпферол-3-O-β-D-глюкопиранозид, мирицетин-3-O-β-D-рутинозид, кемпферол-3-O-β-D-рутинозид, кверцетин-3-O-β-D-глюкопиранозид, мирицетин-3-O-β-D-глюкопиранозид) [3, 4, 6, 9], кумарин [3], фенольные кислоты (кофейная, хлорогеновая, галловая, *p*-кумаровая, феруловая) [3, 7], лигнаны (пинорезинол) [8], дубильные вещества [4], бензофураны (лолиолид) [8]. Известно, что флавоноиды являются хорошими природными антиоксидантами. Содержание фенольных соединений, в частности флавоноидов, в экстрактах положительно коррелирует со способностью удалять свободные радикалы [10–14], накапливающиеся в избытке во время окислительного стресса при воспалении и повреждающие клетки [15–17]. Учитывая большую роль воспалительных реакций в развитии многих патологий, изучение сырья, содержащего флавоноиды, и его стандартизация являются актуальными задачами для фармакогнозии [18–20].

Цель работы – валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве вербейника обыкновенного (*L. vulgaris*) в пересчете на рутин методом спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали траву *L. vulgaris*, заготовленную в фазе цветения в Ленинградской области (Всеволожский район, окрестности д. Каменка, суходольный луг) в 2021 г.

В процессе исследования использовали реактивы: хлорида алюминия гексагидрат (ч.д.а., АО «ВЕКТОН», Россия), спирт этиловый (ч.д.а., Россия), рутин – стандартный образец (СО), содержание рутина – 99,14 % (серия 101022, годен до 10.10.2025 г., ООО «Геофарма», Россия), деионизированная вода (II класс чистоты). Количественное определение проводили методом спектрофотометрии на приборе СФ-2000 (ЗАО «ОКБ Спектр», Россия).

Валидацию методики осуществляли согласно ОФС.1.1.0012 Государственной фармакопеи РФ XV издания и решению Коллегии Евразийской экономической комиссии № 113 от 17.07.18. Влажность определяли согласно ОФС.1.5.3.0007. Статистическую обработку данных осуществляли в соответствии с ОФС.1.1.0013.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения общего содержания флавоноидов в траве *L. vulgaris* нами был предложен быстрый и доступный метод спектрофотометрии, основанный на способности флавоноидов образовывать хелатные комплексы с ионами металлов. Обработка растительных экстрактов раствором $AlCl_3$ приводит к появлению новой полосы в спектре поглощения в области 400–450 нм. Данный метод позволяет определить флавоноиды, имеющие кето-группу в положении C_4, гидроксильные группы в положениях C_3 (B-кольцо), C_5 (A-кольцо), $C_{3'}$ и $C_{4'}$ (C-кольцо), двойную связь в положении C_2-C_3 (флавоны, флавонолы, изофлавоны) [21–24]; известно, что многие вторичные метаболиты травы *L. vulgaris* имеют данную структуру. В экстракте в значительном количестве присутствует рутин [9], который был предложен нами в качестве стандарта в виде 0,02%-го раствора. Спектр поглощения 70%-го этанольного извлечения *L. vulgaris* после реакции с $AlCl_3$ 1%-го имел максимум поглощения при длине волны 411 ± 2 нм, что соответствует максимуму поглощения продуктов реакции 0,02%-го СО рутина с 1%-м хлоридом алюминия (рисунок 1).

Для более полного извлечения флавоноидов были подобраны оптимальные условия экстракции [25–30].

Для количественной оценки флавоноидов в качестве экстрагента используют этанол в концентрации от 50 %, нами был исследован выход флавоноидов при использовании этанола 40, 70 и 90 %. В настоящем исследовании наибольший выход флавоноидов наблюдался при использовании этанола 70 %.

Экстракцию сырья проводили на кипящей водяной бане с обратным холодильником, как описано в фармакопейных статьях [31, 32] на растительное сырье, содержащее флавоноиды. Применение темпера-

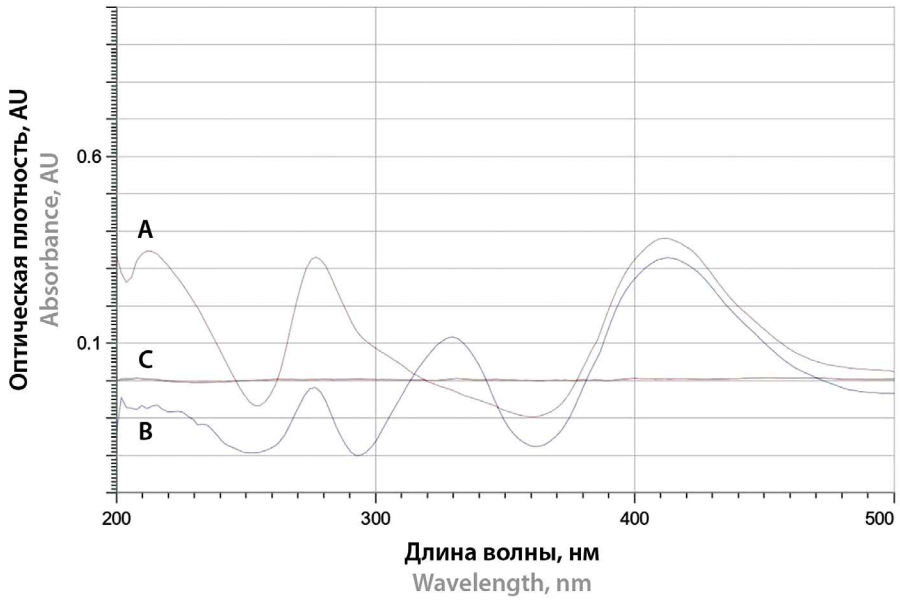


Рисунок 1. Спектры поглощения раствора СО рутина (A), извлечения из травы *L. vulgaris* (B) с раствором алюминия хлорида 1%-го, раствора плацебо (C)

Figure 1. Absorption spectra of rutin RS (A) and extract from *L. vulgaris* herb (B) with 1 % aluminum chloride solution, placebo solution (C)

турного режима оправданно, поскольку достоверно известно, что нагревание увеличивает скорость экстракции. Время нагревания в зависимости от модификации методики для конкретного сырья варьируется от 10 мин до 3,5 ч. Чаще всего в фармакопейных методиках встречается 60 мин, для ускорения аналитического процесса были проведены испытания и для 30 мин. При времени экстракции 30 мин выход флавоноидов из травы *L. vulgaris* был выше, чем при 60 мин.

Соотношение «сырье : экстрагент» в нормативной документации варьируется от 1 : 10 до 1 : 200, наиболее часто встречаются соотношения 1 : 30, 1 : 50 и 1 : 100, которые и были исследованы в работе, при этом больший выход наблюдался при соотношении 1 : 100.

Влияние измельченности сырья на экстракцию оценивали для частиц размером 3,0–2,0, 2,0–1,0, 1,0–0,5, 0,5–0,2 и менее 0,2 мм. Наибольшая степень экстракции наблюдалась при размере частиц 2,0–1,0 мм. При этом использование частиц с размером менее 1,0 мм увеличивало продолжительность анализа на этапе фильтрации.

При оценке кратности экстракции проверяют увеличение выхода флавоноидов при увеличении циклов экстракции. В данном исследовании при применении двухкратной экстракции выход флавоноидов снижался.

Установлено, что бóльшая степень извлечения флавоноидов в пересчете на рутин достигается при однократной экстракции спиртом этиловым 70 % в соотношении «сырье : экстрагент» 1 : 100, времени экстракции 30 мин и измельченности сырья 2,0–1,0 мм (таблица 1).

Как правило, для реакции комплексообразования используют 1–5 мл 2%-го раствора алюминия хлорида в 96%-м этаноле при времени комплексообразования 30–40 мин [31–32]. Нами было оценено влияние объема аликвоты (1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 мл) 1%-го алюминия хлорида и времени реакции (15, 30, 45, 60 мин) на реакцию комплексообразования и, как следствие, на итоговый выход флавоноидов.

Оптимальные условия комплексообразования достигались при использовании 2 мл спиртового раствора алюминия хлорида 1%-го при времени комплексообразования 30 мин (таблица 2).

Исходя из полученных результатов, мы предложили следующую методику количественного определения флавоноидов в траве *L. vulgaris* в пересчете на рутин.

Приготовление раствора СО рутина. Около 0,02 г (точная навеска) рутина, предварительно высушенного при 130–135 °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу объемом 100 мл и растворяют в 85 мл спирта этилового 96 % при нагревании на водяной бане, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают (раствор А СО рутина).

2 мл раствора А СО рутина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 1 % и дово-

Таблица 1. Факторы, влияющие на полноту экстракции флавоноидов из травы *L. vulgaris*

Table 1. Factors affecting the completeness of the extraction of flavonoids from *L. vulgaris* herb

Экстрагент Extraction solvent	Время экстракции, мин Extraction time, min	Кратность экстракции Number of extractions	Соотношение «сырье : экстрагент» Raw material : solvent ratio	Измельченность сырья, мм Raw material fineness, mm	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %
Спирт этиловый 40 % Ethyl alcohol, 40 %	30	1	1 : 30	2,0–1,0	1,50 ± 0,06
Спирт этиловый 40 % Ethyl alcohol, 40 %	30	1	1 : 50	2,0–1,0	1,66 ± 0,08
Спирт этиловый 40 % Ethyl alcohol, 40 %	30	1	1 : 100	2,0–1,0	1,83 ± 0,08
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 100	менее 1,0 less than 1,0 mm	2,80 ± 0,10
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 100	3,0–2,0	1,38 ± 0,06
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 30	2,0–1,0	1,78 ± 0,06
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30	1	1 : 50	2,0–1,0	2,12 ± 0,09
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	**30**	**1**	**1 : 100**	**2,0–1,0**	**2,82 ± 0,10**
Спирт этиловый 90 % Ethyl alcohol, 90 %	30	1	1 : 30	2,0–1,0	1,25 ± 0,06
Спирт этиловый 90 % Ethyl alcohol, 90 %	30	1	1 : 50	2,0–1,0	1,98 ± 0,09
Спирт этиловый 90 % Ethyl alcohol, 90 %	30	1	1 : 100	2,0–1,0	2,14 ± 0,10
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30 + 30	2	1 : 30	2,0–1,0	2,20 ± 0,10
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	30 + 30	2	1 : 50	2,0–1,0	2,25 ± 0,11
Спирт этиловый 70 % Ethyl alcohol, 70 %	60	1	1 : 50	2,0–1,0	2,42 ± 0,12

дят спиртом этиловым 96 % до метки (раствор Б СО рутина).

Около 0,5 г (точная навеска) исследуемого сырья вербейника обыкновенного с размером частиц, проходящих сквозь сито 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта этилового 70 % и нагревают на кипящей водяной бане с обратным холодильником 30 мин. Полученное извлечение охлаждают до комнатной температуры, фильтруют в мерную колбу объемом 50 мл, фильтр промывают спиртом этиловым 70 %, доводят объем до метки тем же растворителем (раствор А испытуемого раствора).

2 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 1 % и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 411 ± 2 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора, доведенного спиртом этиловым 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А СО рутина, доведенного спиртом этиловым 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Таблица 2. Факторы, влияющие на реакцию комплексообразования флавоноидов травы *L. vulgaris* с 1%-м спиртовым раствором хлорида алюминия

Table 2. Factors influencing the reaction of complexation of flavonoids of the *L. vulgaris* herb with a 1 % alcohol solution of aluminum chloride

Аликвота раствора алюминия хлорида 1%-го, мл Aliquot of 1 % aluminum chloride solution, ml	Время комплексообразования, мин Complexation time, min	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %
1	15	2,63 ± 0,05
	30	2,83 ± 0,06
	45	2,72 ± 0,03
	60	2,70 ± 0,08
1,5	15	2,92 ± 0,05
	30	2,95 ± 0,03
	45	2,99 ± 0,02
	60	2,68 ± 0,06
2	15	3,01 ± 0,04
	30	**3,02 ± 0,02**
	45	3,02 ± 0,05
	60	2,73 ± 0,03
2,5	15	3,00 ± 0,02
	30	2,99 ± 0,06
	45	3,01 ± 0,03
	60	2,74 ± 0,02
3	15	2,35 ± 0,01
	30	2,36 ± 0,03
	45	2,40 ± 0,08
	60	1,95 ± 0,10

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 2 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 2 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100 \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность раствора Б исследуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора Б СО рутина; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО рутина, г; P – содержание основного вещества в СО рутина, %; W – абсолютная влажность сырья, %.

Чтобы убедиться, что методика гарантирует достоверные результаты, была проведена ее валидация. Специфичность достигается путем использования дифференциальной спектрофотометрии, в основе которой лежит реакция флавоноидов с хлоридом алюминия, при этом в спектре поглощения извлечения из травы *L. vulgaris* происходит батохромный сдвиг. Дифференциальные спектры продуктов реакции флавоноидов травы *L. vulgaris* и СО рутина с раствором 1%-го хлорида алюминия имеют одинаковый максимум при длине волны 411 ± 2 нм. При этом в спектре «плацебо» не наблюдается максимумов (см. рисунок 1).

Линейность изучали, измеряя пять проб с различной массой навески (0,2548; 0,3055; 0,4025; 0,5096; 0,7080 г), критерием приемлемости считается коэффициент корреляции $r \geq 0{,}99$, что говорит о линейной зависимости оптической плотности от концентрации флавоноидов в извлечении. При этом $|a - 0| \leq \Delta a$, что говорит об отсутствии систематической ошибки (таблица 3). Линейная зависимость соблюдается в интервале концентраций 50–140 % от номинального значения определяемой величины (0,5 г). Интервал 50–140 % составляет аналитическую область методики (рисунок 2) и соответствует требуемым значениям 80–120 %.

Таблица 3. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «линейность»

Table 3. Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the linearity parameter

Характеристики линейной зависимости Characteristics of linearity	Значения Parameter values
Тангенс угла наклона прямой, b Linear slope, b	1,4995
Свободный член линейной зависимости, a Free term of liner dependence, a	0,0645
Стандартное отклонение линейной зависимости, S_o ($P = 95$ %; $f = 3$) Standard deviation of liner dependence, S_o ($P = 95$ %; $f = 3$)	0,024899
Стандартное отклонение свободного члена a, S_a ($P = 95$ %; $f = 3$) Standard deviation of free term a, S_a ($P = 95$ %; $f = 3$)	0,0672591
Доверительный интервал свободного члена a, Δa ($P = 95$ %; $f = 3$) Confidence interval of free term a, Δa ($P = 95$ %; $f = 3$)	0,2139

Повторяемость (сходимость) определяли на шести образцах травы *L. vulgaris* с содержанием суммы флавоноидов, близким к номинальному, критерием приемлемости служит величина стандартного отклонения RSD, которая не должна превышать 2 %, что говорит о воспроизводимости результатов (таблица 4).

Таблица 4. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «повторяемость»

Table 4. Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the repeatability parameter

Навеска сырья, г Mass of the sample, g	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %	Метрологические характеристики ($p = 0,05$) Metrological characteristics ($p = 0,05$)
0,4963	3,01	$\bar{x} = 2,97$ $S = 0,045387$ $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = 2,97 \pm 0,05$ % $\bar{\varepsilon} = 1,68$ % $\varepsilon = 3,92$ % RSD = 1,53 %
0,5194	2,98	
0,5111	3,03	
0,5052	2,93	
0,5019	2,92	
0,5054	2,94	

Примечание. $\bar{x}$ – среднее значение; S – стандартное отклонение; $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ – доверительный интервал среднего значения; $\bar{\varepsilon}$ – относительная ошибка среднего результата; ε – относительная ошибка отдельного результата; RSD – относительное стандартное отклонение.

Note. $\bar{x}$ – mean value; S – standard deviation; $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ – confidence interval of mean value; $\bar{\varepsilon}$ – relative error of the mean result; ε – relative error of a single result; RSD – relative standard deviation.

Определение внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности проводилось двумя аналитиками для двух образцов в трех повторностях для каждого в течение двух разных дней. Относительное стандартное отклонение не превышает допустимые 2 % (таблица 5).

Для оценки правильности методики были изучены образцы трех разных навесок в трех повторностях с добавлением известного количества СО рутина. Критерием приемлемости служит величина открываемости (Z, %), среднее значение которой должно быть в пределах 98–102 % (таблица 6). Установлено, что условие $|Z_{ср.} - 100| \le \Delta\bar{x}$ соблюдается для исследованных образцов.

Таблица 5. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «внутрилабораторная прецизионность»

Table 5. Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the parameter intralaboratory precision

Навеска сырья, г Mass of the sample, g	Аналитик Analyst	День эксперимента Date of experiment	№ п/п Serial number	Содержание суммы флавоноидов, % Total flavonoid content, %	Метрологические характеристики ($p = 0,05$) Metrological characteristics ($p = 0,05$)
0,5009	1	1	1	2,98	$\bar{x} = 2,98$ $S_1^2 = 0,000540$ $S_1 = 0,023238$ $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = 2,98 \pm 0,02$ % RSD = 0,78 %
	1	1	2	2,96	
	1	1	3	2,95	
0,5013	1	1	1	3,01	
	1	1	2	2,96	
	1	1	3	2,99	
0,5025	2	2	1	3,00	$\bar{x} = 2,97$ $S_2^2 = 0,000780$ $S_2 = 0,027928$ $\bar{x} \pm \Delta\bar{x} = 2,97 \pm 0,03$ % RSD = 0,94 %
	2	2	2	2,96	
	2	2	3	2,94	
0,5017	2	2	1	2,93	
	2	2	2	2,97	
	2	2	3	2,99	

Примечание.

$F_{выч.}(S^2_{max}/S^2_{min}) = 1,44 < F$ (95 %; 5; 5)

$\bar{x} = 2,97$

$S^2 = 0,000660$

$$S^2_{выч.} = \frac{S^2 \cdot (n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} = 0,000220 \; (n_1 = 4; n_2 = 6)$$

$$S_{выч.} = \sqrt{S^2_{выч.}} = 0,014832$$

$t_{выч.} = 0,67 < t$ (95 %; 10) – различия результатов статистически незначимы

RSD = 0,87 %.

Note.

$F_{calc.}(S^2_{max}/S^2_{min}) = 1,44 < F$ (95 %; 5; 5)

$\bar{x} = 2,97$

$S^2 = 0,000660$

$$S^2_{calc.} = \frac{S^2 \cdot (n_1 + n_2)}{n_1 \cdot n_2} = 0,000220 \; (n_1 = 4; n_2 = 6)$$

$$S_{calc.} = \sqrt{S^2_{calc.}} = 0,014832$$

$t_{calc.} = 0,67 < t$ (95 %; 10) – the differences in the results are statistically insignificant

RSD = 0,87 %.

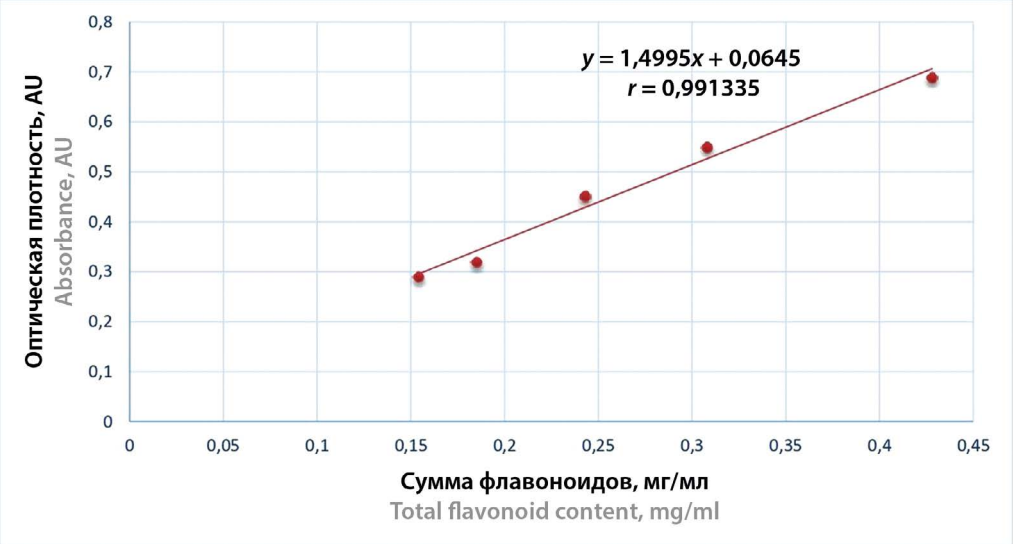


Рисунок 2. **Градуировочный график зависимости величины оптической плотности от суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris***

Figure 2. **Calibration graph of the dependence of the optical density on the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb**

Таблица 6. **Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* по параметру «правильность»**

Table 6. **Validation of the method for quantitative determination of the total flavonoid content in the *L. vulgaris* herb by the parameter accuracy**

Навеска сырья, г / Mass of the sample, g	Рассчитанная сумма флавоноидов, мг / Calculated total flavonoid content, mg	Добавлено СО рутина, мг / Adding rutin RS, mg	Ожидаемое содержание, мг / Calculated value, mg	Полученное содержание, мг / Experimental value, mg	Открываемость, Z, % / Recovery, Z, %	Метрологические характеристики (p = 0,05) / Metrological characteristics (p = 0,05)
0,4978	0,5914	0,1005	0,6919	0,6848	98,98	S = 1,589623 $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ = 101,04 ± 1,22 % RSD = 1,57 % $\bar{\varepsilon}$ = 1,21 % ε = 3,63 %
		0,2010	0,7924	0,8086	102,05	
		0,3015	0,8929	0,9193	102,96	
0,5194	0,6170	0,1005	0,7175	0,7163	99,83	
		0,2010	0,8180	0,8278	101,10	
		0,3015	0,9185	0,9326	101,54	
0,5042	0,5989	0,1005	0,6994	0,6974	99,72	
		0,2010	0,7999	0,8093	101,18	
		0,3015	0,9004	0,9286	103,13	

Таким образом, сумма флавоноидов в пересчете на рутин в траве *L. vulgaris* составляет 2,97 ± 0,05 %. Полученные данные согласуются с результатами других авторов, определявших содержание суммы флавоноидов в сырье *L. vulgaris* методом спектрофотометрии (таблица 7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предложена методика количественного определения суммы флавоноидов в траве *L. vulgaris* методом дифференциальной спектрофотометрии. Подобран стандартный образец для проведения

Таблица 7. Литературные данные о содержании суммы флавоноидов в *L. vulgaris*

Table 7. Literary data on the total flavonoid content in *L. vulgaris*

Место заготовки Harvesting area	**Морфологическая часть растения** Morphological part of a plant	**Содержание суммы флавоноидов** Total flavonoid content
Россия, Астраханская область [33] Russia, Astrakhan region [33]	Листья Leaves	2,9 % в пересчете на лютеолин-7-гликозид 2,9 % expressed in luteolin-7-glycoside
Венгрия, национальный парк Бюкк [4] Hungary, Bükk National Park [4]	Трава Herb	0,55 ± 0,01 % в пересчете на гиперозид 0,55 ± 0,01 % expressed in hyperoside
	Листья Leaves	1,14 ± 0,04 % в пересчете на гиперозид 1,14 ± 0,04 % expressed in hyperoside
	Стебель Stem	0,10 ± 0,02 % в пересчете на гиперозид 0,10 ± 0,02 % expressed in hyperoside
Румыния, г. Клуж-Напока [34] Romania, Cluj-Napoca [34]	Трава Herb	2,64 ± 0,1 % в пересчете на рутин 2,64 ± 0,1 % expressed in rutin

анализа – рутин, аналитическая длина волны – 411 ± 2 нм.

2. Подобраны условия извлечения флавоноидов из травы *L. vulgaris*. Среди факторов, влияющих на экстракцию, рассмотрены: тип экстрагента, время экстракции, кратность экстракции, соотношение «сырье:экстрагент», измельченность сырья.
3. Подобраны условия реакции комплексообразования: количество комплексообразователя, время комплексообразования.
4. Доказано, что методика удовлетворяет требованиям валидности по показателям «специфичность», «линейность», «аналитическая область», «повторяемость», «внутрилабораторная прецизионность», «правильность».
5. Установлено, что сумма флавоноидов в пересчете на рутин в траве *L. vulgaris*, собранной в Ленинградской области, составляет 2,97 ± 0,05 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Podolak I., Strzałka M. Qualitative and quantitative LC profile of embelin and rapanone in selected Lysimachia species. *Chromatographia*. 2008;67(5–6):471–475. DOI: 10.1365/s10337-007-0511-4.
2. Podolak I., Elas M., Cieszka K. In vitro antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigments from *Lysimachia vulgaris* L. *Phytotherapy Research*. 1998;12:70–73.
3. Yildirim A. B., Guner B., Karakas F. P., Turker A. U. Evaluation of antibacterial, antitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown Lysimachia vulgaris L. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*. 2017;14(2):177–187. DOI: 10.21010/ajtcam.v14i2.19.
4. Toth A., Riethmüller E., Alberti A., Végh K., Kery A. Comparative phytochemical screening of phenoloids in Lysimachia species. *European Chemical Bulletin*. 2012;1(1–2):27–30.
5. Toth A., Toth G., Kery A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of three *Lysimachia* species. *Natural Product Communications*. 2014;9:1473–1478. DOI: 10.1177/1934578X1400901017.
6. Toth A., Riethmuller E., Vegh K., Alberti A., Beni S., Kery A. Contribution of individual flavonoids in *Lysimachia* species to the antioxidant capacity based on HPLC-DPPH assay. *Natural Product Research*. 2018;32(17):2058–2061. DOI: 10.1080/14786419.2017.1359176.
7. Yang-Ju S., Jung D. S., Shin J. M., Kim M., Yoo G., Nho C. W. Yellow loosestrife (Lysimachia vulgaris var. davurica) ameliorates liver fibrosis in db/db mice with methionine- and choline-deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021;21(1):44. DOI: 10.1186/s12906-021-03212-6.
8. Kim S. Y., Lee J. Y., Jhin C., Shin J. M., Kim M., Ahn H. R., Yoo G., Son Y. J., Jung S. H., Nho C. W. Reduction of Hepatic Lipogenesis by Loliolide and Pinoresinol from *Lysimachia vulgaris* via Degrading Liver X Receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(45):12419–12427. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b01488.
9. Kim H.-Y., Kim C.-E., Oh D.-R., Kim Y., Choi C.-Y., Kim J. Development and Validation of a High-Performance Liquid Chromatography Method to Quantify Marker Compounds in *Lysimachia vulgaris* var. *davurica* and Its Effects in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Molecules*. 2024;29(7):1489. DOI: 10.3390/molecules29071489.
10. Nurcholis W., Sya'bani Putri D. N., Husnawati H., Aisyah S. I., Priosoeryanto B. P. Total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts from accessions of *Amomum compactum* fruits. *Annals of Agricultural Sciences*. 2021;66(1):58-62. DOI: 10.1016/j.aoas.2021.04.001.
11. Zeb A., Rahman F. Phenolic profile, total bioactive contents, and antioxidant activity of pear fruits. *Food Chemistry Advances*. 2024;5:100780. DOI: 10.1016/j.focha.2024.100780.
12. Maache S., Elghouizi A., Zbadi L., Soulo N., Nouioura G., Lyoussi B., Elarabi I. Characterization, antioxidant, and antimicrobial activity of two sage species' organic and aqueous extracts from Morocco's Middle Atlas. *Kuwait Journal of Science*. 2025;52(2):100382. DOI: 10.1016/j.kjs.2025.100382.

13. Imtiaz F., Ahmed D., Mohammed O. A., Younas U., Iqbal M. Optimized recovery of phenolic and flavonoid compounds from medicinal plant extracts for enhanced antioxidant activity: A mixture design approach. *Results in Chemistry*. 2025;13:101960. DOI: 10.1016/j.rechem.2024.101960.
14. de Almeida Soares L., Germano A. T., Vitali L., Mazzuti S., Lins de Aquino Santana L. C. Solid-state fermentation as a pre-treatment method for the extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) and jatobá peel (*Hymenaea courbaril* L.). *Food Bioscience*. 2025;63:105716. DOI: 10.1016/j.fbio.2024.105716.
15. Цейликман Н. Э., Лукин А. А. Влияние окислительного стресса на организм человека. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022;3(117):206–211. DOI: 10.23670/IRJ.2022.117.3.037.
16. Аникин Д. А., Соловьева И. А., Демко И. В., Собко Е. А., Крапошина А. Ю., Гордеева Н. В. Свободнорадикальное окисление как патогенетическое звено метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм*. 2022;19(3):306–316. DOI: 10.14341/omet12804.
17. Олефир Ю. В., Романов Б. К., Кукес В. Г., Сычев Д. А., Прокофьев А. Б., Парфенова О. К., Сидоров Н. Г., Александрова Т. В. Роль окислительного стресса в патогенезе социально значимых заболеваний человека и пути его медикаментозной коррекции. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2021;16(4):450–455. DOI: 10.14300/mnnc.2021.16109.
18. Соколова А. Ю., Полуянов А. М., Бардаков А. И., Сологова С. С., Бобкова Н. В. Выделение, идентификация и количественное определение флавоноидов из цветков клекачки перистой. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(2):155–163. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1796.
19. Бояршинов В. Д., Зорина Е. В. Разработка параметров стандартизации травы культивируемого вида манжетка мягкая (*Alchemilla mollis* (Buser) Rothm.). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4–1):85–90. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-85-90.
20. Кутателадзе Г. Р., Федосеева Л. М. Исследования по разработке и валидации методики количественного определения флавоноидов в щавеля кислого траве, заготовленной на территории алтайского края. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(2):80–86. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-80-86.
21. Nicolescu A., Bunea C. I., Mocan A. Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. *Analytical Biochemistry*. 2025;700:115794. DOI: 10.1016/j.ab.2025.115794.
22. Xujiang Y., Cuimin H., Xianmei X., Zhike L., Yanfen C. Optimisation study on the flavonoid extraction process from Abrus precatorius leaves and the comparison of total flavonoid content by HPLC and UV. *Journal of Holistic Integrative Pharmacy*. 2023;4(2):119–126. DOI: 10.1016/j.jhip.2023.09.003.
23. Amjad M. S., Talaat A. A., Md Mizanur R., Yousef M. H. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*. 2021;150:111932. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111932.
24. Bin Mokaizh A. A., Hamid Nour A., Ali G. A. M., Ishmael Ukaegbu C., Faraj Hawege E. Eco-friendly and efficient extraction of phenolic compounds from Commiphora gileadensis bark using microwave-assisted extraction. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2025;142:321–328. DOI: 10.1016/j.jiec.2024.07.038.
25. Liu Y., Wang R., Hu X., Yu C., Wang Z., Zhang L., Liu S., Li C. Optimization of ultrasonic extraction of bioactive components from Alpiniae oxyphyllae Fructus using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2024;41:100557. DOI: 10.1016/j.jarmap.2024.100557.
26. Zulkifli M. Z. A., Benjamin M. A. Z., Mohd Rosdan M. D. E., Saini A., Rusdi N. A., Awang M. A. Optimisation of yield, flavonoids, and antioxidant activity via ultrasound-assisted extraction of bamboo leaves from Dinochloa sublaevigata S. Dransf. (Wadan) in Sabah, Malaysia. *Advances in Bamboo Science*. 2025;10:100128. DOI: 10.1016/j.bamboo.2025.100128.
27. Rocha G. J. R., Aguiar A. C., Abud C. O. G., Pertuzatti P. B., Sampaio K. A., Paula J. T. Pressurized liquid extraction as a green technique for bioactive compounds recovery from Momordica charantia leaves. *Applied Food Research*. 2025;5(1):100795. DOI: 10.1016/j.afres.2025.100795.
28. Al Hawat L., Alallan L. Estimation of antioxidant and hypolipidemic activities of extracts of *Citrus x aurantium* leaves *in vitro*. *Phytomedicine Plus*. 2025;5(1):100723. DOI: 10.1016/j.phyplu.2024.100723.
29. Ковалёва Н. А., Тринеева О. В., Чувикова И. В., Сливкин А. И. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях облепихи крушиновидной методом спектрофотометрии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2):216–226. DOI: 10.30895/1991-2919-2023-531.
30. Petrosyan H. R., Nigaryan A. A., Hovhannisyan H. A., Soloyan A. M., Vardapetyan V. V., Martiryan A. I. Evaluation of antioxidant activity and heavy metals content in licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) growing wild in Armenia. *Heliyon*. 2023;9(11):e22442. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e22442.
31. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. М.: Министерство Здравоохранения Российской Федерации; 2018. Т. 4.
32. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. М.: Министерство Здравоохранения Российской Федерации; 2023. Т. 2.
33. Крюкова С. А. Изучение содержания флавоноидов в листьях вербейника обыкновенного, произрастающего на территории Астраханской области. *Инновационные научные исследования*. 2021;6–3(8):7–12. DOI: 10.5281/zenodo.5529051.
34. Benedec D., Hanganu D., Olah. N. K., Mocan A., Vlase L., Raita O., Toma C. C. Comparative Polyphenolic Content and Antioxidant Activities of Two Romanian *Lysimachia* Species. *Revista de Chimie*. 2016;67(2):227–231.

REFERENCES

1. Podolak I., Strzałka M. Qualitative and quantitative LC profile of embelin and rapanone in selected Lysimachia species. *Chromatographia*. 2008;67(5–6):471–475. DOI: 10.1365/s10337-007-0511-4.

2. Podolak I., Elas M., Cieszka K. In vitro antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigments from *Lysimachia vulgaris* L. *Phytotherapy Research*. 1998;12:70–73.
3. Yildirim A. B., Guner B., Karakas F. P., Turker A. U. Evaluation of antibacterial, antitumor, antioxidant activities and phenolic constituents of field-grown and in vitro-grown Lysimachia vulgaris L. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*. 2017;14(2):177–187. DOI: 10.21010/ajtcam.v14i2.19.
4. Toth A., Riethmüller E., Alberti A., Végh K., Kery A. Comparative phytochemical screening of phenoloids in Lysimachia species. *European Chemical Bulletin*. 2012;1(1–2):27–30.
5. Toth A., Toth G., Kery A. Polyphenol composition and antioxidant capacity of three *Lysimachia* species. *Natural Product Communications*. 2014;9:1473–1478. DOI: 10.1177/1934578X1400901017.
6. Toth A., Riethmuller E., Vegh K., Alberti A., Beni S., Kery A. Contribution of individual flavonoids in *Lysimachia* species to the antioxidant capacity based on HPLC-DPPH assay. *Natural Product Research*. 2018;32(17):2058–2061. DOI: 10.1080/14786419.2017.1359176.
7. Yang-Ju S., Jung D. S., Shin J. M., Kim M., Yoo G., Nho C. W. Yellow loosestrife (Lysimachia vulgaris var. davurica) ameliorates liver fibrosis in db/db mice with methionine- and choline-deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021;21(1):44. DOI: 10.1186/s12906-021-03212-6.
8. Kim S. Y., Lee J. Y., Jhin C., Shin J. M., Kim M., Ahn H. R., Yoo G., Son Y. J., Jung S. H., Nho C. W. Reduction of Hepatic Lipogenesis by Loliolide and Pinoresinol from *Lysimachia vulgaris* via Degrading Liver X Receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(45):12419–12427. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b01488.
9. Kim H.-Y., Kim C.-E., Oh D.-R., Kim Y., Choi C.-Y., Kim J. Development and Validation of a High-Performance Liquid Chromatography Method to Quantify Marker Compounds in *Lysimachia vulgaris* var. *davurica* and Its Effects in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Molecules*. 2024;29(7):1489. DOI: 10.3390/molecules29071489.
10. Nurcholis W., Sya'bani Putri D. N., Husnawati H., Aisyah S. I., Priosoeryanto B. P. Total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts from accessions of *Amomum compactum* fruits. *Annals of Agricultural Sciences*. 2021;66(1):58-62. DOI: 10.1016/j.aoas.2021.04.001.
11. Zeb A., Rahman F. Phenolic profile, total bioactive contents, and antioxidant activity of pear fruits. *Food Chemistry Advances*. 2024;5:100780. DOI: 10.1016/j.focha.2024.100780.
12. Maache S., Elghouizi A., Zbadi L., Soulo N., Nouioura G., Lyoussi B., Elarabi I. Characterization, antioxidant, and antimicrobial activity of two sage species' organic and aqueous extracts from Morocco's Middle Atlas. *Kuwait Journal of Science*. 2025;52(2):100382. DOI: 10.1016/j.kjs.2025.100382.
13. Imtiaz F., Ahmed D., Mohammed O. A., Younas U., Iqbal M. Optimized recovery of phenolic and flavonoid compounds from medicinal plant extracts for enhanced antioxidant activity: A mixture design approach. *Results in Chemistry*. 2025;13:101960. DOI: 10.1016/j.rechem.2024.101960.
14. de Almeida Soares L., Germano A. T., Vitali L., Mazzuti S., Lins de Aquino Santana L. C. Solid-state fermentation as a pre-treatment method for the extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) and jatobá peel (*Hymenaea courbaril* L.). *Food Bioscience*. 2025;63:105716. DOI: 10.1016/j.fbio.2024.105716.
15. Tseylikman V. E., Lukin A. A. On the effect of oxidative stress on the human body. *International Research Journal*. 2022;3(117):206–211. (In Russ.) DOI: 10.23670/IRJ.2022.117.3.037.
16. Anikin D. A., Solovyeva I. A., Demko I. V., Sobko E. A., Kraposhina A. Yu, Gordeeva N. V. Free-radical oxidation as a pathogenetic factor of metabolic syndrome. *Obesity and metabolism*. 2022;19(3):306–316. (In Russ.) DOI: 10.14341/omet12804.
17. Olefir Yu. V., Romanov B. K., Kukes V. G., Sychev D. A., Prokofiev A. B., Parfenova O. K., Sidorov N. G., Aleksandrova T. V. The role of oxidative stress in the pathogenesis of socially significant human diseases and ways of its drug correction. *Medical news of North Caucasus*. 2021;16(4):450–455. (In Russ.) DOI: 10.14300/mnnc.2021.16109.
18. Sokolova A. Y., Poluyanov A. M., Bardakov A. I., Sologova S. S., Bobkova N. V. Isolation, identification and quantification of flavonoids from the flowers of *Staphylea pinnata* L. *Drug development & registration*. 2024;13(2):155–163. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-2-1796.
19. Boyarshinov V. D., Zorina E. V. Development of quality control parameters for standardization of herb of the cultivated plant *Alchemilla mollis* (Buser) Rothm. *Drug development & registration*. 2022;11(4–1):85–90. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-85-90.
20. Kutateladze G. R., Fedoseeva L. M. Research in the development and validation of the method of quantitative determination of flavonoids in the Common Sorrel herba, gathered in the Altai territory. *Drug development & registration*. 2019;8(2):80–86. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-80-86.
21. Nicolescu A., Bunea C. I., Mocan A. Total flavonoid content revised: An overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. *Analytical Biochemistry*. 2025;700:115794. DOI: 10.1016/j.ab.2025.115794.
22. Xujiang Y., Cuimin H., Xianmei X., Zhike L., Yanfen C. Optimisation study on the flavonoid extraction process from Abrus precatorius leaves and the comparison of total flavonoid content by HPLC and UV. *Journal of Holistic Integrative Pharmacy*. 2023;4(2):119–126. DOI: 10.1016/j.jhip.2023.09.003.
23. Amjad M. S., Talaat A. A., Md Mizanur R., Yousef M. H. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*. 2021;150:111932. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111932.
24. Bin Mokaizh A. A., Hamid Nour A., Ali G. A. M., Ishmael Ukaegbu C., Faraj Hawege E. Eco-friendly and efficient extraction of phenolic compounds from Commiphora gileadensis bark using microwave-assisted extraction. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2025;142:321–328. DOI: 10.1016/j.jiec.2024.07.038.
25. Liu Y., Wang R., Hu X., Yu C., Wang Z., Zhang L., Liu S., Li C. Optimization of ultrasonic extraction of bioactive components from Alpiniae oxyphyllae Fructus using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2024;41:100557. DOI: 10.1016/j.jarmap.2024.100557.

26. Zulkifli M. Z. A., Benjamin M. A. Z., Mohd Rosdan M. D. E., Saini A., Rusdi N. A., Awang M. A. Optimisation of yield, flavonoids, and antioxidant activity via ultrasound-assisted extraction of bamboo leaves from Dinochloa sublaevigata S. Dransf. (Wadan) in Sabah, Malaysia. *Advances in Bamboo Science*. 2025;10:100128. DOI: 10.1016/j.bamboo.2025.100128.
27. Rocha G. J. R., Aguiar A. C., Abud C. O. G., Pertuzatti P. B., Sampaio K. A., Paula J. T. Pressurized liquid extraction as a green technique for bioactive compounds recovery from Momordica charantia leaves. *Applied Food Research*. 2025;5(1):100795. DOI: 10.1016/j.afres.2025.100795.
28. Al Hawat L., Alallan L. Estimation of antioxidant and hypolipidemic activities of extracts of *Citrus x aurantium* leaves *in vitro*. *Phytomedicine Plus*. 2025;5(1):100723. DOI: 10.1016/j.phyplu.2024.100723.
29. Kovaleva N. A., Trineeva O. V., Chuvikova I. V., Slivkin A. I. Development and validation of a procedure for quantitative determination of flavonoids in sea buckthorn leaves by spectrophotometry. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2):216–226. (In Russ.) DOI: 10.30895/1991-2919-2023-531.
30. Petrosyan H. R., Nigaryan A. A., Hovhannisyan H. A., Soloyan A. M., Vardapetyan V. V., Martiryan A. I. Evaluation of antioxidant activity and heavy metals content in licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) growing wild in Armenia. *Heliyon*. 2023;9(11):e22442. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e22442.
31. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2018. V. 4. (In Russ.)
32. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XV edition. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2023. V. 2. (In Russ.)
33. Kryukova S. A. Study of the content of flavonoids in the leavs of the redhean region, growing in the territory of Astrakhan region. *Innovative scientific research*. 2021;6–3(8):7–12. (In Russ.) DOI: 10.5281/zenodo.5529051.
34. Benedec D., Hanganu D., Olah. N. K., Mocan A., Vlase L., Raita O., Toma C. C. Comparative Polyphenolic Content and Antioxidant Activities of Two Romanian *Lysimachia* Species. *Revista de Chimie*. 2016;67(2):227–231.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.074

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2170

Check for updates

CC BY 4.0

Разработка и валидация ВЭЖХ-методики количественного определения кумарина в бобах тонка

В. С. Шуракова✉, Е. С. Сурбеева, С. В. Стрелков, И. И. Тернинко

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

✉ **Контактное лицо:** Шуракова Валерия Сергеевна. **E-mail:** valeriya.shurakova@spcpu.ru

ORCID: В. С. Шуракова – https://orcid.org/0009-0001-9938-1549;
Е. С. Сурбеева – https://orcid.org/0000-0002-7005-2477;
С. В. Стрелков – https://orcid.org/0000-0002-7977-1080;
И. И. Тернинко – https://orcid.org/0000-0002-2942-1015.

Статья поступила: 26.08.2025 **Статья принята в печать:** 28.10.2025 **Статья опубликована:** 31.10.2025

Резюме

Введение. Бобы тонка (семена *Dipteryx odorata*, семейство *Fabaceae*) – ценный источник кумарина, применяемого в пищевой, парфюмерной и косметической промышленности благодаря насыщенному аромату. Несмотря на фармакологическую ценность (антикоагулянтная, антиоксидантная активность), кумарин обладает доказанной гепато- и гематотоксичностью, что ограничивает его использование в ряде стран. Несмотря на контроль синтетического кумарина в ароматизаторах, природный аналог из бобов тонка не имеет четких нормативов, хотя обладает идентичной активностью. Рост спроса на натуральные продукты повысил популярность бобов тонка, однако недостаток научных данных об их безопасности и методах анализа затрудняет контроль качества. Разработка валидированных методик анализа с использованием метода ВЭЖХ – актуальная задача для обеспечения безопасности его применения в промышленности.

Цель. Разработка ВЭЖХ-методики количественного определения кумарина в бобах тонка и ее валидация с дальнейшей апробацией на нескольких партиях исследуемого объекта.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования были использованы пять партий бобов тонка различных стран-производителей. Условия хроматографирования: колонка Luna C18(100) Å LC Column, 250 × 4,6 мм, 5 мкм, температура термостата – 40 °C, длина волны детекции – 275 нм, ПФ А – ацетонитрил, ПФ Б – вода. Режим элюирования: изократика (ПФ Б – 50 %) в течение 12 мин.

Результаты и обсуждение. Разработанная методика валидна по показателям пригодности хроматографической системы, специфичности, линейности (диапазон 0,001–0,1 мг/мл) и прецизионности. Ее преимущества – экспрессность и экономичность, что упрощает контроль качества сырья. Количественное содержание кумарина в исследуемых объектах варьируется в диапазоне от 1,25 ± 0,07 % до 4,29 ± 0,12 %, что коррелирует с данными зарубежных исследователей.

Заключение. Разработана и валидирована ВЭЖХ-методика для количественного определения кумарина в бобах тонка. Разработанная методика может быть использована для стандартизации и рутинного анализа этого перспективного сырья в различных отраслях промышленности, обеспечивая необходимый уровень безопасности при его применении.

Ключевые слова: кумарин, бобы тонка, ВЭЖХ-методика, валидация, количественное определение

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

Вклад авторов. В. С. Шуракова – литературный поиск, планирование и выполнение экспериментальной работы, получение и обработка данных, формулирование выводов и написание статьи. Е. С. Сурбеева – выполнение экспериментальной работы, получение и обработка данных. С. В. Стрелков – редактирование рукописи. И. И. Тернинко – идея и планирование дизайна эксперимента, редактирование рукописи.

Финансирование. Анализ выполнен на базе центра коллективного пользования (ЦКП) «Аналитический центр» ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

© Шуракова В. С., Сурбеева Е. С., Стрелков С. В., Тернинко И. И., 2025
© Shurakova V. S., Surbeeva E. S., Strelkov S. V., Terninko I. I., 2025

Для цитирования: Шуракова В. С., Сурбеева Е. С., Стрелков С. В., Тернинко И. И. Разработка и валидация ВЭЖХ-методики количественного определения кумарина в бобах тонка. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):164–173. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2170

Development and validation of a HPLC-method for the quantitative determination of coumarin in tonka beans

Valeriya S. Shurakova✉, Elizaveta S. Surbeeva, Stanislav V. Strelkov, Inna I. Terninko

Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Valeriya S. Shurakova. **E-mail:** valeriya.shurakova@spcpu.ru

ORCID: Valeriya S. Shurakova – https://orcid.org/0009-0001-9938-1549;
Elizaveta S. Surbeeva – https://orcid.org/0000-0002-7005-2477;
Stanislav V. Strelkov – https://orcid.org/0000-0002-7977-1080;
Inna I. Terninko – https://orcid.org/0000-0002-2942-1015.

Received: 26.08.2025 **Accepted:** 28.10.2025 **Published:** 31.10.2025

Abstract

Introduction. The tonka beans (seeds of *Dipteryx odorata*, family *Fabaceae*) is a valuable source of coumarin used in the food, perfume and cosmetic industries thanks to its rich aroma. Despite its pharmacological value (anticoagulant, antioxidant activity), coumarin has a proven hepatotoxicity and haematotoxicity, which limits its use in a number of countries. Despite the control of synthetic coumarin in aromatics, the natural analog of tunica beans does not have clear rules, although it has identical activity. Growing demand for organic products has increased the popularity of tonka beans, but lack of scientific data on their safety and methods of analysis makes quality control difficult. The development of validated techniques, such as HVACR, is an urgent task to ensure the safety of its application in industry.

Aim. Development of a HPLC-method for the quantitative determination of coumarin in beans and its validation with further testing on several batches of the studied object.

Materials and methods. Five batches of Tonka beans from different producing countries were purchased as research objects, for sample preparation was used US-bath. Chromatography conditions: Luna 5 μm C18(100) Å LC Column 250 × 4.6 mm, thermostat temperature – 40 °C, detection wavelength – 275 nm. Mobile phase A – acetonitrile, mobile phase B – water. Elution mode: isocratic mobile phase B – 50 % for 12 minutes.

Results and discussion. The method meets the criteria of suitability of the chromatographic system, specificity, linearity (range 0.001–0.1 mg/ml) and precision. Its advantages are expressiveness and economy, which simplifies the quality control of raw materials. The quantitative content of coumarin in the studied object ranges from 1.25 ± 0.07 % to 4.29 ± 0.12 %.

Conclusion. Developed and validated by HPLC-methodology for the quantitative determination of coumarin in tonka beans. The developed methodology can be used to standardize this promising raw material in various industries, ensuring the necessary level of safety in its application.

Keywords: coumarin, beans thin, HPLC-method, validation, quantitative determination

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. Valeriya S. Shurakova – literature search, planning and execution of experimental work, data collection and processing, formulation of conclusions and writing of the article. Elizaveta S. Surbeeva – execution of experimental work, data collection and processing. Stanislav V. Strelkov – editing of manuscripts. Inna I. Terninko – the idea and planning of the design of the experiment, editing of manuscripts.

Funding. The analysis was carried out on the basis of the Collective Use Center (CUC) "Analytical Center" of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education (SPCPU) of the Ministry of Health of Russia.

For citation: Shurakova V. S., Surbeeva E. S., Strelkov S. V., Terninko I. I. Development and validation of a HPLC-method for the quantitative determination of coumarin in tonka beans. *Drug development & registration*. 2025;14(4):164–173. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2170

ВВЕДЕНИЕ

Бобы тонка – семена тропического дерева *Dipteryx odorata* семейства бобовых (*Fabaceae*), ареал произрастания которого ограничен Южной Америкой, преимущественно территорией Бразилии и Венесуэлы [1]. Бобы известны своим уникальным ароматом, что обуславливает их широкую популярность в пищевой промышленности, парфюмерии и косметике в качестве натурального усилителя вкуса и аромата [2].

Специфический аромат бобов тонка обусловлен накоплением значительного количества кумарина (2–4,3 % в сырье, до 20,9 % в экстрактах в зависимости от метода извлечения [1, 3, 4]), который, с одной стороны, проявляет таргетную фармакологическую активность – антикоагулянтную [5], противовоспалительную [6], антиоксидантную [7], что находит применение в фармакотерапии отдельных патологий («Варфарин», таблетки 2,5 мг, ООО «ОЗОН»; «Аммифурин», таблетки 20 мг и раствор для наружного применения 0,3 % – флаконы по 25, 50 и 100 мл, АО «Фармцентр ВИЛАР»[1]), а с другой – характеризуется доказанным профилем токсичности в отношении системы кроветворения и печени [8, 9], что ограничивает его неконтролируемое использование в качестве ароматизатора законодательством ряда стран [10, 11]. ГОСТ 32049-2013 «Ароматизаторы пищевые. Общие технические условия»[2] регламентирует контроль кумарина в качестве синтетической пищевой добавки, однако контроль содержания природного соединения в растительных пищевых продуктах не урегулирован в нормативно-правовом поле.

В последние годы растет запрос потребителей на натуральность. Так, в 2023 году сегмент косметики для ухода за кожей показал рост на 15 %, достигнув объема в 380 миллиардов рублей, в свою очередь, доля экокосметики составила около 20 %, что на 5 % больше, чем годом ранее [12]. К товарам с натуральным составом относятся с большим доверием. Исследование Центра макроэкономического анализа и регионального прогнозирования Россельхозбанка показало, что в первом квартале 2024 года спрос на косметику из натуральных компонентов вырос на 47 % по сравнению с аналогичным периодом 2023 года [13]. Поэтому использование натуральных и безопасных ароматизаторов и добавок стало более востребованным не только в косметической, но и в других отраслях промышленности (ликеро-водочной, пищевой).

Бобы тонка набирают популярность среди потребителей, однако в отечественной научной литературе наблюдается дефицит публикаций по анализу и оценке безопасности использования данной добавки в различных продуктах.

Недостаток научного материала о содержании кумаринов в бобах тонка ограничивает возможности контроля их качества и безопасности на рынке пищевых, косметических и парфюмерных товаров. Следовательно, детальное изучение этого направления представляется важным элементом обеспечения безопасности и качества натуральных ароматизаторов.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – один из наиболее эффективных методов анализа кумаринов, обеспечивающий высокую точность и селективность, что особенно важно при работе с продуктами, содержащими сложные природные матрицы и компоненты [14]. В литературе есть данные по определению количественного содержания кумарина в бобах тонка методом ВЭЖХ [1, 3, 4]. В представленных методиках используются преимущественно градиентные условия элюирования и растворы кислот в качестве подвижных фаз, кроме того аналитические условия отличаются длительным временем записи хроматограмм.

Исходя из вышесказанного, **целью данной работы** является разработка ВЭЖХ-методики количественного определения кумарина в бобах тонка и ее последующая валидация с дальнейшей апробацией на нескольких партиях исследуемого объекта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования были использованы 5 партий бобов тонка, которые приобретали на маркетплейсах в онлайн-маркете у нескольких поставщиков. Обобщенная информация по приобретенным образцам представлена в таблице 1. Ботаническую идентификацию проводили по комплексу морфологических признаков с использованием специалистов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН.

Для количественного определения производных кумарина использовали метод ВЭЖХ. Испытания проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XV, ОФС.1.2.1.2.0005 «Высокоэффективная жидкостная хроматография»[3]. Исследование проводили с использованием системы высокоэффективного жидкостного хроматографа LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с диодно-матричным детектором на колонке Luna C18(2) 100 Å, 250 × 4,6 мм, 5 мкм. Рабочая длина волны – 275 нм.

Испытуемый раствор (ИР): 0,3 г бобов тонка (т.н.) помещали в колбу, добавляли 50 мл метанола и помещали в УЗ-баню (ООО «Сапфир», Россия). Экстракцию проводили при температуре 50 °С в течение 60 мин. Условия были подобраны в ходе разработки оптимальной пробоподготовки на индикаторном объекте [15]. После завершения экстракции полученный раствор фильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем до метки метанолом. 1,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили до метки растворителем пробы (РП – 1 : 1 ацетонитрил – вода).

[1] Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx. Ссылка активна на 21.07.2025.

[2] ГОСТ 32049-2013. Ароматизаторы пищевые. Общие технические условия. Доступно по: https://gostassistent.ru/doc/66589bfb-ad5d-4395-b71c-63e411e20438. Ссылка активна на 07.06.2024.

[3] Государственная фармакопея РФ XV, ОФС.1.2.1.2.0005 «Высокоэффективная жидкостная хроматография». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-2-khromatograficheskie-metody-analiza/vysokoeffektivnaya-zhidkostnaya-khromatografiya/ Ссылка активна на 07.06.2024.

Таблица 1. Объекты исследования

Table 1. Objects of research

Поставщик Provider	Страна-производитель Producing country	Наименование продукта Product name	Дата производства Production date	Присвоенный номер образца Claim number
Vanilla Lab	Венесуэла Venezuela	Бобы тонка целые, специи, 10 г Whole tonka beans, spices, 10 g	05.2024	0524
Kingsvanilla	Бразилия Brazil	Молотые бобы тонка, 10 г Ground tonka beans, 10 g	02.2025	0225
Kingsvanilla	Венесуэла Venezuela	Бобы тонка, натуральный ароматизатор для выпечки, 10 г Tonka Beans, Natural Baking Flavor, 10 g	04.2025	0425
TopVanille	Франция France	Бобы тонка Premium, 10 г Premium Tonka Beans, 10 g	05.2025	0525
Punto di Gusto	Франция France	Бобы тонка, ароматизатор пищевой натуральный кондитерский для выпечки десертов, 25 г Tonka beans, natural food flavoring for baking desserts, 25 g	07.2025	0725

Раствор стандартного образца (СО): для анализа использовался СО кумарина (TRC Canada, $P = 99$ %, валидный на дату проведения испытаний). Около 10 мг кумарина (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки метанолом (раствор А – концентрация 0,2 мг/мл). Далее готовили серию стандартных растворов с различными концентрациями (таблица 2).

Таблица 2. Схема приготовления стандартных растворов для проведения разработки методики

Table 2. Scheme of preparation of standard solutions for the development of methodology

Объем аликвоты (наименование раствора) Aliquot volume (name of solution)	Объем мерной колбы Measuring flask volume	Концентрация полученного раствора (наименование раствора) Concentration of the resulting solution (name of the solution)
5,0 мл раствора А 5.0 ml of solution A	10 мл 10 ml	0,1 мг/мл (раствор Б) 0.1 mg/ml (solution B)
5,0 мл раствора Б 5.0 ml of solution B	10 мл 10 ml	0,05 мг/мл (раствор В) 0,05 mg/ml (solution C)
1,0 мл раствора Б 1.0 ml of solution B	10 мл 10 ml	0,01 мг/мл (раствор Г) 0,01 mg/ml (solution D)
1,0 мл раствора В 1.0 ml of solution C	10 мл 10 ml	0,005 мг/мл (раствор Д) 0,005 mg/ml (solution E)
1,0 мл раствора Г 1.0 ml of solution D	10 мл 10 ml	0,001 мг/мл (раствор Е) 0,001 mg/ml (solution F)

Растворы Б, В, Г, Д, Е использовали для оценки параметра «линейность» при валидации методики как ключевого показателя возможности применения методики на практике [16]. Раствор Г использовали для проверки пригодности хроматографической системы и расчета количественного содержания кумарина в образце для оценки параметра «прецизионность».

Условия хроматографирования: объем пробы – 20 мкл. Скорость потока подвижной фазы – 1 мл/мин, температура термостата колонки – 40 °С. Детектор диодно-матричный, длина волны детекции – 275 нм. В качестве подвижной фазы (ПФ) использовали ацетонитрил (элюент А) и воду для хроматографии (элюент Б). Режим элюирования изократичный при ПФ Б 50 % в течение 12 мин, так как это время оптимально для выхода исследуемого вещества. Инжектировали растворы СО по 5 раз для проверки пригодности хроматографической системы, для специфичности, для прецизионности (для каждого параметра), ИР – 5 раз для специфичности, 6 раз для прецизионности; растворитель пробы инжектировали 3 раза.

Содержание кумарина в бобах тонка (%) определяли по формуле:

$$X(\%) = \frac{S_x \cdot a_o \cdot P \cdot 50 \cdot 10 \cdot 5 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{S_o \cdot a \cdot 1 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 10 \cdot 100 \cdot (100 - W)} = \frac{S_x \cdot a_o \cdot P \cdot 50}{S_o \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где S_x – площадь пика кумарина в испытуемом растворе; a_o – масса навески СО кумарина, мг; S_o – площадь пика кумарина в растворе СО; a – масса навески сырья, мг; P – содержание кумарина в СО, %; W – влажность сырья, %.

Для подтверждения достоверности предложенной методики проводили ее валидацию в соответствии с ГФ РФ XV, ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик»[1], по следующим параметрам: про-

[1] Государственная фармакопея РФ. ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiya-analiticheskikh-metodik/ Ссылка активна на 07.06.2024.

верке пригодности хроматографической системы (ППХС) (в соответствии с ГФ РФ, ОФС.1.2.1.2.0001 «Хроматография»[1]), специфичности, линейности, правильности, сходимости (доверительный интервал правильности отдельного определения), аналитической области.

Расчет основных статистических характеристик проводили, руководствуясь указаниями ГФ РФ, ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний»[2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ППХС: результаты оценки пригодности системы представлены в таблице 3. Хроматограмма раствора СО кумарина представлена на рисунке 1.

Таблица 3. Результаты хроматографирования раствора СО кумарина

Table 3. Results of chromatography coumarin's reference solution

Наименование раствора Name of solution	t_R	S	N	As
СО кумарина – 1 Standard sample of coumarin – 1	5,48	878823	15945	1,14
СО кумарина – 2 Standard sample of coumarin – 2	5,46	889654	16428	1,14
СО кумарина – 3 Standard sample of coumarin – 3	5,45	882425	16120	1,14
СО кумарина – 4 Standard sample of coumarin – 4	5,41	899730	16484	1,14
СО кумарина – 5 Standard sample of coumarin – 5	5,42	917694	16299	1,14
Среднее значение Average value	5,44	893665	16255	1,14
Стандартное отклонение Standard Deviation	0,026	13,98		
RSD, %	0,47	1,56		

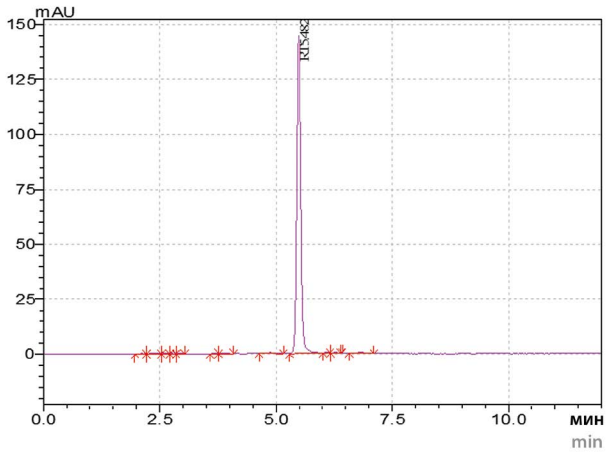


Рисунок 1. Хроматограмма раствора СО кумарина

Figure 1. Chromatogram of reference solution coumarin

Как видно из данных таблицы, хроматографическая система является пригодной: эффективность хроматографической колонки (N) – не менее 5000 теоретических тарелок; факторы асимметрии (As) пиков СО – не менее 0,8 и не более 1,5; относительное стандартное отклонение значений времен удерживания и площадей пиков СО кумаринов – не более 2 % ($n \geq 5$).

Специфичность методики подтверждали с целью определения точности и селективности измерений кумарина в присутствии сопутствующих компонентов растительной матрицы.

Значения времен удерживания кумарина в испытуемом и стандартном растворе представлены в таблице 4. Рисунки УФ-спектров пиков кумарина в испытуемом и стандартном растворах представлены на рисунке 2. Хроматограмма растворителя представлена на рисунке 3.

Таблица 4. Времена удерживания пика кумарина в растворе стандартного и испытуемого образца

Table 4. Coumarin peak retention times in solution of standard and test sample

№ раствора Number of solution	t_R	
	раствор стандартного образца standard sample solution	раствор испытуемого образца test sample solution
1	5,48	5,44
2	5,46	5,44
3	5,45	5,45
4	5,41	5,44
5	5,42	5,44
$\bar{X}$	5,44	5,44
SD	0,026	0,040
RSD, %	0,47	0,07

[1] Государственная фармакопея РФ. ОФС.1.2.1.2.0001 «Хроматография». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-2-khromatograficheskie-metody-analiza/khromatografiya/ Ссылка активна на 07.06.2024.

[2] Государственная фармакопея РФ. ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/statisticheskaya-obrabotka-rezultatov-fizicheskikh-fiziko-khimicheskikh-i-khimicheskikh-ispytaniy/ Ссылка активна на 07.06.2024.

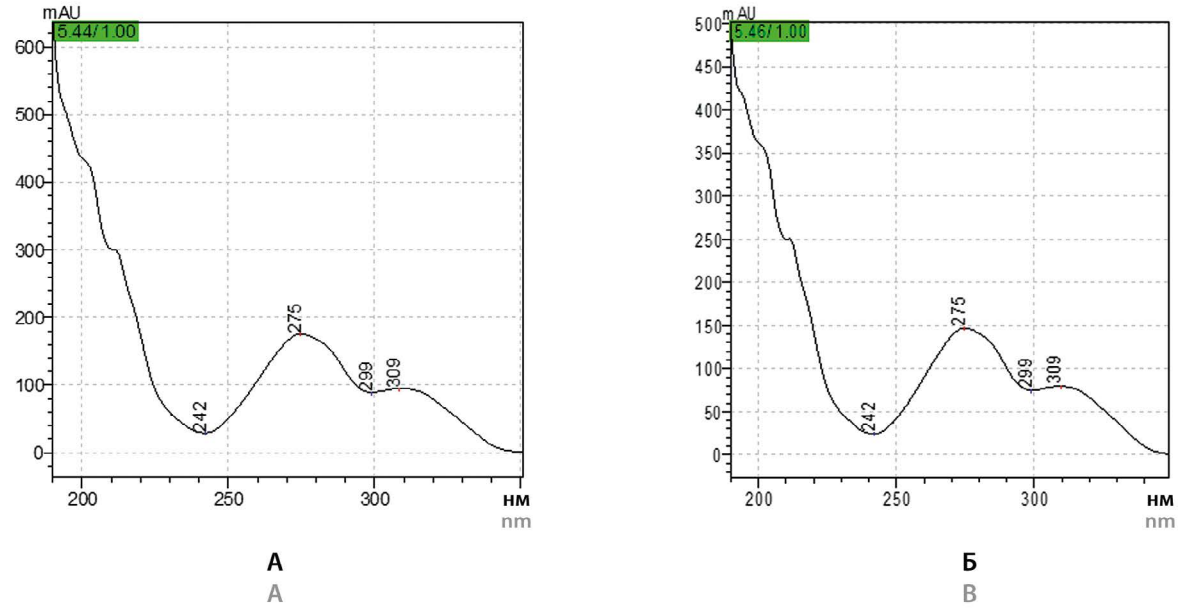


Рисунок 2. **УФ-спектры пика кумарина в растворе СО (а) и в испытуемом растворе (б)**

Figure 2. **UV spectrum of coumarins peaks in reference solution (a) and in the test solution (b)**

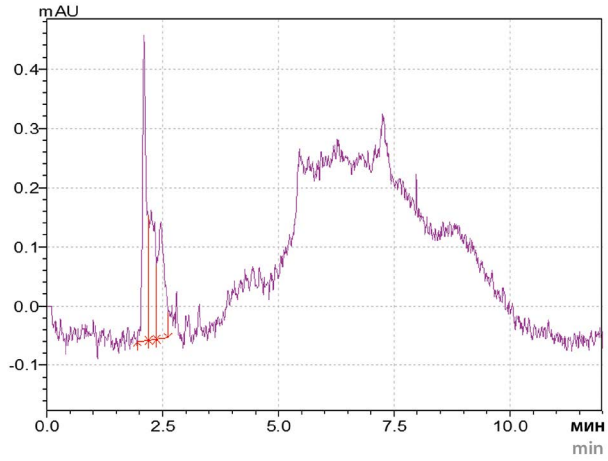


Рисунок 3. **Хроматограмма растворителя пробы**

Figure 3. **Sample solvent chromatogram**

Как видно из иллюстрационных данных, времена удерживания кумарина в испытуемых и стандартном растворах статистически достоверно совпадают. УФ-спектры пика кумарина в испытуемых и стандартных растворах имеют аналогичные максимум и минимум поглощения (275 и 242 нм соответственно). На хроматограмме растворителя пробы отсутствуют пики с временем удерживания кумарина. RSD времен удерживания пиков кумарина в стандартном и в испытуемом растворах составляет 0,47 и 0,074 % соответственно, что менее 2 %. Следовательно, методика специфична.

Линейность: результаты оценки линейности представлены на рисунке 4 и в таблице 5.

Высокий коэффициент детерминации ($R^2 = 0{,}9957$) и коэффициент корреляции ($r = 0{,}9978$) подтверждают линейную зависимость между концентрацией растворов и площадью пиков, однако значительные стандартные отклонения и погрешности указывают на высокую неопределенность оценок параметров. Следовательно, аналитическая методика линейна, но применима только в исследуемом диапазоне концентраций.

Правильность: для исследования правильности готовили испытуемые растворы, содержащие 80, 100 и 120 % от концентрации кумарина, установленной в анализируемом объекте – бобах тонка – в качестве номинальной (2,38 %). Для приготовления 80 и 120 % растворов брали аликвоты 0,8 и 1,2 исходного раствора испытуемого образца соответственно. Результаты оценки правильности представлены в таблице 6.

Таблица 5. **Результаты оценки линейности**

Table 5. **Results of linearity assessment**

f	*a*	*b*	*Sa*	*Sb*	*t*(*P*, *f*)	Δ*a*	Δ*b*	*r*
3	347229	187722271	364691	$7{,}12 \cdot 10^6$	3,18	1159717	$2{,}26 \cdot 10^7$	0,9978

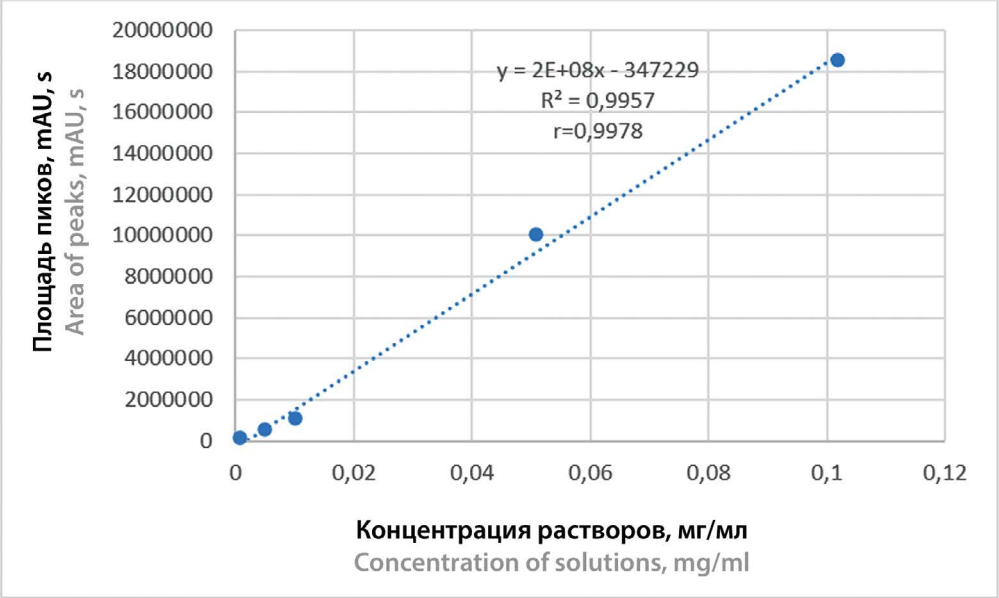


Рисунок 4. **График зависимости площади пика от концентрации кумарина в нормализованных координатах**

Figure 4. **Graph of the dependence of the peak area on the concentration of coumarin in normalized coordinates**

Таблица 6. **Результаты оценки правильности**

Table 6. **Correctness assessment results**

Введенное значение, % Entered value, %	**Измеренное значение, %** Measured value, %	**Z (открываемость)** Z (openability)	$\lvert Z - Z_{ср.} \rvert$ $\lvert Z - Z_{avg} \rvert$
1,90	1,87	98,42	1,25
1,90	1,93	101,58	1,91
1,90	1,88	98,95	0,72
2,38	2,34	98,32	1,35
2,38	2,41	101,26	1,59
2,38	2,37	99,58	0,09
2,86	2,81	98,25	1,42
2,86	2,91	101,75	2,08
2,86	2,83	98,95	0,72
$Z_{ср.}$ Z_{avg}		99,67	
Доверительный интервал Confidence interval		2,24	
RSD, %		1,46	
$\lvert 100 - Z_{ср.} \rvert$ $\lvert 100 - Z_{avg} \rvert$		0,33	

Как видно из данных таблицы, значения открываемости находятся в диапазоне от 98 до 102 %, полученные значения находятся внутри доверительного интервала, RSD менее 2,0 %, что говорит об отсутствии систематической ошибки методики.

Прецизионность оценивали на двух уровнях – сходимость и внутрилабораторная презиционность. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7. **Результаты оценки сходимости и внутрилабораторной прецизионности**

Table 7. **Results of the assessment of convergence and intra-sampling precision**

Измерение Measurement	**Значения химика 1, %** Chemist 1 values, %	**Значения химика 2, %** Chemist 2 values, %
1	2,24	2,22
2	2,51	2,52
3	2,31	2,33
4	2,44	2,40
5	2,46	2,45
6	2,32	2,30
$\bar{X}$	2,38	2,37
SD	0,11	0,10
RSD, %	4,4	4,6
$F_x < F_{tabl}$ (5,05)	1,34	
$T_x < t_{tabl}$ (2,23)	0,15	

Как видно из данных таблицы, RSD измерений химиков составило 4,4 и 4,6 %. Исходя из того, что в ходе проверки пригодности хроматографической системы значение RSD площади пика СО кумарина составило менее 2,0 %, повышенный RSD измерений может быть обусловлен природой объекта и сложностью растительной матрицы. Выборки сходимы, и их средние значения статистически достоверно не отличаются друг от друга. Накопление действующих веществ в растительных объектах неоднородно и может отличаться, что, вероятно, приводит к увеличению погрешности измерений. В связи с этим порог RSD измерений методики был установлен на уровне 5,0 %. Значение критерия Фишера по результатам измерений двух химиков составило 1,34 (что менее табличного значения 5,05), а критерия Стьюдента – 0,15 (табличное значение 2,23).

Аналитическая область: диапазон концентраций кумарина, в пределах которого методика обеспечивает требуемую линейность, правильность и прецизионность, составляет от 0,001 мг/мл до 0,1 мг/мл. Это следует из соответствия показателей «линейность», «правильность» и «прецизионность» предписанным требованиям в пределах данных концентраций.

Для апробации предложенной аналитической методики было определено содержание кумарина в 5 различных партиях бобов тонка. Хроматограмма испытуемого извлечения (репрезентативная) из бобов тонка представлена на рисунке 5. Результаты определения количественного содержания кумарина в различных партиях приведены в таблице 8.

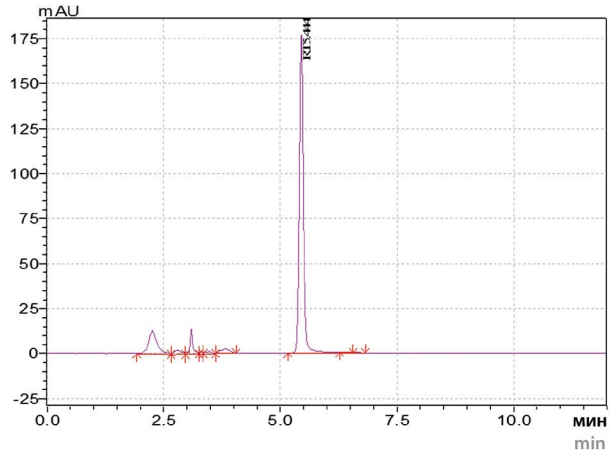


Рисунок 5. Хроматограмма испытуемого образца бобов тонка

Figure 5. Chromatogram of test sample of tonka beans

В ходе анализа было установлено, что содержание кумарина в изученных образцах составляет от 1,25 ± 0,07 % до 4,29 ± 0,12 %, что коррелирует с зарубежными исследованиями [1, 3, 4, 17], в которых отмечается, что уровень кумарина в исследуемых объектах находится в диапазоне от 2 до 4,3 %. При этом необходимо отметить, что не прослеживается зависимость между странами происхождения и партией сырья, номер которой, видимо, указывает на срок заготовки. Но при этом можно констатировать, что наименьшее содержание кумарина наблюдается в образце венесуэльского происхождения, однако для формулирования однозначного вывода о зависимости накопления кумарина от страны происхождения необходимо увеличить выборку сырья из данного региона.

Таблица 8. Результаты определения количественного содержания кумарина

Table 8. Results of quantitation of coumarin

Номер образца бобов тонка Tonka beans sample number	Количественное содержание кумарина, % Quantity of coumarin, %
0524	2,38 ± 0,11
0225	1,25 ± 0,07
0425	2,95 ± 0,07
0525	4,29 ± 0,12
0725	3,01 ± 0,11

Предложенная методика показала воспроизводимость и способность давать достоверные результаты. Преимуществами методики являются ее экспрессность и ресурсосберегаемость, что позволит установить предел нормирования содержания кумарина в исходном сырье и проводить направленную оценку качества для обеспечения безопасности как сырья, так и продуктов на его основе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка стандартизированных методик количественного определения кумарина в бобах тонка крайне актуальна в связи с их широким применением в пищевой, парфюмерной и косметической промышленности, отсутствием нормативного регулирования для потенциально токсичного соединения растительного происхождения и растущим спросом на натуральные продукты.

Была разработана и валидирована методика количественного определения кумарина в бобах тонка. Предложенная методика основывается на методе ВЭЖХ и отличается экспрессностью (время записи хроматограммы – 12 мин), доступностью реагентов и быстротой пробоподготовки, что дает возможность использовать ее в рутинном анализе.

По результатам валидационных испытаний можно сделать вывод, что методика специфична, так как RSD времени удерживания пика кумарина для испы-

туемого и стандартного образцов менее 2,0 %, что говорит о стабильности хроматографического пика и подтверждает отсутствие матричного влияния и селективность метода. Коэффициент корреляции (r > 0,99) свидетельствует о линейной зависимости в рабочем диапазоне концентраций, что доказывает пригодность методики для количественного анализа. Значение RSD 4,4 % при оценке сходимости методики указывает на приемлемую повторяемость ввиду природы исследуемого объекта, что является допустимым значением. Значение RSD 1,5 % при оценке правильности указывает на высокую точность методики, а внутрилабораторная прецизионность подтверждает, что методика воспроизводима.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cuchet A., Jame P., Anchisi A., Schiets F., Carénini E., Casabianca H. Authentication of Tonka beans extracts (*Dipteryx odorata*) using LC-UV/MS, GC-MS and multi element (^{13}C, ^{2}H and ^{18}O) bulk specific isotope analysis. *Industrial Crops and Products*. 2024;209:118038. DOI: 10.1016/j.indcrop.2024.118038.
2. Heghes S. C., Vostinaru O., Mogosan C., Iuga C. A., Filip L. Safety profile of nutraceuticals rich in coumarins: An update. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:803338. DOI: 10.3389/fphar.2022.803338.
3. Toma A. C., Stegmüller S., Richling E. Coumarin contents of tonka (*Dipteryx odorata*) products. *European Food Research and Technology*. 2025;251(4):513–517. DOI: 10.1007/s00217-024-04570-2.
4. Doctor N., Parker G., Vang K., Smith M., Kayan B., Yang Y. Stability and Extraction of Vanillin and Coumarin under Subcritical Water Conditions. *Molecules*. 2020;25(5):1061. DOI: 10.3390/molecules25051061.
5. Gao L., Wang F., Chen Y., Li F., Han B., Liu D. The antithrombotic activity of natural and synthetic coumarins. *Fitoterapia*. 2021;154:104947. DOI: 10.1016/j.fitote.2021.104947.
6. Thakur A., Singla R., Jaitak V. Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;101:476–495. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.010.
7. Todorov L., Saso L., Kostova I. Antioxidant activity of coumarins and their metal complexes. *Pharmaceuticals*. 2023;16(5):651. DOI: 10.3390/ph16050651.
8. Guo P. J., Zhao Y. N., Li J., Liu S. H., Wang Y. L., Wang C. Y. Toxicological research and safety consideration of coumarins. *Zhongguo Zhong yao za zhi = China Journal of Chinese Materia Medica*. 2020;45(3):518–522. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20191014.401.
9. Sharifi-Rad J., Cruz-Martins N., López-Jornet P., Pons-Fuster López E., Harun N., Yeskaliyeva B., Beyatli A., Sytar O., Shaheen S., Sharopov F., Taheri Y., Docea A. O., Calina D., Cho W. C. Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:6492346. DOI: 10.1155/2021/6492346.
10. Zughaib M. Do cinnamon supplements cause acute hepatitis? *American Journal of Case Reports*. 2015;16:250–254. DOI: 10.12659/AJCR.892804.
11. Aspatwar A., Berrino E., Bua S., Carta F., Capasso C., Parkkila S., Supuran C. T. Toxicity evaluation of sulfamides and coumarins that efficiently inhibit human carbonic anhydrases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2020;35(1):1765–1772. DOI: 10.1080/14756366.2020.1822829.
12. Хацаюк А. С., Павлова О. Е., Эхова М. Э. Роль и значение высокоэффективной жидкостной хроматографии в практике высокотехнологичных лабораторных исследований. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2016;3(66):215–219. DOI: 10.18411/hmes.d-2016-146.
13. Шуракова В. С., Сурбеева Е. С. Разработка способа пробоподготовки растительного сырья, содержащего кумарины, для хроматографического анализа. В сб.: XIV Всероссийская научная конференция с международным участием Молодежного научного общества СПХФУ «Молодая фармация – потенциал будущего». 28 марта – 02 апреля 2024. Санкт-Петербург. СПб.: Изд-во СПХФУ; 2024. С. 675–678.
14. Эпштейн Н. А. Валидация аналитических методик: графические и расчетные критерии для оценки линейности методик на практике. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(2):122–130. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-122-130.
15. Lima J. C., Traczynski M., Giufrida W. M., Feihrmann A. C., Freitas L. S., Cardozo-Filho L. Modifier-Enhanced Supercritical CO2 Extraction with GRAS Solvents of Coumarin from Cumaru Seeds (*Dipteryx odorata*). *Chemical Engineering Transactions*. 2017;57:301–308. DOI: 10.3303/CET1757301.

REFERENCES

1. Cuchet A., Jame P., Anchisi A., Schiets F., Carénini E., Casabianca H. Authentication of Tonka beans extracts (*Dipteryx odorata*) using LC-UV/MS, GC-MS and multi element (^{13}C, ^{2}H and ^{18}O) bulk specific isotope analysis. *Industrial Crops and Products*. 2024;209:118038. DOI: 10.1016/j.indcrop.2024.118038.
2. Heghes S. C., Vostinaru O., Mogosan C., Iuga C. A., Filip L. Safety profile of nutraceuticals rich in coumarins: An update. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:803338. DOI: 10.3389/fphar.2022.803338.
3. Toma A. C., Stegmüller S., Richling E. Coumarin contents of tonka (*Dipteryx odorata*) products. *European Food Research and Technology*. 2025;251(4):513–517. DOI: 10.1007/s00217-024-04570-2.
4. Doctor N., Parker G., Vang K., Smith M., Kayan B., Yang Y. Stability and Extraction of Vanillin and Coumarin under Subcritical Water Conditions. *Molecules*. 2020;25(5):1061. DOI: 10.3390/molecules25051061.
5. Gao L., Wang F., Chen Y., Li F., Han B., Liu D. The antithrombotic activity of natural and synthetic coumarins. *Fitoterapia*. 2021;154:104947. DOI: 10.1016/j.fitote.2021.104947.
6. Thakur A., Singla R., Jaitak V. Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;101:476–495. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.010.
7. Todorov L., Saso L., Kostova I. Antioxidant activity of coumarins and their metal complexes. *Pharmaceuticals*. 2023;16(5):651. DOI: 10.3390/ph16050651.
8. Guo P. J., Zhao Y. N., Li J., Liu S. H., Wang Y. L., Wang C. Y. Toxicological research and safety consideration of

coumarins. *Zhongguo Zhong yao za zhi = China Journal of Chinese Materia Medica*. 2020;45(3):518–522. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20191014.401.

9. Sharifi-Rad J., Cruz-Martins N., López-Jornet P., Pons-Fuster López E., Harun N., Yeskaliyeva B., Beyatli A., Sytar O., Shaheen S., Sharopov F., Taheri Y., Docea A. O., Calina D., Cho W. C. Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:6492346. DOI: 10.1155/2021/6492346.
10. Zughaib M. Do cinnamon supplements cause acute hepatitis? *American Journal of Case Reports*. 2015;16:250–254. DOI: 10.12659/AJCR.892804.
11. Aspatwar A., Berrino E., Bua S., Carta F., Capasso C., Parkkila S., Supuran C. T. Toxicity evaluation of sulfamides and coumarins that efficiently inhibit human carbonic anhydrases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2020;35(1):1765–1772. DOI: 10.1080/14756366.2020.1822829.
12. Hatsayuk A. S., Pavlova O. E., Ekhova M. E. Role and importance of high performance liquid chromatography in the practice of high-tech laboratory. *Health. Medical Ecology. Science*. 2016;3(66):215–219. (In Russ.) DOI: 10.18411/hmes.d-2016-146.
13. Shurakova V. S., Surbeeva E. S. Development of a sample preparation method for plant materials containing coumarins for chromatographic analysis. In: XIV All-Russian Scientific Conference with International Participation of the Youth Scientific Society of St. Petersburg Chemical Federal University "Young Pharmacy – Potential of the Future". March 28 – April 2, 2024. St. Petersburg. St. Petersburg: St. Petersburg Chemical Federal University Publishing House; 2024. P. 675–678. (In Russ.)
14. Epshtein N. A. Validation of Analytical Procedures: Graphic and Calculated Criteria for Assessment of Methods Linearity in Practice. *Drug development & registration.* 2019;8(2):122–130. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-122-130.
15. Lima J. C., Traczynski M., Giufrida W. M., Feihrmann A. C., Freitas L. S., Cardozo-Filho L. Modifier-Enhanced Supercritical CO2 Extraction with GRAS Solvents of Coumarin from Cumaru Seeds (*Dipteryx odorata*). *Chemical Engineering Transactions*. 2017;57:301–308. DOI: 10.3303/CET1757301.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.074

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207

Check for updates

CC BY 4.0

Полуколичественная методика определения производных кумарина в объектах различного происхождения

В. С. Шуракова[1, 2]✉, Е. С. Кириллова[1], В. А. Тихомиров[1], Е. С. Сурбеева[1], И. И. Тернинко[1]

[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] Общество с ограниченной ответственностью «Эколер». 414041, Россия, Астраханская обл., г. Астрахань, ул. Яблочкова, д. 11, кв. 21

✉ **Контактное лицо:** Шуракова Валерия Сергеевна. **E-mail:** valeriya.shurakova@spcpu.ru

ORCID: В. С. Шуракова – https://orcid.org/0009-0001-9938-1549;
Е. С. Кириллова – https://orcid.org/0009-0005-5126-0034;
В. А. Тихомиров – https://orcid.org/0009-0001-4647-8283;
Е. С. Сурбеева – https://orcid.org/0000-0002-7005-2477;
И. И. Тернинко – https://orcid.org/0000-0002-2942-1015.

Статья поступила: 17.10.2025 **Статья принята в печать:** 28.11.2025 **Статья опубликована:** 28.11.2025

Резюме

Введение. Кумарин и его производные – БАВ растительного происхождения, проявляющие некоторые виды фармакологической активности, а также токсикологические эффекты. Побочные действия препаратов – производных кумарина, а также отравления, возникающие в связи с применением крысиного яда, кумаринсодержащих растений и т. д., обосновывают актуальность разработки экспрессной методики анализа производных кумарина.

Цель. Разработать экспрессную методику полуколичественного определения производных кумарина с применением бумажной хроматографии, провести валидационные испытания и апробацию методики на растительных объектах.

Материалы и методы. Для разработки методики использовали субстанции кумарина и гидроксида натрия, фильтровальную бумагу марки ФС и УФ-фонарь (365 нм). Методика включает импрегнацию бумажных полосок растворами гидроксида натрия (5–30 %), пробоподготовку образцов экстракцией водой или этанолом с последующей фильтрацией и визуальную детекцию флуоресценции. Валидацию проводили с использованием стандартных образцов фенольных соединений (производные кумарина, гидроксикоричных, бензойных кислот и флавоноидов).

Результаты и обсуждение. В результате исследований установлены оптимальные условия методики: концентрация импрегнирующего раствора гидроксида натрия – 10 %, использование бумаги марки ФС, время детекции – 20 с. Показано, что методика обладает селективностью к производным кумарина при выполнении ряда испытаний, которые отражены в дереве принятия решений. Подтверждена возможность полуколичественного определения с пределом обнаружения $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл, проведена апробация на синтетических и растительных объектах.

Заключение. Разработана экспресс-методика полуколичественного определения производных кумарина, основанная на их щелочном гидролизе на бумажной подложке с детекцией по флуоресценции. Методика отличается простотой, относительно высокой чувствительностью (предел обнаружения – $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл) и была успешно апробирована на лекарственных средствах, растительном сырье и других объектах. Предлагаемая методика рекомендована для использования в качестве эффективного инструмента предварительного скрининга в лабораторной практике.

Ключевые слова: кумарины, бумажная хроматография, экспресс-методика, качественная реакция, разработка, валидация

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

Вклад авторов. В. С. Шуракова – литературный поиск, выполнение экспериментальной работы, обработка полученных результатов, формулирование выводов и написание статьи. Е. С. Кириллова, В. А. Тихомиров, Е. С. Сурбеева – выполнение экспериментальной работы. И.И. Тернинко – планирование дизайна эксперимента, редактирование рукописи.

© Шуракова В. С., Кириллова Е. С., Тихомиров В. А., Сурбеева Е. С., Тернинко И. И., 2025
© Shurakova V. S., Kirillova E. S., Tikhomirov V. A., Surbeeva E. S., Terninko I. I., 2025

Финансирование. Анализ выполнен на базе центра коллективного пользования (ЦКП) «Аналитический центр» ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Проект реализуется при поддержке Фонда содействия инновациям в рамках программы «Студенческий стартап» мероприятия «Платформа университетского технологического предпринимательства» федерального проекта «Технологии» (договор № 14ГССС27/108464).

Для цитирования: Шуракова В. С., Кириллова Е. С., Тихомиров В. А., Сурбеева Е. С., Тернинко И. И. Полуколичественная методика определения производных кумарина в объектах различного происхождения. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):174–182. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207

Semi-quantitative method for determining coumarin derivatives in objects of various origin

Valeriya S. Shurakova[1, 2]✉, Elizaveta S. Kirillova[1], Vyacheslav A. Tikhomirov[1], Elizaveta S. Surbeeva[1], Inna I. Terninko[1]

[1] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[2] Limited Liability Company "Ekoler". Apartment 21, 11, Yablochkova str., Astrakhan, Astrakhan Region, 414041, Russia

✉ **Corresponding author:** Valeriya S. Shurakova. **E-mail:** valeriya.shurakova@spcpu.ru

ORCID: Valeriya S. Shurakova – https://orcid.org/0009-0001-9938-1549;
Elizaveta S. Kirillova – https://orcid.org/0009-0005-5126-0034;
Vyacheslav A. Tikhomirov – https://orcid.org/0009-0001-4647-8283;
Elizaveta S. Surbeeva – https://orcid.org/0000-0002-7005-2477;
Inna I. Terninko – https://orcid.org/0000-0002-2942-1015.

Received: 17.10.2025 **Accepted:** 28.11.2025 **Published:** 28.11.2025

Abstract

Introduction. Coumarin and its derivatives are biologically active substances (BAS) of plant origin that exhibit a range of pharmacological activities as well as toxicological effects. The adverse effects of coumarin derivative drugs, along with poisonings caused by the use of rodenticides, coumarin-containing plants, and other related factors, justify the relevance of developing a rapid analytical method for the detection of coumarin derivatives.

Aim. To develop a rapid semi-quantitative method for the determination of coumarin derivatives using paper chromatography, perform validation tests, and apply the method to plant-based samples.

Materials and methods. For the development of the method were used substances coumarin and sodium hydroxide, filter paper brand FS and UV-lamp (365 nm). The technique includes impregnating paper bars with NaOH solutions (5–30 %), sample preparation with water or ethanol extraction followed by filtration, and visual fluorescence detection. Validation was performed using standard samples of phenolic compounds (coumarin derivatives, hydroxycorium derivatives, benzoic acids and flavonoids).

Results and discussion. As a result of the studies, the optimal conditions of the technique were established: concentration of the impregnating solution of sodium hydroxide – 10 %, use of SF-mark paper and detection time of 20 seconds. It is shown that the method has selectivity to coumarin derivatives when performing a number of tests, which are reflected in the «decision tree». Confirmed the possibility of semi-quantitative determination with detection limit $1 \cdot 10^{-6}$ mg/ml and testing on synthetic and plant objects.

Conclusion. A rapid semi-quantitative method for the determination of coumarin derivatives has been developed, based on their alkaline hydrolysis on a paper substrate with subsequent fluorescence detection. The method is characterized by simplicity, high sensitivity (limit of detection $1 \cdot 10^{-6}$ mg/mL), and was successfully tested on medicinal products, plant materials, and other objects. The proposed methodology is recommended as an effective tool for preliminary screening in laboratory practice.

Keywords: coumarins, paper chromatography, rapid method, qualitative reaction, development, validation

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. Valeriya S. Shurakova – literature search, experimental design planning, execution of experimental work, formulation of conclusions, and manuscript writing. Elizaveta S. Kirillova, Vyacheslav A. Tikhomirov, Elizaveta S. Surbeeva – execution of experimental work. Inna I. Terninko – experimental design planning and manuscript editing.

Funding. The analysis was performed at the Shared Research Facilities Center (SRFC) "Analytical Center" of the SPSPU of the Ministry of Health of Russia. The project was implemented with the support of the Foundation for Assistance to Innovation under the program "Student Startup" as part of the event "Platform for University Technology Entrepreneurship" within the federal project "Technologies" (Agreement No. 14ГССС27/108464).

For citation: Shurakova V. S., Kirillova E. S., Tikhomirov V. A., Surbeeva E. S., Terninko I. I. Semi-quantitative method for determining coumarin derivatives in objects of various origin. *Drug development & registration*. 2025;14(4):174–182. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207

ВВЕДЕНИЕ

Кумарины – большой класс фенольных соединений, содержащих в структуре конденсированные бензольное и α-пироновое кольца, широко распространенных в природе и обнаруженных более чем в 150 видах растений, относящихся к 30 семействам (среди них – Rutaceae, Apiaceae, Fabaceae, Caprifoliaceae, Oleaceae и др.) [1, 2].

Производные кумарина широко используются в парфюмерии и косметических средствах благодаря сладкому аромату, сходному с ванилью. Кроме того, кумарин обнаружен в таких специях, как корица и бобы тонка, которые широко применяются в пищевой промышленности [3]. Синтетические производные кумарина используются в фармации как антикоагулянтные препараты [4] («Варфарин», таблетки, 2,5 мг – 10 шт, ООО «ОЗОН») для профилактики фибрилляции предсердий, а также для лечения витилиго («Аммифурин», таблетки, 20 мг – 10 шт и раствор для наружного применения 0,3%-й, флаконы по 25, 50 и 100 мл, ООО «Фармцентр ВИЛАР»)[1]. Важно отметить, что производные 4-гидроксикумарина используются в качестве родентицидов (средства для борьбы с грызунами), что создает риск контаминации (загрязнения) пищевых продуктов данными соединениями, особенно в аграрных регионах.

Доклинические испытания доказывают, что кумарины могут быть токсичны, чаще это действие проявляется кровотечениями и ожогами [5–6], а для животных установлено снижение репродуктивной способности [7–8]. Токсические свойства кумарина также сохраняются в продуктах переработки. Так, например, был зафиксирован случай отравления растительным маслом, в котором содержались кумарины[2]. В связи с генотоксичностью группа экспертов Европейского органа по безопасности продуктов питания (EFSA) в 2004 году установила предел содержания кумарина в пищевых продуктах на уровне не более 0,5 мг/кг, а в исследовании на гепатотоксичность предпороговый уровень воздействия был определен в количестве 0,1 мг/кг [9, 10].

Растительное сырье имеет ограниченный срок годности и период времени на транспортировку до перерабатывающего предприятия, а анализ в лаборатории занимает несколько дней. Следовательно, необходимо подобрать специфичную и быструю методику анализа производных кумарина, в качестве которой может быть использована комбинация бумажной хроматографии и качественной реакции раскрытия пиронового фрагмента молекулы с последующей детекцией при помощи флуоресценции полученного соединения.

Можно резюмировать, что в связи с частым намеренным и случайным употреблением производных кумарина из различных источников (лекарственные препараты, пищевые и косметические продукты, дератизационные средства и др.), а также наличием токсического действия и зафиксированных случаев отравлений актуальна разработка экспрессной методики предварительного определения данных веществ в различных объектах.

Целью данного исследования является разработка экспрессной методики полуколичественного определения производных кумарина с применением бумажной хроматографии, проведение валидационных испытаний и последующей апробации методики на растительных объектах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы и методы для разработки методики. Для приготовления импрегнирующего раствора использовали субстанцию гидроксида натрия (х.ч., АО «ВЕКТОН», Россия). Для выявления оптимальной концентрации раствора щелочи, обеспечивающей максимальную чувствительность детекции без повреждения целлюлозной подложки, были приготовлены водные растворы натрия гидроксида с концентрациями 5, 10, 15, 20 и 30 %. Каждым из полученных растворов независимо импрегнировали полоски фильтровальной бумаги марки ФС размером 80 × 10 мм, освобожденной от оптических отбеливателей. Для детекции использовали ультрафиолетовый фонарь (УФ-фонарь) (Ziguang, Китай) с длиной волны 365 нм. Все испытания с детекцией проводились в полной темноте.

Для анализа использовалась субстанция кумарина (производитель – Германия). По 10 мг субстанции кумарина помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и растворяли в соответствующем растворителе с последующим доведением до метки. Выбор оптимального растворителя осуществляли путем оценки растворимости кумарина в веществах с различной полярностью в соответствии с Государственной фармакопеей РФ (ГФ РФ), ОФС «Растворимость»[3]: воде очищенной (комнатной температуры и кипящая), хлороформе, метаноле, спирте этиловом 70 %, ацетонитриле, а также по визуальному эффекту (интенсивности флуоресценции) после нанесения на тест-полоску.

Для приготовления **исходного раствора** около 0,1 г субстанции кумарина помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 7 мл 96 % этанола и доводили до метки тем же растворителем (концентрация раствора – 10 мг/мл). Далее готовили серию **стандартных растворов** с различными кон-

[1] Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx. Ссылка активна на 21.07.2025.

[2] Прожарка на крысином яде. Что известно об отравлении семьи маслом. Доступно по: https://360.ru/tekst/obschestvo/prozharka-na-jade/ Ссылка активна на 19.12.2024.

[3] ГФ РФ. ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/rastvorimost/ Ссылка активна на 16.09.2025.

центрациями (от 10 до $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл кумарина) путем последовательных разведений исходного раствора.

Материалы и методы для валидации методики. Проводили валидацию методики в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик»[1] ГФ РФ XV по следующим критериям: специфичности (тестирование фонового сигнала растворителя и оценка перекрестного визуального эффекта структурально схожих природных соединений), робастности (подбор оптимального времени проведения реакции), правильности, пределу обнаружения (на основе которого была разработана градиентная шкала).

Специфичность оценивали путем проверки фонового сигнала потенциальных растворителей/экстрагентов (вода очищенная (комнатной температуры и кипящая), хлороформ, метанол, спирт этиловый 70 %, ацетонитрил).

Для исключения/подтверждения возможных перекрестных эффектов реакции использовали ряд стандартных образцов (СО) фенольных соединений, которые могут накапливаться в растениях и соэкстрагироваться совестно с кумарином: производные кумарина (изопимпинеллин, кумарин – 0,2 мг/мл, метоксален, бергаптен, скополетин, умбеллиферон – 0,1 мг/мл), флавоноиды (рутин, кверцетин, апигенин, мирицетин, розарин, кемпферол – 0,1 мг/мл), гидроксикоричные кислоты (хлорогеновая, кумаровая, феруловая, кофейная, розмариновая, коричная, синаповая – 1 мг/мл), производные бензойной кислоты (вератровая, салициловая, протокатеховая, ванилиновая – 1 мг/мл), а также вещество некумариновой структуры (лекарственный препарат Эксенза®, спрей назальный дозированный, 2,5 мг/доза, ООО «Фармамед»).

Материалы (объекты) для апробации методики: лекарственное средство «Варфарин, таблетки, 2,5 мг» (ООО «ОЗОН», Россия); Rattur, яд для грызунов (крыс) в тесто-брикетах по 200 г, действующее вещество – бродифакум 0,0005 % (ООО «Дефанс», Россия); Coumarine – КУМАРИН, кристаллическое вещество, 5 г, отдушка для парфюмерных композиций (США); корица (Dr. Bakers, Россия) и сахар с корицей (Kotaniy, Австралия); бобы тонка – специя для кулинарии (страна-производитель – Венесуэла, год урожая – 2024); листья борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.), собранные в пос. Лемболово, Санкт-Петербург, год сбора – 2024, высушенные и измельченные. Ботаническую идентификацию образцов проводили по комплексу морфологических признаков с использованием виртуального гербария Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (образец LE 01082762)[2].

Испытуемые образцы. Растительное сырье (бобы тонка, борщевик Сосновского, корица, сахар с корицей) подготавливали по следующей схеме: навеску массой 0,1 г заливали 10 мл воды очищенной (80 °С) в пробирке и экстрагировали при перемешивании в течение 5 мин. Полученное извлечение фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Навеску парфюмерной отдушки массой 0,1 г помещали в пробирку вместимостью 10 мл и растворяли в 95%-м этаноле. Полученный раствор использовали без дополнительной очистки.

Одну таблетку варфарина измельчали в ступке, количественно переносили в пробирку и заливали 2 мл 96%-го этанола. Смесь перемешивали и оставляли для отстаивания на 10 мин для осаждения вспомогательных веществ. Полученную суспензию фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Навеску тесто-брикета массой 0,1 г помещали в пробирку, заливали 10 мл 96%-го этанола и перемешивали. Полученную смесь фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка методики

Для разработки методики проводили подбор концентрации импрегнирующего агента гидроксида натрия, растворителя для проведения экстракции/растворения образца и материала бумаги. Для этого на край полосок размером примерно 80 × 10 мм импрегнировали 0,2 мл раствора гидроксида натрия разных концентраций и высушивали на воздухе. Затем наносили около 0,2 мл СО кумарина различных концентраций, высушивали и детектировали УФ-фонарем.

Результаты подбора концентрации гидроксида натрия представлены в таблице 1. Все эксперименты по подбору условий проводились в трехкратной повторности. Результат считали положительным при визуальном наблюдении флуоресценции голубого или зеленого цвета в УФ-свете (365 нм).

Таблица 1. Подбор концентрации гидроксида натрия

Table 1. Selection of sodium hydroxide concentration

Концентрация реактива Reagent concentration	Концентрация СО кумарина, мг/мл Concentration of standard sample coumarin, mg/mL					
	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,001
5 % NaOH	+	+	+	–	–	–
10 % NaOH	+	+	+	+	+	+
15 % NaOH	+	+	+	+	+	+
20 % NaOH	+	+	+	+	+	+
30 % NaOH	+	+	+	+	+	+

[1] ГФ РФ. ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiya-analiticheskikh-metodik/ Ссылка активна на 09.08.2025.

[2] Образец LE 01082762. Виртуальный гербарий Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН. Доступно по: http://rr.herbariumle.ru/01082762. Ссылка активна на 09.08.2025.

В случае с 5%-м раствором натрия гидроксида не наблюдалось флуоресценции при концентрации кумарина 0,05 мг/мл, при использовании растворов натрия гидроксида 10, 15, 20 и 30 % интенсивность флуоресценции визуально не отличалась, а с возрастанием концентрации реактива наблюдалась деформация фильтровальной бумаги. Таким образом, 10%-й раствор гидроксида натрия был выбран в качестве оптимального, так как обеспечивал возможность обнаружения кумарина во всем исследуемом диапазоне концентраций и не вызывал повреждения хроматографической подложки.

Следующим этапом был подбор оптимального растворителя/экстрагента для проведения испытания (на примере раствора кумарина с концентрацией 0,1 мг/мл в соответствующем растворителе) с последующим испытанием ни полоске импрегнированной бумаги. Результаты растворимости и флуоресценции представлены в таблице 2. Даже при неполном растворении кумарина вытяжка соответствующим растворителем давала корректный сигнал, сопоставимый с истинными растворами.

Наблюдаемое различие в цвете флуоресценции (голубой в органических растворителях и зеленый в водных), вероятно, связано с эффектами сольватации и влиянием полярности среды на электронное состояние продукта реакции. Важно отметить, что сам факт возникновения интенсивной флуоресценции во всех протестированных растворителях подтверждает протекание целевой реакции – щелочного гидролиза кумаринового ядра. Таким образом, цвет флуоресценции может варьировать, но ее наличие является детектируемым признаком. Все протестированные растворители пригодны для проведения анализа, так как обеспечивают надежную детекцию кумарина на уровне исследуемой концентрации (0,1 мг/мл). Для унификации процедуры и получения однородного визуального отклика в качестве стандартного растворителя для последующих экспериментов был выбран 96%-й этанол и кипяченая вода, как наиболее доступный и безопасный вариант.

Использование бумаги, не содержащей оптические отбеливатели, является критически важным, так как последние интенсивно флуоресцируют в УФ-области спектра (λ ~ 365 нм), создавая высокий фон и маскируя специфический сигнал от анализируемых веществ. В связи с этим для разработки методики была выбрана специальная фильтровальная бумага марки ФС, не содержащая отбеливающих компонентов, что позволило значительно снизить фоновый сигнал и повысить четкость детекции.

Валидация методики

Робастность. Оптимальным временем проведения реакции было 20 с, так как в течение этого времени флуоресценция полностью проявляется, а ее дальнейшая визуальная интенсивность не изменяется.

Правильность. Оценку отсутствия ложноположительных результатов проводили путем анализа четырех проб: лекарственного препарата некумариновой структуры на примере Эксензы®; Эксензы® с добавлением стандартного раствора кумарина (0,1 мг/мл) в соотношении 1:1; раствора кумарина с концентрацией 0,1 мг/мл и холостой пробы (вода очищенная). Все пробы одновременно наносили на полоски фильтровальной бумаги, обработанные реактивом, и проводили детекцию. В результате флуоресценцию давали только пробы со стандартным образцом, в остальных пробах флуоресценция не наблюдалась.

Специфичность. Был проведен анализ фонового сигнала растворителей, потенциально использующихся при растворении или экстракции производных кумарина (вода, вода кипяченая, спирт этиловый 96 %, метанол, ацетонитрил, хлороформ). Поэтому для оценки специфичности часть полосок не

Таблица 2. Выбор оптимального растворителя/экстрагента

Table 2. Selection of the optimal solvent/extractant

Раствор кумарина 1 мг/мл в растворителе Solution of coumarin 1 mg/ml in solvent	**Растворимость субстанции** Substance solubility	**Результат флуоресценции** Fluorescence result
Вода очищенная Purified water	Мало растворим Slightly soluble	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Вода очищенная кипяченая (80 °С) Purified boiled water (80 °C)	Растворим Soluble	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Хлороформ Chloroform	Хорошо растворим Highly soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Метанол Methanol	Растворим Soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Спирт этиловый 95 % Ethyl alcohol 95 %	Растворим Soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Ацетонитрил Acetonitrile	Растворим Soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence

импрегнировали. При нанесении предложенных растворителей на полоски фильтровальной бумаги с реактивом и последующей детекции в УФ-свете не было обнаружено флуоресценции, что говорит об отсутствии фонового влияния растворителя. Далее оценивали сигнал путем тестирования широкого спектра стандартных образцов фенольных соединений: производных кумарина, флавоноидов, гидроксикоричных и бензойных кислот, которые накапливаются в растительных объектах вместе с производными кумарина и могут соэкстрагироваться. Результаты представлены в таблице 3.

Проведенные исследования показали, что интенсивная флуоресценция в предлагаемых условиях развивается не только для целевых веществ – производных кумарина, но и для некоторых других фе-

Таблица 3. Оценка параметра «специфичность»

Table 3. Estimation of the Specificity parameter

СО Standard sample	**Нанесение СО на полоски без импрегнирующего реактива** Application of standard sample to strips without impregnation reagent	**Взаимодействие с водным раствором щелочи на полоске** Interaction with aqueous alkali solution on a strip	**Взаимодействие со спиртовым раствором щелочи на полоске** Interaction with alcoholic alkali solution on a strip
Производные кумарина Coumarin derivatives			
Изопимпинеллин Isopimpinellin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубо-зеленая флуоресценция Bluish-green fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Метоксален Methoxsalen	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Кумарин Coumarin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Бергаптен Bergapten	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Псорален Psoralen	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Скополетин Scopoletin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубо-зеленая флуоресценция Blue-green fluorescence
Умбеллиферон Umbelliferone	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Флавоноиды Flavonoids			
Лютеолин Luteolin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Кверцетин Quercetin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Светло-желтая флуоресценция Light-yellow fluorescence
Кемпферол Kaempferol	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Розарин Rosarin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Мирицетин Myricetin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Рутин Rutin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Апигенин Apigenin	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция через 5–7 минут Yellow fluorescence after 5–7 minutes	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Гидроксикоричные кислоты Hydroxycinnamic acids			
Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence

Окончание таблицы 3

СО **Standard sample**	**Нанесение СО на полоски без импрегнирующего реактива** **Application of standard sample to strips without impregnation reagent**	**Взаимодействие с водным раствором щелочи на полоске** **Interaction with aqueous alkali solution on a strip**	**Взаимодействие со спиртовым раствором щелочи на полоске** **Interaction with alcoholic alkali solution on a strip**
Кумаровая кислота Coumaric acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence
Феруловая кислота Ferulic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence
Кофейная кислота Caffeic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Розмариновая кислота Rosmarinic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Коричная кислота Cinnamic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Слабо-зеленая флуоресценция Weak-green fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Синаповая кислота Sinapic acid	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Производные бензойной кислоты **Benzoic acid derivatives**			
Вератровая кислота Veratric acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence
Салициловая кислота Salicylic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Протокатеховая кислота Protocatechuic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence
Ванилиновая кислота Vanillic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Зелено-голубая флуоресценция Greenish-blue fluorescence

нольных соединений, в частности гидроксикоричных кислот и отдельных флавоноидов (апигенин, кемпферол).

На основании результатов можно заключить, что спиртовой раствор щелочи дает сопоставимые результаты с водным, но не устраняет межференцию от гидроксикоричных кислот. Поскольку водный раствор гидроксида натрия показал достаточную эффективность и селективность, прост в приготовлении и не вносит дополнительных органических компонентов, он был выбран в качестве основного реактива для унификации методики.

Таким образом, методика является специфичной для предварительного анализа производных кумарина при выполнении ряда обязательных условий, представленных в схеме на рисунке 1.

Для установления **предела обнаружения (ПО)** в каждый из стандартных растворов кумарина опускали фильтровальную бумагу, импрегнированную 10%-м водным раствором натрия гидроксида, оценивали интенсивность флуоресценции с помощью УФ-фонаря и результат фиксировали фотоснимком в темном помещении. Результаты представлены на рисунке 2 в виде градиентной шкалы.

В ходе определения ПО было установлено, что раствор кумарина в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл не дает явной флуоресценции и ее сложно объективно визуально оценить. Соответственно, ПО кумарина в данных условиях составил $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл.

Апробация методики

Результаты проверки воспроизводимости методики представлены в таблице 4. Подготовленные полоски с нанесенным реактивом (10%-й гидроксида натрия) погружали на 20 с в тестируемые растворы, затем высушивали на воздухе. Как видно из таблицы, производные кумарина различного происхождения были продетектированы в предложенных условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с широким распространением производных кумарина в продуктах питания и косметике, применением в качестве лекарственных средств, а также их установленной токсичностью разработка доступных методик их оперативного контроля остается актуальной задачей.

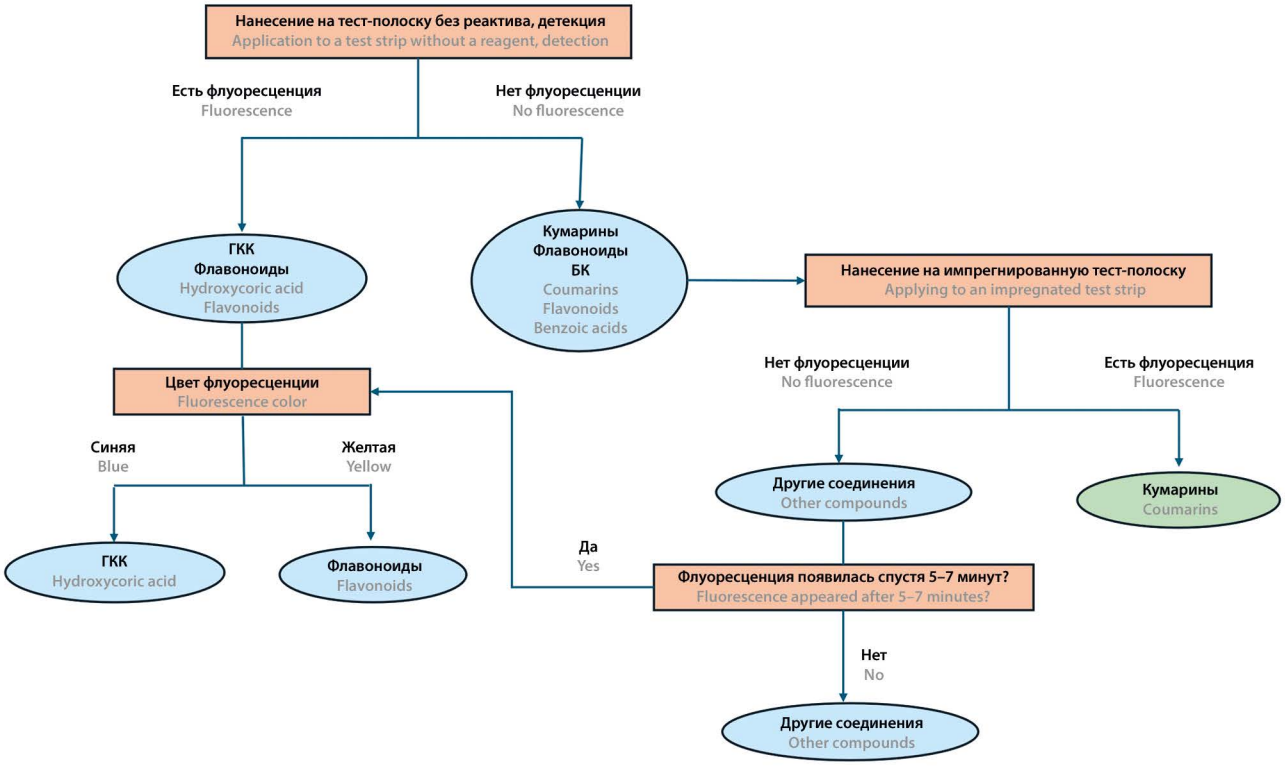


Рисунок 1. Дерево принятия решений для предварительного скрининга производных кумарина полуколичественным методом.

ГКК – гидроксикоричные кислоты, БК – бензойные кислоты

Figure 1. Gradient scale for the semi-quantitative determination of coumarin



Рисунок 2. Градиентная шкала ПО определения кумарина полуколичественным методом

Figure 2. Gradient scale for the semi-quantitative determination of coumarin

В ходе проведенного исследования был разработан и валидирован экспресс-метод полуколичественного определения производных кумарина, основанный на бумажной хроматографии и щелочном гидролизе с последующей УФ-детекцией (365 нм). Были оптимизированы условия анализа: в качестве реактива выбран 10%-й водный раствор натрия гидроксида, а в качестве подложки – фильтровальная бумага, не содержащая оптических отбеливателей.

При проведении валидации методики установлен предел обнаружения кумарина, составляющий $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл; показана ее правильность и специфичность, а также предложен алгоритм действия (дерево принятия решений) для анализа объектов со сложной матрицей.

Методика успешно апробирована на широком круге объектов, включая лекарственные препараты (варфарин), родентициды (бродифакум), парфюмерные отдушки и экстракты растений (корица, бобы тонка, борщевик).

Основными преимуществами предложенной методики являются ее экспрессность (анализ занимает несколько минут), простота выполнения и отсутствие необходимости в дорогостоящем оборудовании.

Таким образом, разработанная методика может быть рекомендована для применения в качестве эффективного инструмента предварительного скрининга на содержание производных кумарина в растительном сырье, готовой продукции и других объектах в условиях производственных или научных лабораторий.

Таблица 4. Проверка воспроизводимости методики

Table 4. Assessment of method reproducibility

Синтетические кумарины **Synthetic coumarins**	
Варфарин, 0,2 мг/мл Warfarin, 0.2 mg/ml	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Бродифакум, 0,0005 % Brodifacoum, 0.0005 %	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Синтетический кумарин (отдушка), 0,1 мг/мл Synthetic coumarin (fragrance), 0.1 mg/ml	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Растительные индикаторные объекты **Plant indicator objects**	
Извлечение борщевика Сосновского Extraction of *Heracleum sosnowskyi*	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Извлечение бобов тонка Extraction of tonka beans	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Извлечение корицы молотой Dr. Bakers Extraction of ground cinnamon Dr. Bakers	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Извлечение сахара с корицей Kotanyu Extraction of sugar with cinnamon Kotanyu	Голубая флуоресценция Blue fluorescence

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhu J.-J., Jiang J.-G. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure–activity relationships. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018;62(14):1701073. DOI: 10.1002/mnfr.201701073.
2. Абышев А. З., Нгуен К. Б. Природные ковалентно комбинированные производные 2H-1-бензопиран-2-она. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(2):226–234.
3. Panico A., Serio F., Bagordo F., Grassi T., Idolo A., De Giorgi M., Guido M., Congedo M., De Donno A. Skin safety and health prevention: an overview of chemicals in cosmetic products. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2019;60(1):E50–E68. DOI: 10.15167/2421-4248/jpmh2019.60.1.1080.
4. Абышев А. З., Журкович И. К., Ивкин Д. Ю., Нгуен К. Б. Синтез, физико-химический анализ и фармакологическая активность некоторых производных варфарина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(2):192–198.
5. Sharifi-Rad J., Cruz-Martins N., Lopez-Jornet P., Pons-Fuster López E., Harun N., Yeskaliyeva B., Beyatli A., Sytar O., Shaheen S., Sharopov F., Taheri Y., Docea A. O., Calina D., Cho W. C. Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:6492346. DOI: 10.1155/2021/6492346.
6. Shtratnikova V. Y. Furanocoumarins: history of research, diversity, synthesis, physiological role in the plant, and medical application. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2023;70(7):169. DOI: 10.1134/S1021443723700280.
7. Байдалин М. Е., Сагалбеков У. М., Байдалина С. Е., Алимжанова Ж. К., Жумалиева К. Т. Влияние кумарина на устойчивость донника и способ заготовки корма, снижающий высокую концентрацию кумарина. *Izdenister natigeler*. 2022;4(96):63–72.
8. Kamal M., Cao Y., Gao J., Li N., Zhao X., Chen L., Zhang J., Cheng Y. Effects of feeding *Melilotus albus* on growth performance, carcass traits, and meat quality of Hu sheep. *Animal Advances*. 2025;2(1):e010. DOI: 10.48130/animadv-0025-0008.
9. Heghes S. C., Vostinaru O., Mogosan C., Miere D., Iuga C. A., Filip L. Safety profile of nutraceuticals rich in coumarins: An update. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:803338. DOI: 10.3389/fphar.2022.803338.
10. Guo P. J., Zhao Y. N., Li J., Liu S. H., Wang Y. L., Wang C. Y. Toxicological research and safety consideration of coumarins. *Zhongguo Zhong yao za zhi = China Journal of Chinese Materia Medica*. 2020;45(3):518–522. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20191014.401.

REFERENCES

1. Zhu J.-J., Jiang J.-G. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure–activity relationships. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018;62(14):1701073. DOI: 10.1002/mnfr.201701073.
2. Abyshev A. Z., Nguyen K. B. Natural covalently combined derivatives of 2H-1-benzopyran-2-one. *Drug development & registration*. 2017;(2):226–234. (In Russ.)
3. Panico A., Serio F., Bagordo F., Grassi T., Idolo A., De Giorgi M., Guido M., Congedo M., De Donno A. Skin safety and health prevention: an overview of chemicals in cosmetic products. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2019;60(1):E50–E68. DOI: 10.15167/2421-4248/jpmh2019.60.1.1080.
4. Abyshev A. Z., Zhurkovich I. K., Ivkin D. Yu., Nguyen K. B. Synthesis, physico-chemical analysis and pharmacological activity of some derivatives of warfarin. *Drug development & registration*. 2017;(2):192–198. (In Russ.)
5. Sharifi-Rad J., Cruz-Martins N., Lopez-Jornet P., Pons-Fuster López E., Harun N., Yeskaliyeva B., Beyatli A., Sytar O., Shaheen S., Sharopov F., Taheri Y., Docea A. O., Calina D., Cho W. C. Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:6492346. DOI: 10.1155/2021/6492346.
6. Shtratnikova V. Y. Furanocoumarins: history of research, diversity, synthesis, physiological role in the plant, and medical application. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2023;70(7):169. DOI: 10.1134/S1021443723700280.
7. Baidalin M. E., Sagalbekov U. M., Baidalina S. E., Alimzhanova Zh. K., Zhumaliyeva K. T. Influence of coumarin on melilot resistance and a method of forage harvesting that reduces high coumarin concentration. *Izdenister natigeler*. 2022;4(96):63–72. (In Russ.)
8. Kamal M., Cao Y., Gao J., Li N., Zhao X., Chen L., Zhang J., Cheng Y. Effects of feeding *Melilotus albus* on growth performance, carcass traits, and meat quality of Hu sheep. *Animal Advances*. 2025;2(1):e010. DOI: 10.48130/animadv-0025-0008.
9. Heghes S. C., Vostinaru O., Mogosan C., Miere D., Iuga C. A., Filip L. Safety profile of nutraceuticals rich in coumarins: An update. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:803338. DOI: 10.3389/fphar.2022.803338.
10. Guo P. J., Zhao Y. N., Li J., Liu S. H., Wang Y. L., Wang C. Y. Toxicological research and safety consideration of coumarins. *Zhongguo Zhong yao za zhi = China Journal of Chinese Materia Medica*. 2020;45(3):518–522. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20191014.401.

Обзорная статья / Review article

УДК 615.03

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2183

Check for updates

CC BY 4.0

Физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики: прошлое, настоящее, будущее (обзор)

Н. С. Багаева[1]✉, Е. И. Евтюхина[1], Д. С. Щелгачева[1], М. О. Попова[1], О. А. Арчакова[1], Т. Н. Комаров[1, 2], А. Н. Марченко[3], Е. А. Малашенко[3], И. Е. Шохин[1, 4]

[1] Общество с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики» (ООО «ЦФА»). 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

[2] 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, 14, литера А

[3] 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

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

✉ **Контактное лицо:** Багаева Наталья Сергеевна. **E-mail:** n.bagaeva@cpha.ru

ORCID: Н. С. Багаева – https://orcid.org/0000-0001-7496-8186;
Е. И. Евтюхина – https://orcid.org/0009-0007-3274-7845;
Д. С. Щелгачева – https://orcid.org/0000-0003-4894-7001;
М. О. Попова – https://orcid.org/0009-0008-1688-1902;
О. А. Арчакова – https://orcid.org/0000-0001-6621-1060;
Т. Н. Комаров – https://orcid.org/0000-0001-8354-7877;
А. Н. Марченко – https://orcid.org/0009-0008-6963-6919;
Е. А. Малашенко – http://orcid.org/0000-0002-4183-7822;
И. Е. Шохин – https://orcid.org/0000-0002-1185-8630.

Статья поступила: 12.08.2025 **Статья принята в печать:** 24.09.2025 **Статья опубликована:** 24.09.2025

Резюме

Введение. Физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики представляет собой метод, позволяющий предсказывать распределение лекарственных веществ в организме на основе анатомических и физиологических параметров. Данное направление получило широкое распространение лишь с развитием вычислительных технологий. Сегодня PBPK активно используется регуляторными агентствами для оптимизации клинических исследований и сокращения числа экспериментов на животных.

Текст. PBPK-модели представляют организм как систему взаимосвязанных компартментов, соответствующих органам и тканям. Описываются три основных типа моделей: полноценная (Full PBPK), обеспечивающая максимальную точность за счет детализации; усеченная (Reduced PBPK), снижающая вычислительную сложность; и гибридная (Hybrid PBPK), сочетающая оба подхода для баланса между точностью и эффективностью. Подробно рассмотрены ключевые параметры для построения моделей: физико-химические свойства веществ (LogP, pKa, растворимость), физиологические параметры (объемы органов, скорость кровотока, активность ферментов и мембранных транспортных белков) и фармакокинетические параметры (объем распределения, клиренс). Особое внимание уделяется модели всасывания и транзита Гордона Амидона (CAT/ACAT) и её интеграции в PBPK-моделирование. Приведены процедуры обеспечения надежности моделей: калибровка (настройка параметров), валидация (оценка предсказательной способности), квалификация (подтверждение пригодности для конкретной цели) и верификация (проверка математической корректности). Описаны статистические метрики для оценки точности. Представлен обзор популярного программного обеспечения для PBPK-моделирования, такого как GastroPlus, Simcyp, PK-Sim, SimBiology и Mrgsolve, с указанием их основных преимуществ и областей применения в фармацевтической индустрии и академических исследованиях.

Заключение. PBPK-моделирование находится на пороге новой эры, где его применение выйдет за рамки традиционной фармакокинетики, став неотъемлемой частью цифровой медицины, биотехнологий и прецизионной терапии. В перспективе такие технологии смогут не только предсказывать поведение лекарств в организме, но и стать основой для виртуальных клинических испытаний, что коренным образом изменит подход к разработке и применению лекарственных средств.

© Багаева Н. С., Евтюхина Е. И., Щелгачева Д. С., Попова М. О., Арчакова О. А., Комаров Т. Н., Марченко А. Н., Малашенко Е. А., Шохин И. Е., 2025

© Bagaeva N. S., Evtyukhina E. I., Shchelgacheva D. S., Popova M. O., Archakova O. A., Komarov T. N., Marchenko A. N., Malashenko E. A., Shohin I. E., 2025

Ключевые слова: физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики, PBPK, абсорбция, распределение

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

Вклад авторов. Н. С. Багаева, Е. И. Евтюхина – сбор информации, ее анализ, написание текста статьи. Н. С. Багаева, Е. И. Евтюхина, Д. С. Щелгачева, М. О. Попова, О. А. Арчакова, Т. Н. Комаров, А. Н. Марченко, Е. А. Малашенко, И. Е. Шохин – участие в обсуждении текста статьи.

Для цитирования: Багаева Н. С., Евтюхина Е. И., Щелгачева Д. С., Попова М. О., Арчакова О. А., Комаров Т. Н., Марченко А. Н., Малашенко Е. А., Шохин И. Е. Физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики: прошлое, настоящее, будущее. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):183–194. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2183

Physiologically-based pharmacokinetic modeling: past, present and future (review)

Natalia S. Bagaeva[1]✉, Elena I. Evtyukhina[1], Dana S. Shchelgacheva[1], Mariia O. Popova[1], Olga A. Archakova[1], Timofey N. Komarov[1, 2], Anna N. Marchenko[3], Evgeniya A. Malashenko[3], Igor E. Shohin[1, 4]

[1] Limited Liability Company "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"). 8, Simferopolsky bulvar, Moscow, 117246, Russia
[2] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[3] I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia
[4] National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute). 31, Kashirskoe shosse, Moscow, 115409, Russia

✉ **Corresponding author:** Natalia S. Bagaeva. **E-mail:** n.bagaeva@cpha.ru

ORCID: Natalia S. Bagaeva – https://orcid.org/0000-0001-7496-8186;
Elena I. Evtyukhina – https://orcid.org/0009-0007-3274-7845;
Dana S. Shchelgacheva – https://orcid.org/0000-0003-4894-7001;
Mariia O. Popova – https://orcid.org/0009-0008-1688-1902;
Olga A. Archakova – https://orcid.org/0000-0001-6621-1060;
Timofey N. Komarov – https://orcid.org/0000-0001-8354-7877;
Anna N. Marchenko – https://orcid.org/0009-0008-6963-6919;
Evgeniya A. Malashenko – http://orcid.org/0000-0002-4183-7822;
Igor E. Shohin – https://orcid.org/0000-0002-1185-8630.

Received: 12.08.2025 **Accepted:** 24.09.2025 **Published:** 24.09.2025

Abstract

Introduction. Physiologically-based pharmacokinetic modelling is a method that allows predicting the distribution of drugs in the body based on anatomical and physiological parameters. This approach has become widespread only with the development of computing technologies. Today PBPK is actively used by regulatory agencies to optimize clinical trials and reduce the number of animal experiments.

Text. PBPK models represent the body as a system of interconnected compartments corresponding to organs and tissues. Three main types of models are described: Full PBPK, which maximizes accuracy at the expense of detail; Reduced PBPK, which reduces computational complexity; Hybrid PBPK, which combines both approaches to balance accuracy and efficiency. Key parameters for model building are discussed in detail: physicochemical properties of substances (LogP, pKa, solubility), physiological parameters (organ volumes, blood flow, enzyme activity and membrane transport proteins) and pharmacokinetic parameters (volume of distribution, clearance). Special attention is given to the Gordon Amidon absorption and transit model (CAT/ACAT) and its integration into PBPK modeling. Procedures for model reliability are given calibration (parameter tuning), validation (assessment of predictive ability), qualification (confirmation of fitness for purpose), and verification (verification of mathematical correctness). Statistical metrics for assessing accuracy are described. An overview of popular PBPK modeling software such as GastroPlus, Simcyp, PK-Sim, SimBiology, and Mrgsolve is presented, highlighting their main advantages and applications in the pharmaceutical industry and academic research.

Conclusion. PBPK modeling is on the threshold of a new era where its application will go beyond traditional pharmacokinetics, becoming an integral part of digital medicine, biotechnology and precision therapeutics. In the future, such technologies will not only be able to predict the behavior of drugs in the body, but also become the basis for virtual clinical trials, which will fundamentally change the approach to drug development and application.

Keywords: physiologically-based pharmacokinetic modeling, PBPK, absorption, distribution

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

Contribution of the authors. Natalia S. Bagaeva, Elena I. Evtyukhina – collection of information, its analysis, writing the text of the article. Natalia S. Bagaeva, Elena I. Evtyukhina, Dana S. Shchelgacheva, Mariia O. Popova, Olga A. Archakova, Timofey N. Komarov, Anna N. Marchenko, Evgeniya A. Malashenko, Igor E. Shohin participated in the discussion of the text of the article.

For citation: Bagaeva N. S., Evtyukhina E. I., Shchelgacheva D. S., Popova M. O., Archakova O. A., Komarov T. N., Marchenko A. N., Malashenko E. A., Shohin I. E. Physiologically-based pharmacokinetic modeling: past, present and future. *Drug development & registration*. 2025;14(4):183–194. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2183

ВВЕДЕНИЕ

Физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики (physiologically-based pharmacokinetic modeling, PBPK modeling) представляет собой метод, позволяющий предсказывать распределение лекарственных веществ в организме на основе анатомических и физиологических параметров. В отличие от классических фармакокинетических моделей, PBPK учитывает индивидуальные особенности изучаемой популяции, что делает его незаменимым в разработке новых препаратов, оценке лекарственных взаимодействий и персонализированной медицине.

Аббревиатура «PBPK modeling» в русскоязычной научной литературе зачастую интерпретируется как «физиологически обоснованное фармакокинетическое моделирование» [1]. Данная лингвистическая конструкция акцентирует методологический аспект, определяя вид моделирования (фармакокинетическое), базовые принципы которого основаны на физиологических данных.

Вместе с тем с точки зрения строгой лингвистической и терминологической точности более корректным представляется вариант перевода «физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики». Данная формулировка семантически точнее передает исходный английский термин, поскольку объектом управления (моделирования) является фармакокинетика, а определение «физиологически обоснованное» характеризует используемый для этого метод, основанный на физиологических принципах и параметрах.

Первое упоминание о PBPK-модели появилось в 1937 году [2]. Она представляла собой простую пятикамерную модель, описывающую кровеносную систему, «депо» препарата, объем жидкости, выведение через почки и инактивацию в тканях [3]. В 1960-х годах Бишофф и Дедрик разработали ряд моделей PBPK, в частности для противораковых препаратов [4]. Физиологически обоснованное моделирование фармакокинетики применялось как в доклинических исследованиях, так и в области охраны окружающей среды [5–7].

Данное направление получило широкое распространение лишь с развитием вычислительных технологий. Сегодня PBPK активно используется регуляторными агентствами[1, 2] для оптимизации клинических исследований и сокращения числа экспериментов на животных.

МЕТОДОЛОГИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

PBPK-модели представляют организм как систему взаимосвязанных компартментов (камер), соответствующих органам и тканям (печень, почки, желудочно-кишечный тракт, мозг). Каждый компартмент описывается объемом ткани, скоростью кровотока и коэффициентами распределения.

PBPK-модели можно разделить на три основные конфигурации (рисунок 1):

1. Полноценная модель (Full PBPK). Предполагает детальное математическое описание физиологии человека, включающее 12–15 анатомически и физиологически обоснованных компартментов (печень, почки, жировая ткань и др.). Такой подход учитывает специфику распределения, метаболизма и выведения веществ в каждой ткани, что повышает точность прогнозирования концентрации лекарственного препарата в целевых органах и зонах его действия, а также позволяет моделировать сложные фармакокинетические профили, включая нелинейное распределение, насыщаемый метаболизм и органоспецифическую токсичность. Углубленная детализация процессов фармакокинетики особенно важна на поздних этапах разработки лекарств, когда требуется оценить влияние патологий (например, печеночной или почечной недостаточности) на фармакокинетику, выбрать режим дозирования для особых групп пациентов, определить эффект лекарственных взаимодействий за счет учета тканеспецифичного метаболизма (например, CYP450 в печени) [8–13]. Применение Full PBPK целесообразно в задачах, где критична максимальная точность прогнозирования, так как она требует больших вычислительных ресурсов и обширных входных данных, не всегда доступных для исследователей.

[1] Guideline on the reporting of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling and simulation. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/reporting-physiologically-based-pharmacokinetic-pbpk-modelling-simulation-scientific-guideline. Accessed: 30.07.2025.

[2] Guidance for Industry. Physiologically Based Pharmacokinetic Analyses – Format and Content. Available at: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/physiologically-based-pharmacokinetic-analyses-format-and-content-guidance-industry. Accessed: 29.07.2025.

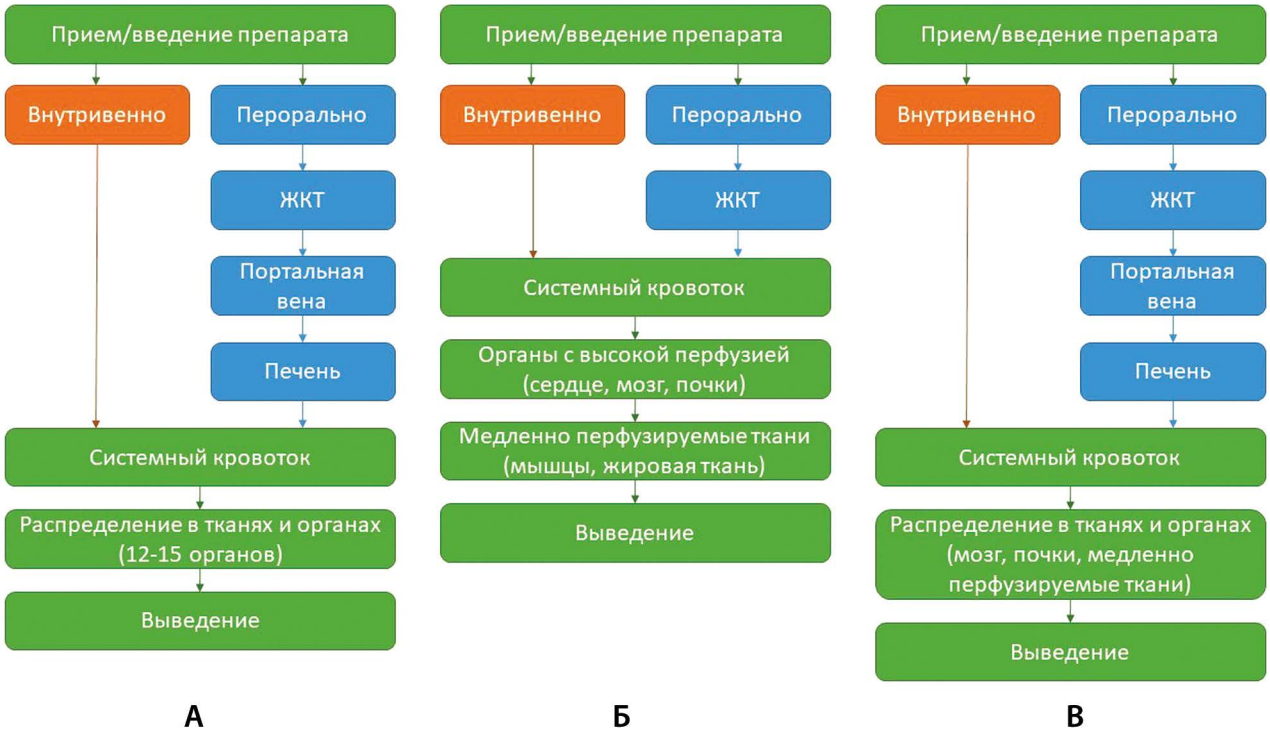


Рисунок 1. **Блок-схемы полноценной (А), усеченной (Б) и гибридной (В) PBPK-моделей с указанием ключевых параметров**

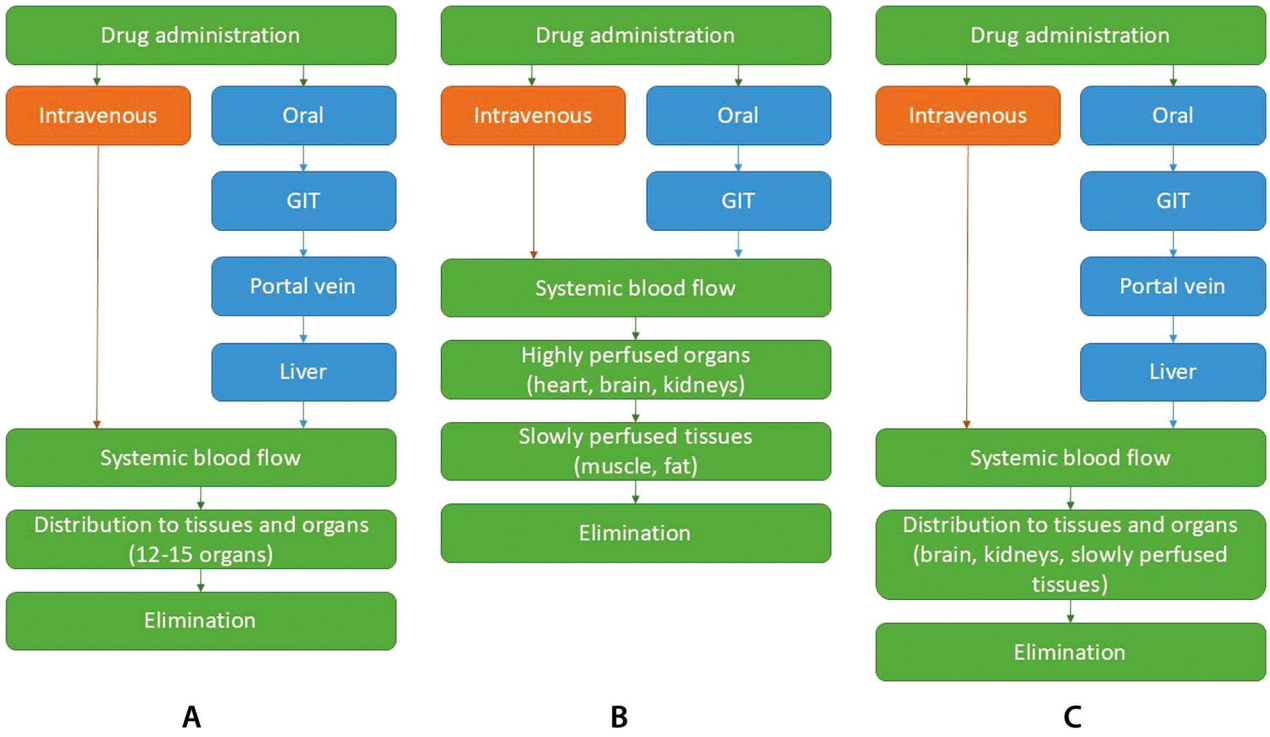


Figure 1. **Block diagrams of full (A), reduced (B), and hybrid (C) PBPK models with key parameters indicated**

2. Усеченная модель (Reduced PBPK). Отличительной особенностью данной модели является объединение ключевых органов со схожими физико-химическими и физиологическими свойствами в общие компартменты. Это позволяет значительно снизить вычислительную сложность модели, сохраняя при этом ключевые фармакокинетические закономерности. Такой подход особенно полезен в условиях ограниченных экспериментальных данных, когда детальное описание всех тканей невозможно или нецелесообразно. Несмотря на упрощение, усеченная модель сохраняет предиктивную способность полноценной модели, что делает ее эффективным инструментом для скрининга лекарственных препаратов при их разработке, оценки токсикологических рисков и других задач, где критически важна скорость выполнения расчетов [14–15].

3. Гибридная модель (Hybrid PBPK). Использование PBPK-модели с детализированным описанием критически важных органов (например, печень, почки, сердце и др.) в сочетании с упрощенным представлением процессов, происходящих в остальных тка-нях, позволяет эффективно сконцентрировать вычислительные ресурсы и научный интерес на конкретной физиологической системе. При исследовании гепатотоксичности можно детально смоделировать процессы метаболизма и распределения веществ в печени, в то время как остальные органы описываются агрегированными параметрами [16]. Такой подход обеспечивает баланс между точностью прогнозирования и вычислительной эффективностью, что особенно важно при оценке токсикологических рисков или фармакокинетики лекарственных средств. Существуют комбинации PBPK- и фармакодинамических моделей (PBPK-PD), а также модели количественной системной фармакологии (QSP) [17–21].

Подробные сравнительные характеристики типов PBPK-моделей приведены в таблице 1.

Основное уравнение, описывающее изменение концентрации вещества в *i*-м органе:

$$V_i \frac{dC_i}{dt} = Q_i(C_{in} - C_{out}) - CL_{int,i} \cdot C_{out} + T_{act} - T_{pass},$$

где V_i – объем органа; Q_i – скорость кровотока; C_{in} – концентрация на входе в орган; C_{out} – концентрация на выходе из органа; CL_{int} – внутренний клиренс; T_{act} – уравнение, описывающее активный транспорт вещества; T_{pass} – уравнение, описывающее пассивный транспорт вещества.

В неэлиминирующих тканях изменение количества лекарственного препарата описывается уравнением, где производная концентрации по времени равна разности между скоростью поступления и скоростью элиминации вещества [22]:

$$V_T \frac{dC_T}{dt} = Q_T \cdot C_A - Q_T \cdot C_{vT},$$

$$C_{vT} = \frac{C_T}{K_p / \left[\frac{C_B}{C_P}\right]},$$

Таблица 1. Сравнительные характеристики PBPK-моделей

Table 1. Comparative characteristics of PBPK models

Критерий Criteria	**Полноценные модели** Full PBPK models	**Усеченные модели** Reduced PBPK models	**Гибридные модели** Hybrid PBPK models
Сложность структуры Complexity of structure	12–15 компартментов (органы + ткани) 12–15 compartments (organs + tissues)	4–6 обобщенных компартментов 4–6 generalized compartments	Комбинация с фармакодинамическими/QSP-моделями Combination with pharmacodynamic/QSP models
Математический аппарат Mathematical framework	Система дифференциальных уравнений для каждого органа System of differential equations for each organ	Упрощенные уравнения баланса масс Simplified mass balance equations	Интеграция с фармакодинамическими уравнениями Integration with pharmacodynamic equations
Входные параметры Input parameters	• Физико-химические свойства препарата. • Физиологические данные по каждому органу • Physicochemical properties of the drug. • Physiological data for each organ	• Ключевые фармакокинетические параметры. • Усредненные физиологические данные • Main pharmacokinetic parameters. • Averaged physiological data	• Данные *in vitro, in vivo.* • Биомаркеры фармакодинамики • *In vitro, in vivo* data. • Pharmacodynamic biomarkers
Вычислительная нагрузка Computational load	Высокая High	Низкая Low	Зависит от сложности связанных с моделью компонентов Depends on the complexity of the linked model components

Окончание таблицы 1

Критерий Criteria	**Полноценные модели** Full PBPK models	**Усеченные модели** Reduced PBPK models	**Гибридные модели** Hybrid PBPK models
Точность прогноза Prediction accuracy	Высокая для тканеспецифичного распределения High for tissue-specific distribution	Ограничена для сложных сценариев Limited for complex scenarios	Оптимальна для ФК/ФД-анализа Optimal for PK/PD analysis
Примеры программного обеспечения Software examples	• PK-Sim®. • Simcyp®	• Библиотеки R/Python. • MATLAB PBPK Toolbox • R/Python libraries. • MATLAB PBPK Toolbox	• GastroPlus® • Certara QSP Platform
Время разработки Development time	2–4 недели за счет длительной параметризации 2–4 weeks due to long parameterization	До 1 недели Up to 1 week	1–3 недели 1–3 weeks
Регуляторное признание Regulatory acceptance	FDA/EMA (для сложных случаев лекарственного взаимодействия, педиатрии) FDA/EMA (for complex cases like drug-drug interactions, pediatrics)	Ограниченное (преимущественно для внутренних решений) Limited (primary for internal decision making)	Растет (особенно для QSP-интеграции) Growing (especially for QSP integration)
Ограничения Limits	• Длительная калибровка. • Необходимость большого объема входных данных • Long calibration. • Need for a large input data	• Высокая вероятность неточных результатов при моделировании препаратов с нелинейной фармакокинетикой. • Неспособность предсказывать концентрации в отдельных органах • High probability of inaccurate results when modeling drugs with nonlinear pharmacokinetics. • Inability to predict concentrations in specific organs	• Отсутствие экспериментальных данных для калибровки всех компонентов • Перепараметризация • Сложность взаимной интеграции • Lack of experimental data for calibrating all components. • Over-parameterization. • Complexity of mutual integration

где V – объем; Q – скорость кровотока; C – концентрация; K_p – коэффициент тканевого распределения; T – ткани; A – артериальная кровь; B – кровь; P – плазма; v – венозная кровь.

В тканях, подверженных элиминации, изменение количества лекарственного препарата описывается уравнением [23]:

$$V_T \frac{dC_T}{dt} = Q_T \cdot C_A - Q_T \cdot C_{vT} - CL_{int,u} \cdot C_{vT,u},$$

где V – объем; Q – скорость кровотока; C – концентрация; CL_{int} – собственный клиренс соединения; T – ткани; A – артериальная кровь; v – венозная кровь; u – несвязанная.

Вышеописанные модели успешно описывают фармакокинетические профили концентраций в плазме и тканях при внутривенном введении. В случае перорального приема, требующего учета дополнительных факторов, мировое научное сообщество предлагает ряд моделей абсорбции различной степени сложности [24–26].

МОДЕЛЬ ГОРДОНА АМИДОНА ДЛЯ ВСАСЫВАНИЯ В КИШЕЧНИКЕ И ЕЕ ИНТЕГРАЦИЯ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ ОБОСНОВАННОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

CAT-модель, разработанная Гордоном Амидоном [27], представляет собой механистический подход к прогнозированию всасывания пероральных лекарственных средств, учитывающий:

- анатомическую сегментацию ЖКТ. Модель разделяет желудочно-кишечный тракт на 7 компартментов (желудок + 6 кишечных сегментов);
- фиксированные геометрические параметры всех компартментов;
- усредненные значения pH среды.

Математический аппарат CAT-модели включает в себя линейные дифференциальные уравнения 1-го порядка, постоянные коэффициенты переноса между отделами с упрощенным описанием растворения (нулевой или первый порядок).

Появление Advanced CAT-модели (ACAT-модели) отразило переход от упрощенных фармакокинетических моделей к истинно физиологическому моделированию (таблица 2) [28–29]. Такие модели включают в себя нелинейные уравнения с обратными связями, переменные коэффициенты транзита [в зависимости от объема содержимого камеры, характера пищи, индивидуальных особенностей моторики (например, популяция с патологией)], а также модифицированную модель растворения Нойеса – Уитни с поправкой на истинную площадь поверхности частиц, локальную вязкость среды и наличие поверхностно-активных веществ [30]. Ключевое преимущество ACAT-модели – способность предсказывать не только «усредненное» всасывание, но и его вариабельность в различных популяциях, что критично для современных задач персонализированной медицины.

Г. Амидон заложил фундамент для механистического моделирования всасывания лекарственных средств, которое стало неотъемлемой частью PBPK. Разработанные им модели остаются «золотым стандартом» для перорального всасывания, но требуют адаптации к новым научным вызовам. Их преимущество заключается в механистической прозрачности, что делает их незаменимыми для разработки сложных препаратов-«дженериков»; также они продолжают влиять на регуляторные решения (использование биофармацевтической системы классификации в рамках процедуры «биовейвер»[1, 2, 3, 4]).

Ключевые параметры для построения PBPK-моделей

1. Физико-химические параметры лекарственного средства, которые определяют поведение лекарственного препарата в биологических средах:

- коэффициент распределения октанол/вода (LogP), характеризует липофильность изучаемого вещества и его способность проникать через клеточные мембраны;
- отрицательный десятичный логарифм константы диссоциации кислоты (pKa), определяет степень ионизации молекулы при разных значениях pH, что критически важно для моделирования всасывания в желудочно-кишечном тракте;
- растворимость, влияет на биодоступность, особенно для лекарственных средств класса II и IV в биофармацевтической классификационной системе (БКС);
- коэффициент связывания с белками плазмы (fu) – доля несвязанного вещества с компонентами плазмы.

2. Параметры, описывающие физиологические процессы организма:

- объемы органов и тканей – поиск стандартных значения в специальных базах данных (например, Международная комиссия по радиационной защите (ICRP), PK-Sim Ontology)[5, 6];
- скорости кровотока, определяют доставку лекарственного препарата к различным органам;
- уровень экспрессии метаболических ферментов (CYP3A4, CYP2D6 и др.);
- активность транспортных белков [P-гликопротеин, белок резистентности к раку молочной железы (breast cancer resistance protein, BCRP)], которая влияет на распределение и выведение лекарственного средства.

3. Фармакокинетические параметры:

- объем распределения (V_d);
- общий клиренс (Cl);
- период полувыведения ($t_{1/2}$).

ПРОЦЕДУРЫ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ ПРИГОДНОСТИ PBPK-МОДЕЛИ

Для обеспечения точности и надежности моделей необходимо проводить их калибровку, валидацию, квалификацию и верификацию. Данные процессы взаимосвязанны, но решают разные задачи.

Калибровка PBPK-модели. Калибровка – это процесс настройки параметров модели для соответствия экспериментальным данным. Для нее характеры следующие шаги.

Сбор данных. Литературный обзор физико-химических свойств лекарственного средства, данные *in vitro / in vivo*.

[1] ICH M13A Guideline on bioequivalence for immediate-release solid oral dosage forms. Step 5. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/reporting-physiologically-based-pharmacokinetic-pbpk-modelling-simulation-scientific-guideline. Accessed: 25.07.2025.

[2] ICH M9 on biopharmaceutics classification system based biowaivers. Scientific guideline. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/ich-m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers-scientific-guideline. Accessed: 25.07.2025.

[3] M9 Biopharmaceutics Classification System-Based Biowaivers. GUIDANCE DOCUMENT. Available at: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers. Accessed: 29.07.2025.

[4] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» (в редакциях решений Совета Евразийской экономической комиссии от 04.09.2020 № 67, от 15.02.2023 № 22, от 12.04.2024 № 30). Доступен по: https://docs.cntd.ru/document/456026107. Ссылка активна на 29.07.2025.

[5] International Commission on Radiological Protection. Available at: https://www.icrp.org. Accessed: 04.08.2025.

[6] PK-Sim Ontogeny Database Version 7.3. Available at: https://github.com/Open-Systems-Pharmacology/OSPSuite.Documentation/blob/master/PK-Sim%20Ontogeny%20Database%20Version%207.3.pdf. Accessed: 04.08.2025.

Таблица 2. Сравнительная таблица CAT-модели и ACAT-модели

Table 2. Comparison table of the CAT model and the ACAT model

Критерий Criteria	**CAT-модель** Compartmental Absorption and Transit	**ACAT-модель** Advanced Compartmental Absorption and Transit	**Физиологическое/ техническое обоснование различий** Physiological/technical rationale for differences
Структура ЖКТ GIT structure	7 компартментов 7 compartments	Более 9 компартментов More than 9 compartments	ACAT учитывает дополнительные зоны всасывания и метаболизма ACAT accounts for additional absorption and metabolism zones
Геометрические параметры Geometric parameters	Фиксированные диаметр/длина для всех сегментов Fixed diameter/length for all segments	Динамически изменяемые параметры Dynamically adjustable parameters	Учет индивидуальных анатомических вариаций и растяжения стенок Accounts for individual anatomical variations and GIT wall stretching
pH-профиль pH-profile	Усредненные фиксированные значения Averaged fixed values	Градиентные изменения + влияние пищи / лекарственных веществ Gradient changes + food/drugs effects	Реалистичное моделирование для pH-зависимых препаратов Realistic modeling for pH-dependent drugs
Кинетика транзита Transit kinetics	Постоянные скорости для всех сегментов Constant rates for all segments	Переменные коэффициенты (зависят от объема, пищи, патологий) Variable coefficients (depending on volume, food, pathologies)	Отражает реальную перистальтику Reflects real peristalsis
Моделирование растворения Dissolution modeling	Упрощенное (нулевой/первый порядок) Simplified (zero/first-order)	Модифицированное уравнение растворения Нойеса – Уитни с поправками Modified Noyes – Whitney equation with adjustments	Точность для субстанций II и IV классов БКС Accuracy for BCS Class II and IV substances
Учет пищи Food effects	Бинарный фактор (да/нет) Binary (yes/no)	Количественное влияние (белки, жиры, углеводы) Quantitative influence (proteins, fats, carbohydrates)	Прогноз пищевых эффектов Prediction of food effects
Пресистемный метаболизм Presystemic metabolism	Не учитывается Not considered	Детальное описание (CYP3A4 в энтероцитах, транспортеры – P-gp, BCRP) Detailed description (CYP3A4 in enterocytes, transporters – P-gp, BCRP)	Важно для лекарственных препаратов, обладающих данным критерием Important for drugs with this characteristic
Лимфатический транспорт Lymphatic transport	Отсутствует Absent	Специальный модуль для липофильных веществ Special module for lipophilic substances	Критично для препаратов с LogP > 5 Critical for drugs with LogP > 5
Валидация Validation	Требует только данных по плазменным концентрациям Requires only plasma concentration data	Данные растворения *in vitro*, кишечная проницаемость, эффект пищи In vitro dissolution data, intestinal permeability, food effect	Соответствие требованиям регуляторных органов (FDA/EMA) Compliance with regulatory requirements (FDA/EMA)
Вычислительная сложность Computational complexity	~10 дифференциальных уравнений, время расчета <1 минуты ~10 differential equations, computation time < 1 minute	>50 дифференциальных уравнений, время расчета 5–15 минут >50 differential equations, computation time 5–15 minutes	Требуются высокопроизводительные вычисления для популяционных исследований Requires high-performance computing for population studies

Построение базовой модели. Ввод необходимых компартментов, различных параметров в программное обеспечение.

Итеративная настройка параметров. Сравнение предсказаний модели с экспериментальными данными (например, концентрация в плазме). Корректировка параметров (например, клиренса, кажущегося объема распределения). Использование методов оптимизации (например, метод наименьших квадратов, байесовский анализ) [31, 32].

Проведение анализа чувствительности. Анализ влияния ключевых параметров на выходные данные (например, как изменение активности CYP3A4 влияет на площадь под фармакокинетической кривой). Выявление наиболее значимых параметров для дальнейшей валидации [33].

Валидация PBPK-модели. Для оценки адекватной предсказательной способности калиброванной ранее модели на данных, не участвовавших в процессе калибровки, требуется проведение внешней или внутренней валидации PBPK-модели.

К методам внутренней валидации относятся:

- кросс-валидация, предполагающая разделение исходного набора данных на обучающую и тестовую выборки;
- анализ остатков, направленный на выявление систематических отклонений в прогнозируемых значениях.

Внешняя валидация осуществляется с использованием независимых экспериментальных или клинических данных, включая сравнение с популяционными исследованиями (например, с учетом этнической принадлежности или возрастных различий), а также сравнение с альтернативными наборами данных, не связанных с исходной калибровкой. Такой подход позволяет оценить обобщающую способность модели и ее применимость в различных условиях.

Для количественной оценки точности PBPK-модели применяются графические и статистические методы. Среди графических подходов можно выделить сопоставление предсказанных и наблюдаемых концентраций (scatter plot), позволяющее визуально оценить степень согласованности данных, а также наложение предсказанных и экспериментальных фармакокинетических кривых, что дает возможность проверить соответствие динамики *in silico* и *in vivo*.

Количественная оценка включает расчет следующих статистических метрик:

- отношения площадей под фармакокинетическими кривыми (AUC ratio) – отношения предсказанного AUC к наблюдаемому, где допустимым считается диапазон 0,8–1,25, что соответствует общепринятым границам признания биоэквивалентности;
- среднеквадратической ошибки (Root Mean Square Error) – интегрального показателя общей ошибки модели;
- средней абсолютной ошибки (Mean Absolute Error) – более устойчивой к выбросам метрики, отражающей среднее отклонение предсказаний от реальных значений.

Для подтверждения надежности модели в клинически значимых подгруппах пациентов проводится дополнительная валидация с учетом специфических физиологических и патологических факторов. К таким группам относятся пациенты с нарушениями функции почек или печени, у которых изменены ключевые параметры элиминации, уязвимые, характеризующиеся возрастными или физиологическими особенностями фармакокинетики, и другие.

Нередко применяется частичная валидация на данных из публикаций или внутренних исследований для предварительной проверки (например, сравнение предсказанного профиля концентрации с данными здоровых добровольцев).

Проведение валидации в этих группах позволяет удостовериться в адекватности модели для прогнозирования фармакокинетики в реальных клинических условиях, включая пациентов с особыми характеристиками.

Квалификация PBPK-модели. На данном этапе необходимо продемонстрировать пригодность модели для конкретной цели (например, предсказания лекарственных взаимодействий или дозирования у особых популяций). Данный процесс является наиболее важным при включении физиологически обоснованного моделирования фармакокинетики в регистрационное досье для соответствия его требованиям зарубежных регуляторных органов.

При формировании отчетной документации PBPK следует четко описать применение разработанной модели модель (например, оценка лекарственных взаимодействий через CYP3A4) и установить критерии приемлемости.

При документировании структуры модели и параметров следует обратить внимание на описание всех уравнений, физиологических параметров, источников данных для параметров (опубликованные *in vitro*-эксперименты, клинические данные), а также обоснование упрощений (например, игнорирование метаболизма в кишечнике, если он минимален).

Верификация PBPK-модели. Данный процесс является частью квалификации и посвящен корректности структуры математической модели.

На данном этапе необходимо представить подробную информацию об используемых дифференциальных уравнениях и параметризации модели PBPK с соблюдением баланса массы и кровотока.

Для проверки корректности связей между компартментами необходимо проводить тестирование на предельных случаях (edge-case testing). Такой подход помогает выявить скрытые ошибки модели и оценить ее надежность за пределами стандартных сценариев. Например, необходимо проверить, как модель предсказывает фармакокинетику у пациен-

тов с почти отсутствующим (например, при тяжелой сердечной недостаточности) или чрезмерно высоким (физическая нагрузка, гипердинамическое состояние) печеночным кровотоком.

К методам верификации можно отнести сравнение с независимыми алгоритмами (например, запуск аналогичной модели в другом программном обеспечении для сравнения результатов) и использование эталонных данных регуляторных агентств (например, верификация на модели мидазолама как зондового субстрата CYP3A4)[1].

ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ PBPK-МОДЕЛИРОВАНИЯ

В настоящее время существует несколько ведущих программных платформ, каждая из которых обладает уникальными характеристиками и областями применения.

1. GastroPlus® (Simulations Plus, США) – одна из наиболее популярных коммерческих программ, разработанная компанией Simulations Plus. Она включает модули для моделирования всасывания, распределения, метаболизма и выведения (ADME) лекарственных средств. Программное обеспечение поддерживает интеграцию с данными *in vitro* и *in vivo*, что делает его востребованным в фармацевтической промышленности и регистрационных исследованиях.

2. Simcyp® PBPK Modeling & Simulation (Certara, США) – платформа, входящая в состав Certara PBPK Suite, широко используемая для прогнозирования фармакокинетики у различных популяций, включая особые группы пациентов (дети, беременные, лица с нарушениями функции печени и почек). Она отличается развитыми возможностями моделирования лекарственных взаимодействий и вариабельности ответа у разных пациентов.

3. PK-Sim® (разработчики – Open Systems Pharmacology) – открытая платформа, предоставляет инструменты для создания PBPK-моделей с возможностью учета индивидуальных физиологических параметров. PK-Sim активно используется в академических исследованиях благодаря своей гибкости и открытому исходному коду.

4. SimBiology (MathWorks, США) – приложение платформы для программирования MATLAB, которое позволяет создавать пользовательские PBPK-модели с использованием математического моделирования. Этот инструмент особенно полезен для исследователей, разрабатывающих сложные нестандартные модели, требующие программирования и глубокой настройки.

5. Mrgsolve (разработчики Kyle T Baron, США) – пакет в рамках свободной программной среды «R» (разработчики – R Core Team). Он предоставляет гибкую среду для построения, калибровки и симуляции механистических моделей, включая PBPK-моделирование. Является мощным инструментом для академических исследований и ранней разработки моделей, особенно когда нужна кастомизация. Незаменим для R-ориентированных проектов.

Помимо специализированных PBPK-платформ, модели физиологически обоснованного моделирования фармакокинетики могут быть реализованы с помощью универсального программного обеспечения для математического и фармакокинетического моделирования [например, SAAM II (Nanomath LLC, США), ADAPT (разработчики – David Z. D'Argenio, Alan Schumitzky, Xiaoning Wang, США) и др.]. Эти инструменты обеспечивают гибкость в построении сложных моделей, но требуют ручного кодирования дифференциальных уравнений и параметров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние десятилетия PBPK-моделирование превратилось из узкоспециализированного инструмента исследований в ключевую технологию, применяемую в доклинической и клинической разработке лекарств, регуляторной оценке и решении иных фармацевтических задач. Однако его эволюция далека от завершения. Будущее PBPK-моделирования связано с несколькими ключевыми направлениями, которые определят его роль в науке и медицине.

Современные методы искусственного интеллекта и машинного обучения смогут значительно расширить возможности PBPK-моделей. В будущем гибридные подходы, сочетающие классические механистические PBPK-модели с искусственным интеллектом, позволят создавать более точные и адаптивные системы для предсказания фармакокинетики у отдельных пациентов. PBPK-моделирование станет основой для создания «цифровых двойников» пациентов – виртуальных моделей, учитывающих индивидуальные анатомо-физиологические, генетические и патологические особенности. Это откроет новые возможности для персонализированного подбора доз, прогнозирования эффективности и токсичности терапии, особенно у уязвимых групп (дети, беременные, пациенты с полиморфизмами ферментов).

С развитием биологических препаратов, генной и клеточной терапии PBPK-модели будут адаптироваться для описания сложных процессов, таких как доставка мРНК, распределение моноклональных антител или поведение CAR-T-клеток. Это потребует интеграции новых модулей (например, иммунофармакокинетики) и учета дополнительных факторов (взаимодействие с иммунной системой, внутриклеточная динамика).

Упрощение процесса моделирования за счет автоматизированных платформ и облачных решений сделает PBPK-технологии доступными для более широкого круга исследователей. Это ускорит раз-

[1] European Medicines Agency. Compound Name: Midazolam. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/annex-3-simcyp-compound-summaries-midazolam_en.pdf. Accessed: 12.08.2025.

работку лекарств, снизит затраты на клинические испытания и позволит использовать PBPK-модели в реальном времени для поддержки врачебных решений.

По мере накопления опыта регуляторные органы будут расширять рекомендации по использованию PBPK-моделей. Критически важным станет развитие стандартов валидации, открытых баз данных и межлабораторных протоколов для обеспечения воспроизводимости результатов.

PBPK-моделирование находится на пороге новой эры, где его применение выйдет за рамки традиционной фармакокинетики, став неотъемлемой частью цифровой медицины, биотехнологий и прецизионной терапии. Дальнейший прогресс будет зависеть от междисциплинарного взаимодействия математиков, биоинформатиков, клиницистов и регуляторных органов. В перспективе такие технологии смогут не только предсказывать поведение лекарств в организме, но и стать основой для виртуальных клинических испытаний, что коренным образом изменит подход к разработке и применению лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Колбин А. С., Радаева К. С. Дозирование лекарственных средств в педиатрии: возможные подходы. *Вопросы современной педиатрии*. 2023;22(4):289–297. DOI: 10.15690/vsp.v22i4.2593. [Kolbin A. S., Radaeva K. S. Drug Dosing in Pediatrics: Possible Approaches. *Current Pediatrics*. 2023;22(4):289–297. (In Russ.). DOI: 10.15690/vsp.v22i4.2593.]
2. Teorell T. Kinetics of distribution of substances administered to the body. *Arch Intern Pharmacodyn*. 1937;57:205–240.
3. Himmelstein K. J., Lutz R. J. A review of the applications of physiologically based pharmacokinetic modeling. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. 1979;7(2):127–145. DOI: 10.1007/BF01059734.
4. Bischoff K. B., Dedrick R. L. , Zaharko D. S., Longstreth J. A. Methotrexate pharmacokinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1971;60(8):1128–1133. DOI: 10.1002/jps.2600600803.
5. Andersen M. E., Clewell H. J. 3rd, Gargas M. L., Smith F. A., Reitz R. H. Physiologically based pharmacokinetics and the risk assessment process for methylene chloride. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1987;87(2):185–205. DOI: 10.1016/0041-008x(87)90281-x.
6. Davis N. R., Mapleson W. W. A physiological model for the distribution of injected agents, with special reference to pethidine. *British Journal of Anaesthesia*. 1993;70(3):248–258. DOI: 10.1093/bja/70.3.248.
7. Benowitz N., Forsyth R. P., Melmon K. L., Rowland M. Lidocaine disposition kinetics in monkey and man; I. Prediction by a perfusion model. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1974;16(1):87–98. DOI: 10.1002/cpt1974161part187.
8. Liu F., Zhuang X., Yang C., Li Z., Xiong S., Zhang Z., Li J., Lu C., Zhang Z. Characterization of preclinical *in vitro* and *in vivo* ADME properties and prediction of human PK using a physiologically based pharmacokinetic model for YQA-14, a new dopamine D_3 receptor antagonist candidate for treatment of drug addiction. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 2014;35(5):296–307. DOI: 10.1002/bdd.1897.
9. Mörk A.-K., Johanson G. Chemical-specific adjustment factors for intraspecies variability of acetone toxicokinetics using a probabilistic approach. *Toxicological Sciences*. 2010;116(2):336–348. DOI: 10.1093/toxsci/kfq116.
10. Chetty M., Johnson T. N., Polak S., Salem F., Doki K., Rostami-Hodjegan A. Physiologically based pharmacokinetic modelling to guide drug delivery in older people. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2018;135:85–96. DOI: 10.1016/j.addr.2018.08.013.
11. Small B. G., Hatley O., Jamei M., Gardner I., Johnson T. N. Incorporation and performance verification of hepatic portal blood flow shunting in minimal and full PBPK models of liver cirrhosis. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2023;114(6):1264–1273. DOI: 10.1002/cpt.3032.
12. Heimbach T., Chen Y., Chen J., Dixit V., Parrott N., Peters S. A., Poggesi I., Sharma P., Snoeys J., Shebley M., Tai G., Tse S., Upreti V. V., Wang Y. H., Tsai A., Xia B., Zheng M., Zhu A. Z. X., Hall S. Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling in Renal and Hepatic Impairment Populations: A Pharmaceutical Industry Perspective. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2021;110(2):297–310. DOI: 10.1002/cpt.2125.
13. Yang C.-G., Chen T., Si W.-T., Wang A.-H., Ren H.-C., Wang L. High-performance PBPK model for predicting CYP3A4 induction-mediated drug interactions: a refined and validated approach. *Frontiers in Pharmacology*. 2025;16:1521068. DOI: 10.3389/fphar.2025.1521068.
14. Lang J., Vincent L., Chenel M., Ogungbenro K., Galetin A. Reduced physiologically-based pharmacokinetic model of dabigatran etexilate-dabigatran and its application for prediction of intestinal P-gp-mediated drug-drug interactions. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021;165:105932. DOI: 10.1016/j.ejps.2021.105932.
15. Zhuang X., Lu C. PBPK modeling and simulation in drug research and development. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2016;6(5):430–440. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.04.004.
16. Scotcher D., Melillo N., Tadimalla S., Darwich A. S., Ziemian S., Ogungbenro K., Schütz G., Sourbron S., Galetin A. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Transporter-Mediated Hepatic Disposition of Imaging Biomarker Gadoxetate in Rats. *Molecular Pharmaceutics*. 2021;18(8):2997–3009. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.1c00206.
17. Mu R.-J., Liu T.-L., Liu X.-D., Liu L. PBPK-PD model for predicting morphine pharmacokinetics, CNS effects and naloxone antagonism in humans. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2024;45(8):1752–1764. DOI: 10.1038/s41401-024-01255-2.
18. Bloomingdale P., Bumbaca-Yadav D., Sugam J., Grauer S., Smith B., Antonenko S., Judo M., Azadi G., Yee K. L. PBPK-PD modeling for the preclinical development and clinical translation of tau antibodies for Alzheimer's disease. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:867457. DOI: 10.3389/fphar.2022.867457.
19. Liu X., Wang W., Chen J., Chen D., Tao Y., Ouyang D. PBPK/PD modeling of nifedipine for precision medicine in pregnant women: enhancing clinical decision-making for optimal drug therapy. *Pharmaceutical Research*. 2024;41(1):63–75. DOI: 10.1007/s11095-023-03638-2.
20. Toshimoto K. Beyond the basics: A deep dive into parameter estimation for advanced PBPK and QSP models. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2024;56:101011. DOI: 10.1016/j.dmpk.2024.101011.
21. Geerts H., Walker M., Rose R., Bergeler S., van der Graaf P. H., Schuck E., Koyama A., Yasuda S., Hussein Z., Reyderman L., Swanson C., Cabal A. A combined physiologically-based pharmacokinetic and quantitative systems pharmacolo-

gy model for modeling amyloid aggregation in Alzheimer's disease. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2023;12(4):444–461. DOI: 10.1002/psp4.12912.
22. Jones H. M., Gardner I. B., Collard W. T., Stanley P. J., Oxley P., Hosea N. A., Plowchalk D., Gernhardt S., Lin J., Dickins M., Rahavendran S. R., Jones B. C., Watson K. J., Pertinez H., Kumar V., Cole S. Simulation of human intravenous and oral pharmacokinetics of 21 diverse compounds using physiologically based pharmacokinetic modelling. *Clinical Pharmacokinetics*. 2011;50(5):331–347. DOI: 10.2165/11539680-000000000-00000.
23. Jones H. M., Rowland- Yeo K. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2013;2(8):1–12. DOI: 10.1038/psp.2013.41.
24. Maza D. D.-A, Olukotun S. F., Akinlade G. O. A Human Physiologically-based Bio-kinetic Model for Cadmium. *American Journal of Mathematical and Computer Modelling*. 2021;6(1):9–13. DOI: 10.11648/j.ajmcm.20210601.12.
25. Jamei M., Turner D., Yang J., Neuhoff S., Polak S., Rostami-Hodjegan A., Tucker G. Population-based mechanistic prediction of oral drug absorption. *The AAPS Journal*. 2009;11(2):225–237. DOI: 10.1208/s12248-009-9099-y.
26. Willmann S., Schmitt W., Keldenich J., Lippert J., Dressman J. B. A physiological model for the estimation of the fraction dose absorbed in humans. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004;47(16):4022–4031. DOI: 10.1021/jm030999b.
27. Amidon G. L., Lennernäs H., Shah V. P., Crison J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*. 1995;12(3):413–420. DOI: 10.1023/a:1016212804288.
28. Lawrence X. Y., Lipka E., Crison J. R., Amidon G. L. Transport approaches to the biopharmaceutical design of oral drug delivery systems: prediction of intestinal absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1996;19(3):359–376. DOI: 10.1016/0169-409x(96)00009-9.
29. Lawrence X. Y., Amidon G. L. A compartmental absorption and transit model for estimating oral drug absorption. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999;186(2):119–125. DOI: 10.1016/s0378-5173(99)00147-7.
30. Noyes A. A., Whitney W. R. The rate of solution of solid substances in their own solutions. *Journal of the American Chemical Society*. 1897;19(12):930–934. DOI: 10.1021/ja02086a003.
31. Elmokadem A., Zhang Y., Knab T., Jordie E., Gillespie W. R. Bayesian PBPK modeling using r/stan/torsten and julia/sciml/turing.jl. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2023;12(3):300–310. DOI: 10.1002/psp4.12926.
32. Dadashova K., Smith R. C., Haider M. A., Reich B. J. Bayesian inference informed by parameter subset selection for a minimal PBPK brain model. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 2025;383(2292):20240219. DOI: 10.1098/rsta.2024.0219.
33. Najjar A., Hamadeh A., Krause S., Schepky A., Edginton A. Global sensitivity analysis of Open Systems Pharmacology Suite physiologically based pharmacokinetic models. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2024;13(12):2052–2067. DOI: 10.1002/psp4.13256.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.214.21

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2059

Check for updates

CC BY 4.0

Влияние хромонсодержащего производного аллилморфолина на поведение и температуру мелких лабораторных животных в условиях стресса

Н. С. Курмазов[1, 2], Ю. И. Сысоев[3]✉, Д. Д. Шиц[4], М. М. Пучик[4], Н. В. Петров[1], И. А. Титович[1], С. В. Оковитый[1, 2]

[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 учреждение науки Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой Российской академии наук (ИМЧ РАН). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 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 образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (ФГБОУ ВО СПбГУ). Институт трансляционной биомедицины. 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9, пом. 1050

✉ **Контактное лицо:** Сысоев Юрий И. **E-mail:** susoyev92@mail.ru

ORCID: Н. С. Курмазов – https://orcid.org/0000-0001-7212-6903;
Ю. И. Сысоев – https://orcid.org/0000-0003-4199-5318;
Д. Д. Шиц – https://orcid.org/0009-0007-3804-0197;
М. М. Пучик – https://orcid.org/0000-0003-1281-4354;
Н. В. Петров – https://orcid.org/0009-0005-8155-3719;
И. А. Титович – https://orcid.org/0000-0002-1343-4663;
С. В. Оковитый – https://orcid.org/0000-0003-4294-5531.

Статья поступила: 18.03.2025 **Статья принята в печать:** 13.10.2025 **Статья опубликована:** 17.10.2025

Резюме

Введение. Хромонсодержащие производные аллилморфолина (ПАМ) – новая группа биологически активных соединений с предполагаемой психотропной активностью. В серии экспериментов на рыбах *Danio rerio* ПАМ продемонстрировали выраженный дозозависимый седативный эффект, а соединение 33a в малых дозах оказывало анксиолитическое действие в тесте «Новый аквариум». Проведенный методом фармакоэнцефалографии скрининг другой молекулы из ряда ПАМ, 33b, продемонстрировал сходство ее эффектов в отношении ЭЭГ с дофаминоблокатором сульпиридом и антигистаминным средством хлоропирамином. На основании результатов этого прогноза можно предположить у молекулы седативное и антипсихотическое действие.

Цель. Изучение фармакологической активности соединения 33b в тестах на эмоционально-тревожное поведение у мышей, а также в тесте «Стрессиндуцированная гипертермия» у крыс.

Материалы и методы. Оценку фармакологической активности 33b проводили в тестах «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Темно-светлая камера» (ТСК) на самцах и самках беспородных белых мышей, а также в тесте «Стрессиндуцированная гипертермия» на самцах крыс линии Wistar.

Результаты и обсуждение. В тестах ОП, ПКЛ и ТСК введение 33b в дозах 50 и 80 мг/кг приводило к стойкому снижению числа стоек и у самок, и у самцов. Снижение локомоторной активности в тесте ОП оставалось на уровне тенденции. Угнетение вертикальной активности у самцов происходило при введении меньших доз 33b, чем у самок. Данных об анксиолитическом действии молекулы в данных тестах получено не было. В тесте «Стрессиндуцируемая гипертермия» у крыс наблюдали выраженное снижение температуры тела при введении 33b в дозе 60 мг/кг.

Заключение. Полученные данные продемонстрировали умеренное седативное действие соединения 33b, при этом чувствительность самцов к действию молекулы была выше. В тесте на крысах для изучаемого ПАМ было показано гипотермическое действие в условиях стресса, что может быть подтверждением его дофаминоблокирующего действия. Это позволяет рассматривать вещество 33b из группы хромонсодержаших аллилморфолинов перспективным соединением для дальнейших исследований в качестве потенциального антипсихотического средства.

© Курмазов Н. С., Сысоев Ю. И., Шиц Д. Д., Пучик М. М., Петров Н. В., Титович И. А., Оковитый С. В., 2025
© Kurmazov N. S., Sysoev Yu. I., Shitc D. D., Puchik M. M., Petrov N. V., Titovich I. A., Okovityi S. V., 2025

Ключевые слова: аллилморфолины, открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт, темно-светлая камера, стрессиндуцированная гипертермия, мыши, крысы

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

Вклад авторов. Н. С. Курмазов, Ю. И. Сысоев – идея и планирование эксперимента. Н. С. Курмазов, Д. Д. Шиц, М. М. Пучик, Н. В. Петров, И. А. Титович – проведение экспериментов и обработка данных. Н. С. Курмазов, Д. Д. Шиц – подготовка иллюстраций. Н. С. Курмазов, Ю. И. Сысоев, М. М. Пучик, И. А. Титович, С. В. Оковитый – подготовка и редактура рукописи.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-75-01051.

Для цитирования: Курмазов Н. С., Сысоев Ю. И., Шиц Д. Д., Пучик М. М., Петров Н. В., Титович И. А., Оковитый С. В. Влияние хромонсодержащего производного аллилморфолина на поведение и температуру мелких лабораторных животных в условиях стресса. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):195–207. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2059

Effect of the chromone-containing derivative allylmorpholine on behavior and temperature of small laboratory animals under stress conditions

Nikita S. Kurmazov[1, 2], Yuri I. Sysoev[3]✉, Daria D. Shitc[4], Maria M. Puchik[4], Nikita V. Petrov[1], Irina A. Titovich[1], Sergey V. Okovityi[1, 2]

[1] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[2] N. P. Behtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences. 9, Akademika Pavlova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[3] Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. 6, Makarova Embankment, Saint-Petersburg, 199034, Russia
[4] St. Petersburg State University. Institute of Translational Biomedicine. 7–9, Universitetskaya Embankment, Saint-Petersburg, 199034, Russia

✉ **Corresponding author:** Yuri I. Sysoev. **E-mail:** susoyev92@mail.ru

ORCID: Nikita S. Kurmazov – https://orcid.org/0000-0001-7212-6903;
Yuri I. Sysoev – https://orcid.org/0000-0003-4199-5318;
Daria D. Shitc – https://orcid.org/0009-0007-3804-0197;
Maria M. Puchik – https://orcid.org/0000-0003-1281-4354;
Nikita V. Petrov – https://orcid.org/0009-0005-8155-3719;
Irina A. Titovich – https://orcid.org/0000-0002-1343-4663;
Sergey V. Okovityi – https://orcid.org/0000-0003-4294-5531.

Received: 18.03.2025 **Accepted:** 13.10.2025 **Published:** 17.10.2025

Abstract

Introduction. Chromone-containing allylmorpholine derivatives (PAMs) are a new group of biologically active compounds with putative psychotropic activity. In a series of experiments on *Danio rerio*, PAMs demonstrated a pronounced dose-dependent sedative effect, and compound 33a at low doses exerted anxiolytic effects in the Novel tank test. Screening by pharmacoencephalography of another molecule from the PAM series, 33b, demonstrated similarity of its effects on EEG with the dopamine blocker sulpiride and the antihistamine agent chloropyramine. Based on the results of this prediction, the molecule can be hypothesized to have sedative and antipsychotic effects.

Aim. To study the pharmacological activity of compound 33b in tests for exploratory and anxiety behavior in mice, as well as in the test "Stress-induced hyperthermia" in rats.

Materials and methods. The pharmacological activity of 33b was evaluated in the Open Field (OF), Elevated Plus Maze (EPM), Light-Dark Box test (LDB) tests in male and female mice, as well as in the Stress-Induced Hyperthermia test in male Wistar rats.

Results and discussion. In the OF, EPM and LDB tests, the studied compound 33b at doses of 50 and 80 mg/kg resulted in a persistent decrease in the number of stance in both females and males. The decrease in locomotor activity in the OF test remained at trend level without statistical significance. Suppression of vertical activity in males occurred when lower doses of 33b were administered than in females. No data on the anxiolytic action of the molecule in these tests were obtained. In the test "Stress-induced hyperthermia" a pronounced decrease in body temperature was observed in rats when 33b was administered at a dose of 60 mg/kg.

Conclusion. The data obtained demonstrated a moderate sedative effect of compound 33b, while the sensitivity of males to the action of the molecule was higher. In the test on rats for the studied PAM was shown hypothermic action under stress conditions, which may be a confirmation of its dopamine-blocking action. This allows us to consider substance 33b from the group of chromone-containing allylmorpholines as a promising compound for further studies as a potential antipsychotic agent.

Keywords: allylmorpholines, open field test, elevated plus maze, light-dark box, stress-induced hyperthermia, mice, 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. Nikita S. Kurmazov, Yuri I. Sysoev – the concept and planning of the study. Nikita S. Kurmazov, Daria D. Shitc, Maria M. Puchik, Nikita V. Petrov, Irina A. Titovich – conducting experiments and data processing. Nikita S. Kurmazov, Daria D. Shitc – illustration design. Nikita S. Kurmazov, Yuri I. Sysoev, Maria M. Puchik, Irina A. Titovich, Sergey V. Okovitiy – drafting and editing of the manuscript.

Funding. This work was supported by Russian Science Foundation grant 23-75-01051.

For citation: Kurmazov N. S., Sysoev Yu. I., Shitc D. D., Puchik M. M., Petrov N. V., Titovich I. A., Okovityi S. V. Effect of the chromone-containing derivative allylmorpholine on behavior and temperature of small laboratory animals under stress conditions. *Drug development & registration*. 2025;14(4):195–207. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2059

ВВЕДЕНИЕ

Хромонсодержащие производные аллилморфолина (ПАМ) – новая группа биологически активных соединений с предполагаемой психотропной активностью, синтезированных в Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете. При анализе фармакологического действия молекул данных соединений с помощью метода Эллмана была выявлена их способность к ингибированию ацетил- и бутирилхолинэстеразы, а также антагонистическое действие 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 тесте «Новый аквариум» [2], что значительно повысило интерес к изучению этих молекул. Многие производные морфолина обладают активностью в отношении широкого ряда фармакологических мишеней (различные подтипы ацетилхолиновых, гистаминовых, каннабиноидных, глутаматных, дофаминовых, аденозиновых и σ1-рецепторов, а также ферменты ацетил- и бутирилхолинэстераза). Это предполагает их способность оказывать влияние на течение ряда неврологических заболеваний, в особенности нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз, рассеянный склероз и др. [3]. Проведенный методом фармакоэнцефалографии (фармако-ЭЭГ) скрининг двух молекул из ряда ПАМ, 33a и 33b, продемонстрировал сходство их эффектов в отношении ЭЭГ с антипсихотическим препаратом сульпиридом и антигистаминным средством хлоропирамином. На основании результатов этого прогноза может предполагаться наличие у этих молекул не только противотревожного/седативного, но и антипсихотического действия [4].

Целью данной работы было изучение фармакологической активности молекулы 33b в тестах на эмоционально-тревожное поведение «Открытое поле» (ОП), «Темно-светлая камера» (ТСК), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), проводимых на самках и самцах мышей, а также в тесте «Стресс-индуцированная гипертермия», проводимом на самцах крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты с использованием лабораторных животных были выполнены в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европы от 22 сентября 2010 г., принципами Базельской декларации и рекомендацией Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 г. № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Протокол эксперимента был утвержден биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Были предприняты все меры для уменьшения числа используемых животных и минимизации их страданий.

Исследование было выполнено на 60 белых беспородных мышах-самцах и 60 мышах-самках возрастом 3 месяца и массой 20–22 г. Тест «Стресс-индуцированная гипертермия» был проведен на 33 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 3 месяцев и массой 250–300 г. Животные были получены из ФГУП НИЦ «Курчатовский институт» – питомник «Рапполово» (Россия). Все животные получали стандартный пищевой рацион (сухой полнорационный гранулированный экструдированный комбикорм, рецепт ПК-120, ООО «Лабораторкорм», Россия) и име-

ли свободный доступ к пище и воде. Перед началом экспериментов мыши и крысы прошли карантин в течение 14 суток.

Исследуемое вещество – (E)-4-[3-(8-бром-6-метил-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-1-циклогексилаллил]морфолин-4-ия хлорид (33b) (рисунок 1, А) – было синтезировано отделом синтеза СПХФУ по ранее опубликованной методике [1]. Для введения животным сухую навеску вещества растворяли в 20%-м растворе диметилсульфоксида в воде для инъекций. В тестах на мышах все инъекции осуществляли однократно внутрибрюшинно за 20 мин до тестирования в объеме 0,2 мл. Самкам соединение 33b вводили в дозах 20, 50 и 80 мг/кг; самцам – в дозах 5, 20 и 50 мг/кг. В дни последующих экспериментов мышей перераспределяли по группам во избежание накопительного эффекта 33b. Крысам соединение 33b вводили в дозах 30 и 60 мг/кг. Группа контрольных животных во всех тестах получала 20%-й раствор диметилсульфоксида в воде для инъекций.

Оценку влияния изучаемого соединения на поведение мышей (рисунок 1, В) проводили в тестах «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Темно-светлая камера» (ТСК) с ис-

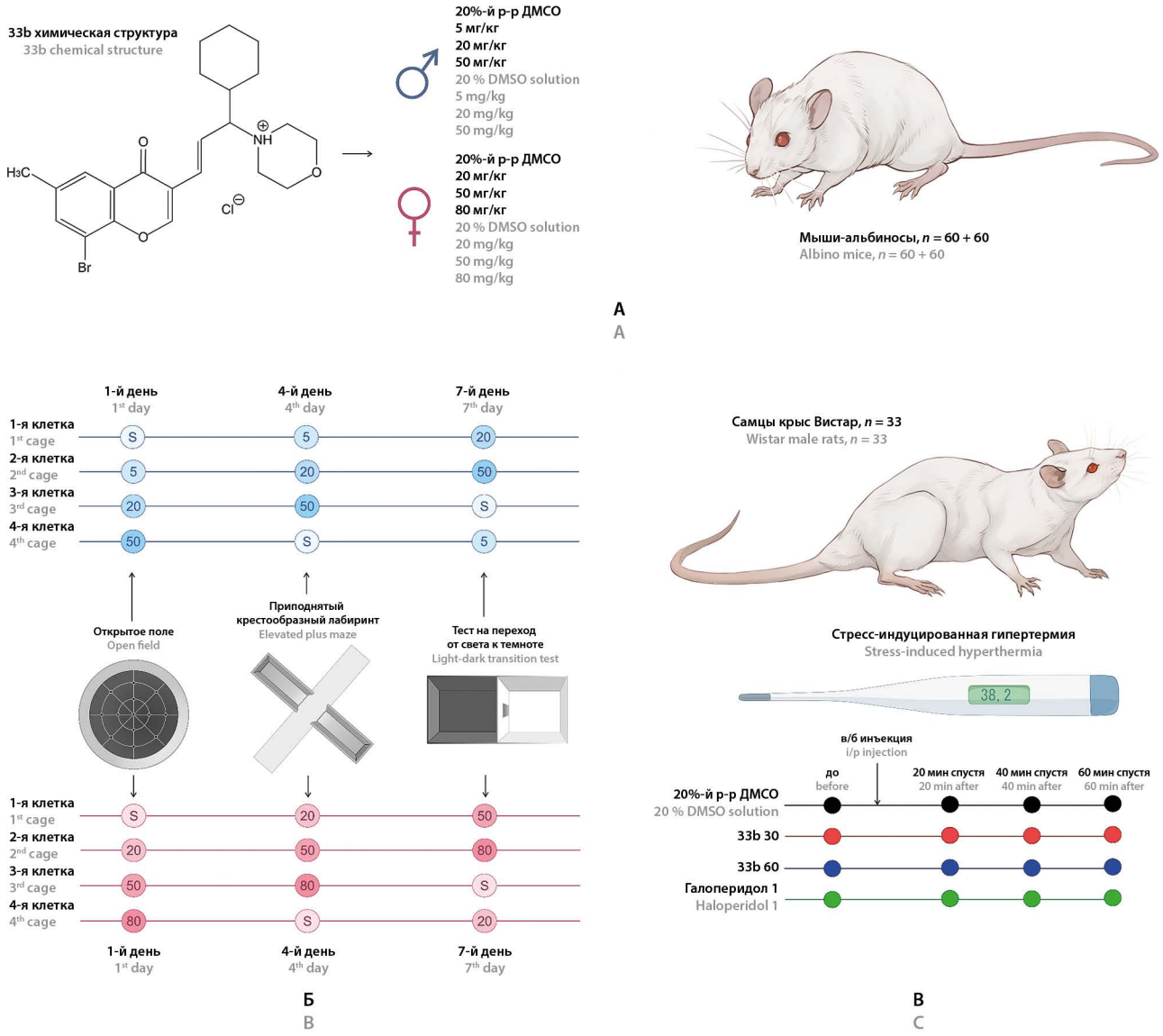


Рисунок 1. Дизайн эксперимента.

А – химическая структура и дозы изучаемого соединения 33b; Б – схема тестирования мышей в «Открытом поле», «Приподнятом крестообразном лабиринте» и «Темно-светлой камере»; В – схема тестирования крыс в тесте «Стрессиндуцируемая гипертермия»

Figure 1. Experimental design.

A – chemical structure and doses of compound 33b; B – mice testing protocol in the «Open Field», «Elevated Plus Maze» and «Light/Dark Chamber» tests; C – rats testing protocol in the «Stress-Induced Hyperthermia» test

пользованием соответствующих экспериментальных установок производства ООО «НПК Открытая Наука» (Россия). Запись экспериментов ОП, ПКЛ, ТСК осуществляли на протяжении 3 мин. В перерывах между записями арену протирали салфетками «Лизаксин» (США) для удаления следов предыдущего животного. Перерыв между разными тестами составлял не менее 3 суток.

В тесте ОП оценивали пройденную дистанцию (см), число пересеченных сегментов, среднюю скорость (см/с), время в центре (с), общее время замираний (с), 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 открытых (ОР) и закрытых рукавах (ЗР) лабиринта (с), число посещений ОР и ЗР, число грумингов, стоек, свешиваний с ОР и выглядываний из ЗР. Дополнительно рассчитывали индекс тревожности (ИТ) по формуле:

ИТ = 1 – [([время в ОР / общее время тестирования] +

[число посещений ОР / общее число посещений])/2].

В тесте ТСК оценивали латентное время посещения темной (ТК) и светлой камеры (СК) (с), время, проведенное в ТК/СК (с), число переходов, стоек, грумингов и выглядываний из ТК. Анализ видеозаписей проводили в полуавтоматическом режиме с использованием программы RealTimer 1.30 (ООО «НПК Открытая Наука», Россия).

Измерение температуры тела крыс в тесте «Стресс-индуцированная гипертермия» проводили ректально с использованием электронного термометра (KRUUSE, Дания) с точностью 0,1 °С. Наконечник термометра смазывали вазелином (ОАО «Самарамедпром», Россия) и погружали на глубину 2,5 см. Измерения проводили непосредственно перед инъекцией, а также через 20, 40 и 60 мин после инъекции. Температура воздуха в помещении во время тестирования составляла 21,5 ± 0,3 °С. В качестве препарата сравнения крысам вводили препарат галоперидол в дозе 1,0 мг/кг (рисунок 1, С).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программного обеспечения GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Software, 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 распределении, отличном от нормального, – 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. Статистически значимым считали отличия при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В тесте ОП в группе самок исследуемый агент при концентрациях 50 и 80 мг/кг достоверно снижал количество стоек ($p < 0,01$) и актов груминга ($p < 0,05$). Помимо этого, доза 80 мг/кг способствовала снижению числа заглядываний в норки ($p < 0,01$) (рисунок 2).

В группе самцов введение раствора 33б в концентрации 80 мг/кг сопровождалось снижением числа стоек ($p < 0,01$). Так, полученные как для самок, так и для самцов результаты свидетельствуют об угнетении вертикальной активности (рисунок 3).

По результатам теста ПКЛ в экспериментальной группе самок 33б в дозе 80 мг/кг снижал количество стоек ($p < 0,01$) (рисунок 4). При остром введении дозы 50 мг/кг самцам также отмечается заметное угнетение вертикальной активности, о чем свидетельствует уменьшение числа стоек ($p < 0,05$), и, помимо этого, значительно снижается количество актов груминга ($p < 0,01$) (рисуноки 5). Однократное введение 33б мышам не оказывало влияния на их уровень тревожности, выраженный индексом тревожности (рисунок 6).

В тесте ТСК отмечалось снижение числа стоек и переходов между камерами в группе самок в концентрации вещества 80 мг/кг ($p < 0,01$). Кроме того, введение дозы 50 мг/кг самкам сопровождалось снижением числа выглядываний из темной камеры ($p < 0,05$) и, напротив, увеличением актов груминга ($p < 0,05$). Концентрации 50 и 80 мг/кг способствовали снижению латентного времени до первого перехода из темной в светлую камеру (рисунок 7).

В группе самцов при концентрации вещества 20 и 50 мг/кг аналогичным образом наблюдалось снижение количества стоек ($p < 0,01$), а также числа переходов ($p < 0,01$) в дозе 50 мг/кг (рисунок 8).

Введение крысам 33b в дозе 60 мг/кг приводило к выраженному снижению температуры относительно контрольной группы в каждой из исследованных временных точек ($p < 0,01$, рисунок 8). Антипсихотический препарат галоперидол в дозе 1 мг/кг оказывал достоверный гипотермический эффект только через 40 мин после инъекции ($p < 0,05$) (рисунок 9).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании была выполнена оценка эмоционально-тревожного поведения самок и самцов мышей в классических тестах ОП, ПКЛ и ТСК при остром введении соединения 33b в трех дозах. Среди всех измеряемых показателей наиболее чувствительным оказался показатель количества стоек как у самцов, так и у самок. Изучаемое соединение дозо-

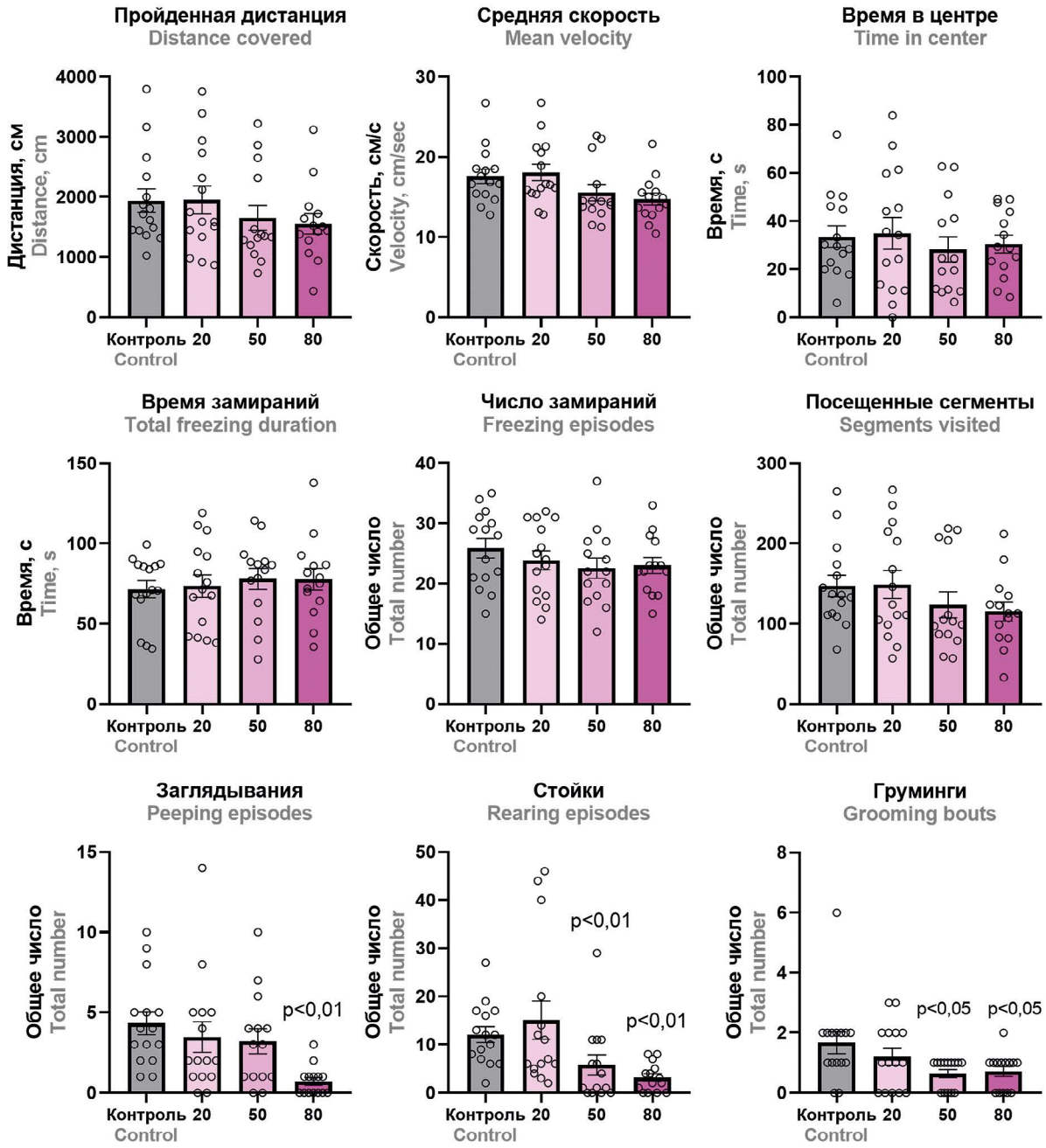


Рисунок 2. Результаты оценки поведения мышей-самок в тесте «Открытое поле». Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Данна или критерию Даннета для значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса или ANOVA соответственно), $n = 14–15$

Figure 2. Behavioral assessment of female mice in the Open Field test. Doses are presented in mg/kg. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunn's or Dunnett's post-hoc test for significant differences by Kruskal – Wallis test or ANOVA, respectively), $n = 14–15$

зависимо подавляло вертикальную активность животных, при этом снижение локомоторной активности оставалось на уровне тенденции: у самцов в дозе 50 мг/кг, $p = 0,0518$ (рисунок 2, средняя скорость); у самок в дозе 80 мг/кг, $p = 0,0506$ (рисунок 3, средняя скорость). Данный эффект не является специфичным, а скорее отражает умеренное угнетение ЦНС, так как известно, что вне зависимости от механизма действия различные препараты, угнетающие работу ЦНС, по мере повышения дозы в первую очередь снижают число стоек и грумингов, а уже затем локомоторную активность животных [5]. Снижение числа переходов между камерами в тесте ТСК у самцов в дозе 50 мг/кг (рисунок 7) и самок в дозе 80 мг/кг (рисунок 8) также свидетельствует об умеренной седации, вызванной 33b в данных дозах.

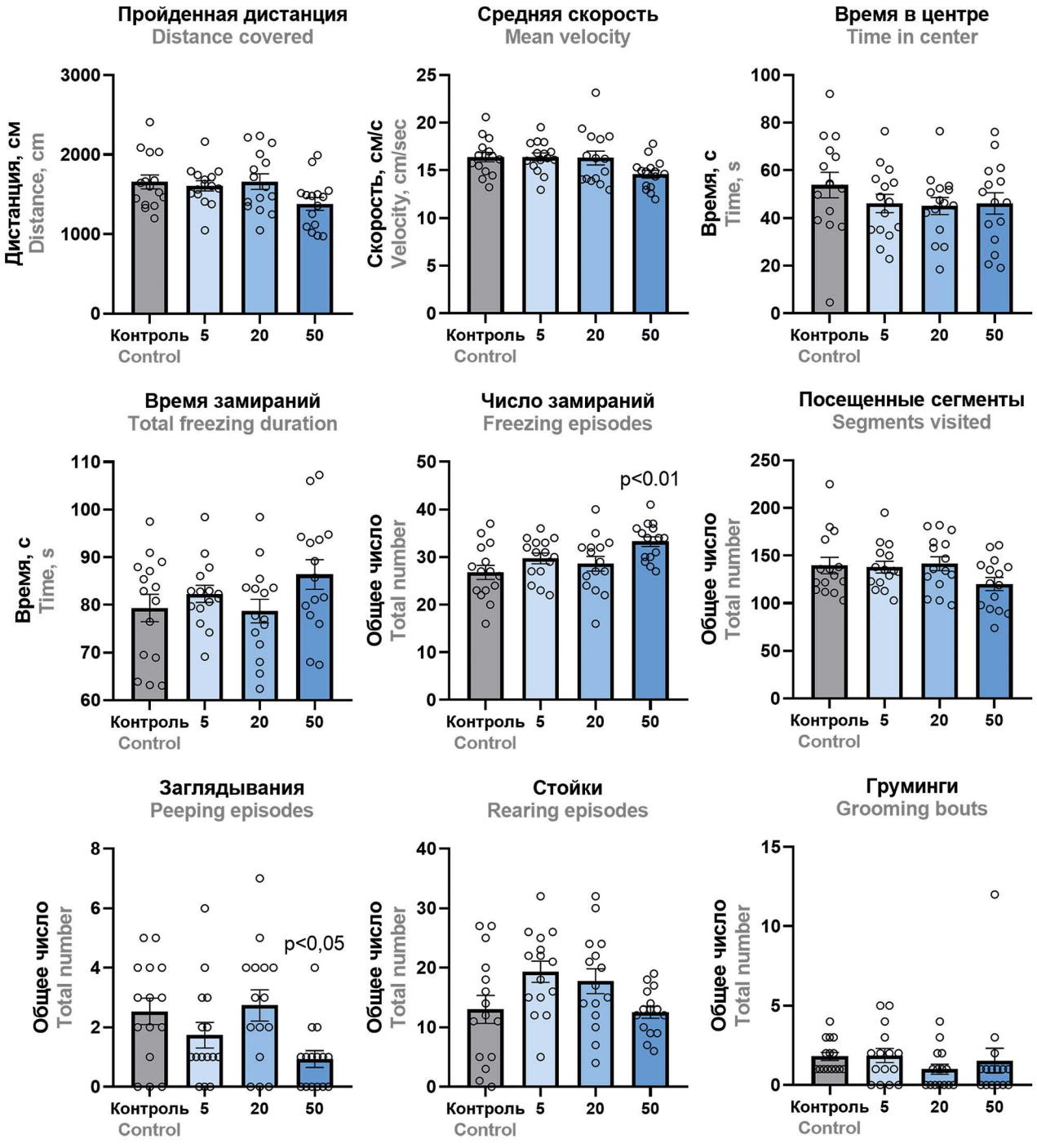


Рисунок 3. Результаты оценки поведения мышей-самцов в тесте «Открытое поле». Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Данна или критерию Даннета для значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса или ANOVA соответственно), $n = 15$

Figure 3. Behavioral assessment of male mice in the Open Field test. Doses are presented in mg/kg. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunn's or Dunnett's post-hoc test for significant differences by Kruskal – Wallis test or ANOVA, respectively), $n = 15$

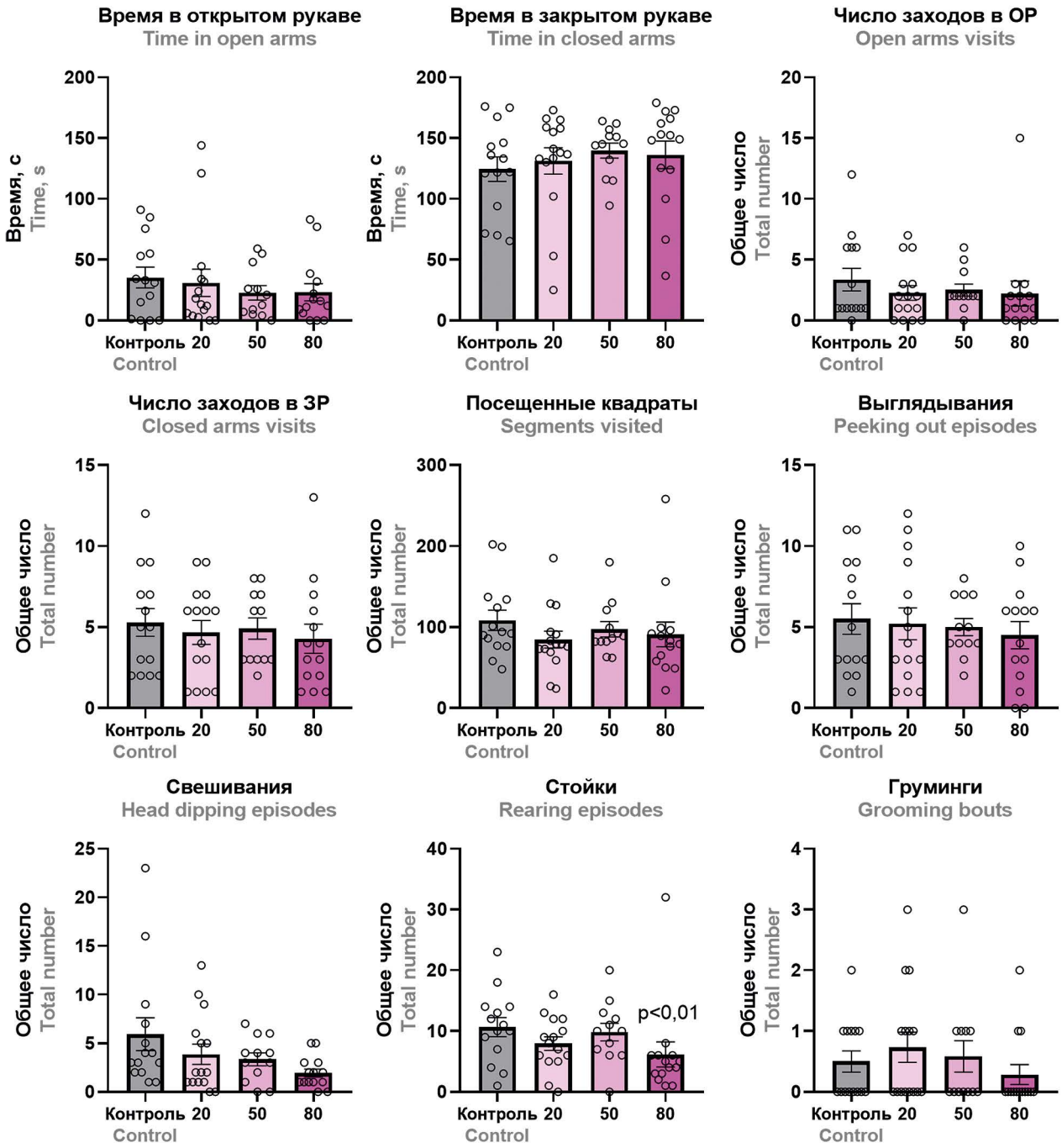


Рисунок 4. Результаты оценки поведения мышей-самок в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Данна или критерию Даннета для значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса или ANOVA соответственно), $n = 12–15$

Figure 4. Behavioral assessment of female mice in the Elevated Plus Maze test. Doses are presented in mg/kg. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunn's or Dunnett's post-hoc test for significant differences by Kruskal – Wallis test or ANOVA, respectively), $n = 12–15$

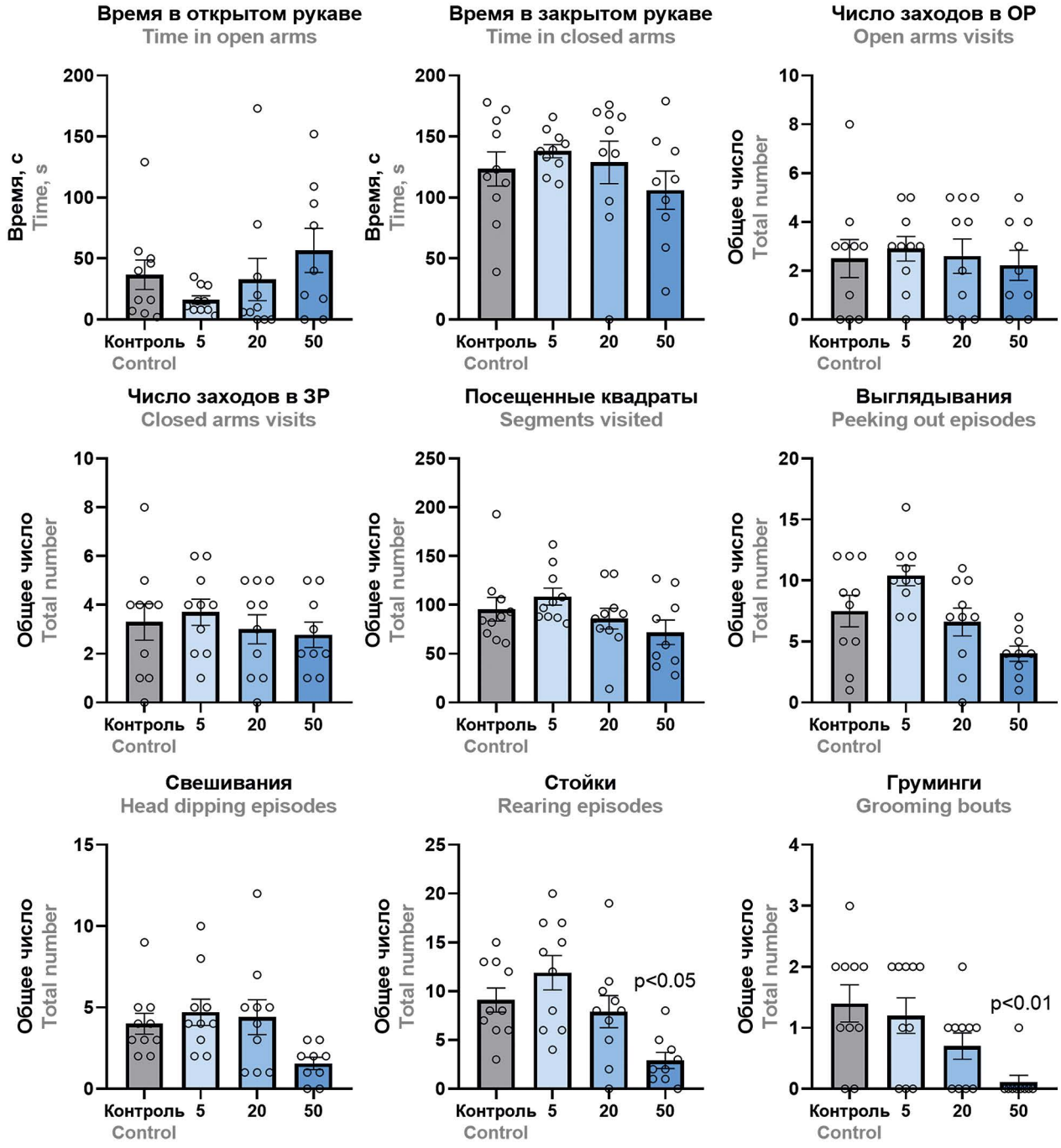


Рисунок 5. Результаты оценки поведения мышей-самцов в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Данна или критерию Даннета для значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса или ANOVA соответственно), $n = 9–10$

Figure 5. Behavioral assessment of male mice in the Elevated Plus Maze test. Doses are presented in mg/kg. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunn's or Dunnett's post-hoc test for significant differences by Kruskal – Wallis test or ANOVA, respectively), $n = 9–10$

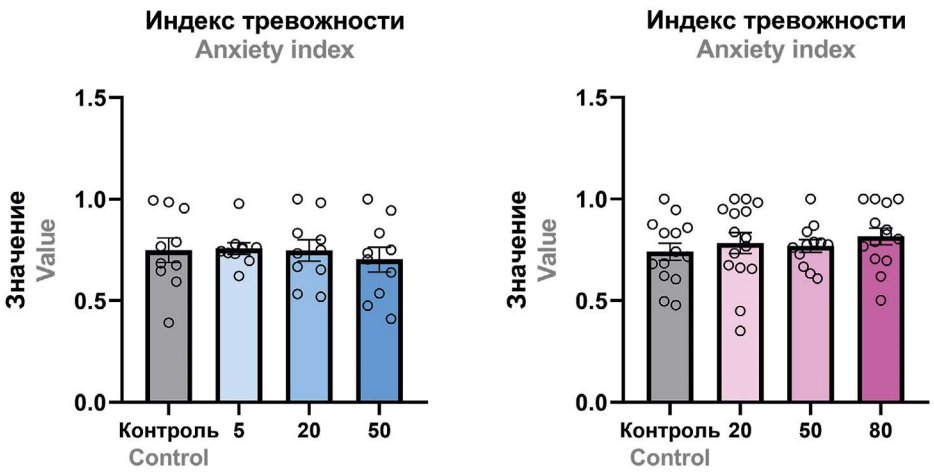


Рисунок 6. Индекс тревожности самцов (слева) и самок (справа) мышей, рассчитанный по результатам теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Данна или критерию Даннета для значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса или ANOVA соответственно)

Figure 6. Anxiety index of male (left) and female (right) mice computed based on the Elevated Plus Maze test. Doses are presented in mg/kg. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunn's or Dunnett's post-hoc test for significant differences by Kruskal – Wallis test or ANOVA respectively)

Ни при тестировании самок, ни при тестировании самцов у 33b не было выявлено каких-либо поведенческих эффектов, которые могли бы свидетельствовать о наличии анксиолитического действия. Это может быть, с одной стороны, связано с отсутствием данной активности у вещества, но также и с несоответствием диапазона эффективных доз, использованных при тестировании. Кроме того, на результат мог повлиять выбор линии тестируемых животных [6, 7] и, наконец, недостаточность чувствительности используемых тестов. Так, было показано, что не все препараты с анксиолитическим действием проявляют свой эффект в тесте ПКЛ [8].

Известно, что чувствительность к психотропным препаратам может быть различна у самок и самцов [9]. В целом в моделях на мышах у самок тревожное поведение проявляется в меньшей степени, чем у самцов, что может быть связано с модуляцией ГАМК- и серотонинергических связей головного мозга под действием женских половых гормонов [10]. В настоящей работе мы сравнили чувствительность самок и самцов к действию соединения 33b. При использовании дозы 20 мг/кг у самок не наблюдалось отличий от контроля ни в одном из тестов, в то время как у самцов при данной дозе снижалось число стоек в тесте ТСК (рисунок 8). Доза 50 мг/кг в немного большей степени оказала влияние на поведение мышей-самцов, чем самок. Исходя из этого, можно заключить, что чувствительность самцов к эффектам соединения 33b несколько выше, следовательно, при дальнейших исследованиях данной молекулы и разработке препарата на его основе следует учитывать эти различия.

На основании проведенного ранее фармако-ЭЭГ-скрининга двух молекул из ряда хромонсодержащих аллилморфолинов, 33a и 33b, мы предположили для них наличие дофаминоблокирующего действия. Тест «Стрессиндуцируемая гипертермия» был предназначен для подтверждения этого прогноза для молекулы 33b. Известно, что многие антипсихотические препараты оказывают гипотермическое действие в этом тесте [11]. При введении 33b крысам в дозе 60 мг/кг мы наблюдали выраженный эффект в виде снижения ректальной температуры (рисунок 8), что прямо согласуется с данными ранее проведенного фармако-ЭЭГ-прогноза. Вероятная активность молекулы в отношении дофаминовых рецепторов может быть обусловлена структурными свойствами хромона. Так, для некоторых хромонсодержащих соединений, в частности 3-(4-пиперазинобутил)хромонов, было показано взаимодействие с D3-дофаминовыми рецепторами [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, соединение 33b демонстрирует умеренный седативный эффект в дозах 50 и 80 мг/кг, подавляя вертикальную активность у мышей обоих полов в тестах ОП, ПКЛ и ТСК. Установлено, что чувствительность к действию молекулы выше у мышей-самцов. Потенциальное дофаминоблокирующее действие, продемонстрированное в тесте «Стрессиндуцированная гипертермия» у крыс, может свидетельствовать об антипсихотических свойствах и поэтому заслуживает отдельного внимания и исследования в специальных поведенческих тестах, таких как «Вертикализация, вызванная апоморфином» и «Зевание, вызванное апоморфином».

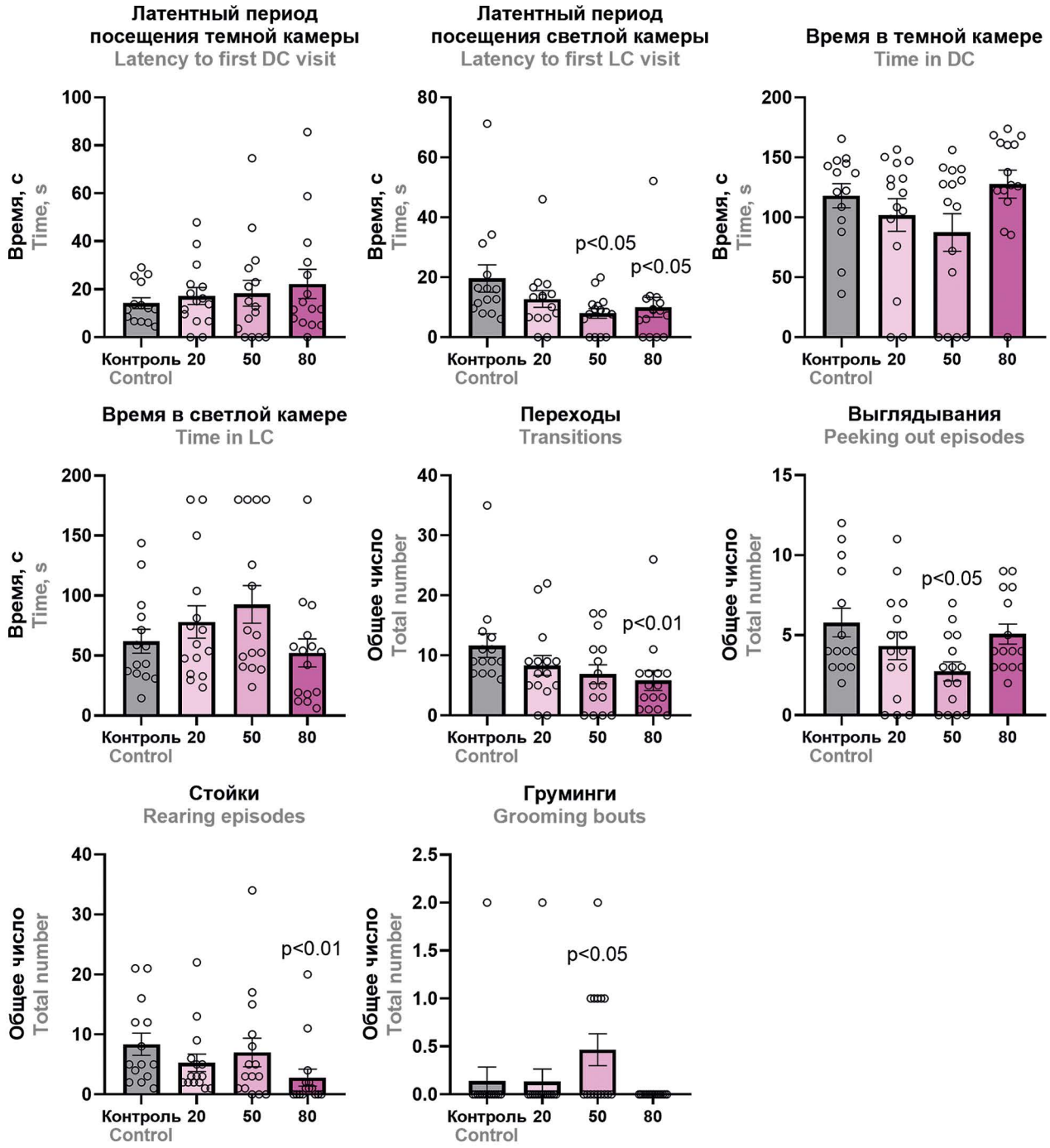


Рисунок 7. **Результаты оценки поведения мышей-самок в тесте «Темно-светлая камера». Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Данна или критерию Даннета для значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса или ANOVA соответственно), $n = 14–15$**

Figure 7. **Behavioral assessment of female mice in the Light-Dark Box test. LC – light chamber, DC – dark chamber. Doses are presented in mg/kg. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunn's or Dunnett's post-hoc test for significant differences by Kruskal – Wallis test or ANOVA, respectively), $n = 14–15$**

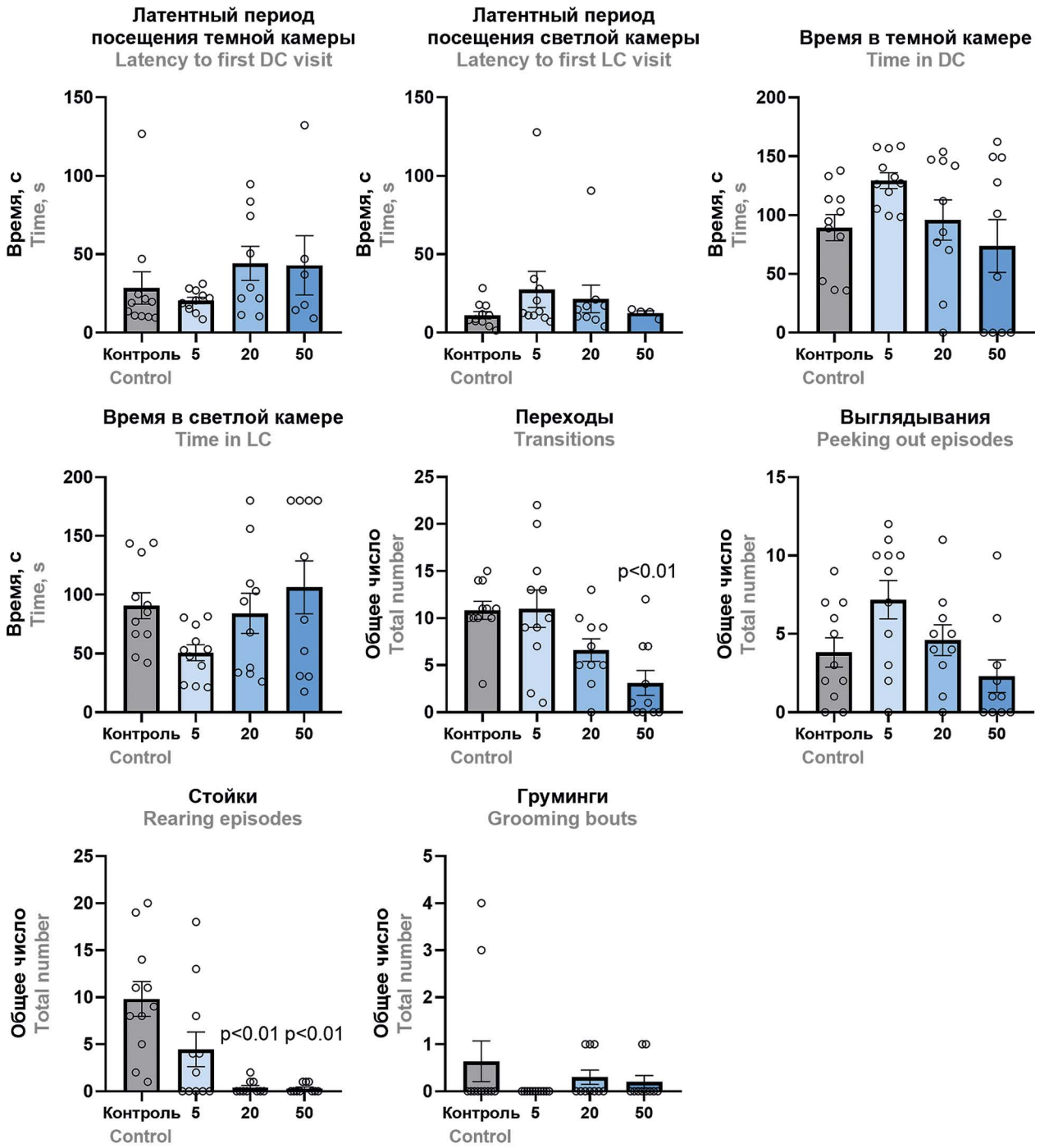


Рисунок 8. Результаты оценки поведения мышей-самцов в тесте «Темно-светлая камера». Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Данна или критерию Даннета для значимых различий по критерию Краскела – Уоллиса или ANOVA соответственно), $n = 10–11$

Figure 8. Behavioral assessment of male mice in the Light-Dark Box test. LC – light chamber, DC – dark chamber. Doses are presented in mg/kg. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunn's or Dunnett's post-hoc test for significant differences by Kruskal – Wallis test or ANOVA, respectively), $n = 10–11$

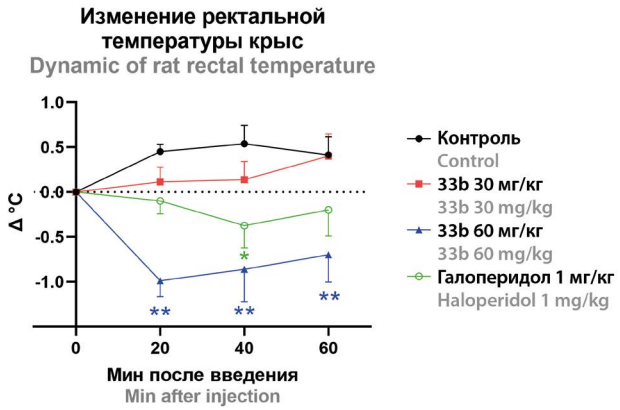


Рисунок 9. Результаты оценки ректальной температуры крыс после введения исследуемого вещества. Статистически значимая разница $p < 0,05$ или $p < 0,01$ указана по сравнению с контрольной группой (по критерию Даннета для значимых различий по критерию ANOVA), $n = 8–9$

Figure 9. Rectal temperature assessment of rats after substance administration. Statistically significant difference $p < 0.05$ or $p < 0.01$ is presented compared to the control group (by Dunnett's post-hoc test for significant differences by ANOVA), $n = 8–9$

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. 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.
2. Prikhodko V. A., Sysoev Y. 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.
3. Приходько В. А., Сысоев Ю. И., Оковитый С. В. Возможность применения производных морфолина в качестве средств коррекции неврологических нарушений при заболеваниях нервной системы. *Формулы Фармации*. 2020;2(1):16–35. DOI: 10.17816/phf21381. [Prikhodko V. A., Sysoev Y. I., Okovityi S. V. Morpholine derivatives as potential agents for neurological manifestations of nervous system diseases. *Pharmacy Formulas*. 2020;2(1):16–35. (In Russ.) DOI: 10.17816/phf21381.]
4. Курмазов Н. С., Фёдорова Е. В., Матузок Т. М., Пучик М. М., Шиц Д. Д., Сысоев Ю. И., Оковитый С. В. Фармакоэнцефалографическое исследование активности нового производного аллилморфолина. В сб.: Фундаментальная науки и клиническая медицина – человек и его здоровье. 20 апреля 2024. Санкт-Петербург: Издательский дом «Сциентиа»; 2024. 712–713 с. [Kurmazov N. S., Fedorova E. V., Matuzok T. M., Puchik M. M., Shits D. D., Sysoev Yu. I., Okovity S. V. Pharmacoencephalographic study of the activity of a new allylmorpholine derivative. In: Fundamental sciences and clinical medicine – man and his health. April 20, 2024. St. Petersburg: Publishing house "Scientia"; 2024. 712–713 p. (In Russ.)]
5. Garg M. The effects of some central nervous system stimulant and depressant drugs on rearing activity in rats. *Psychopharmacologia*. 1969;14(2):150–156. DOI: 10.1007/bf00403688.
6. Belzung C. The genetic basis of the pharmacological effects of anxiolytics: a review based on rodent models. *Behavioural Pharmacology*. 2001;12(6):451–460. DOI: 10.1097/00008877-200111000-00005.
7. Cryan J. F., Sweeney F. F. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery. *British Journal of Pharmacology*. 2011;164(4):1129–1161. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01362.x.
8. 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.
9. Kokras N., Dalla C. Sex differences in animal models of psychiatric disorders. *British Journal of Pharmacology*. 2014;171(20):4595–4619. DOI: 10.1111/bph.12710.
10. Donner N. C., Lowry C. A. Sex differences in anxiety and emotional behavior. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*. 2013;465(5):601–626. DOI: 10.1007/s00424-013-1271-7.
11. Boschi G., Launay N., Rips R. Neuroleptic-induced hypothermia in mice: lack of evidence for a central mechanism. *British Journal of Pharmacology*. 1987;90(4):745. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1987.tb11228.x.
12. Sokoloff P., Imbert T., Leriche L., Patoiseau J.-F., Rieu J.-P. Chromone derivatives, a process for their preparation and their therapeutic applications. United States patent US No. EP2470520B1. July 17, 2013. Available at: https://patents.google.com/patent/EP2470520B1/en?inventor=Pierre+Sokoloff. Accessed: 18.03.2025.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.32; 582.736

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2159

Check for updates

CC BY 4.0

Подострая токсичность, местнораздражающее и аллергизирующее действие экстракта копеечника Семенова (*Hedysarum semenowii* Regel & Herder)

А. С. Келеке[1], Л. Н. Ибрагимова[1]✉, З. Б. Сакипова[1], Р. И. Кулманбетов[1], Т. С. Нургожин[1], М. К. Сулейменов[1], Г. С. Ибадуллаева[1], А. Л. Ахелова[1], А. Ю. Гришина[2]

[1] Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова» (КазНМУ). 050012, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Толе Би, д. 94

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). Центр экспериментальной фармакологии. 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, литера А

✉ **Контактное лицо:** Ибрагимова Лилия Николаевна. **E-mail:** ibragimova.l@kaznmu.kz

ORCID: А. С. Келеке – https://orcid.org/0000-0001-5502-6142;
Л. Н. Ибрагимова – https://orcid.org/0000-0002-8381-5330;
З. Б. Сакипова – https://orcid.org/ 0000-0003-4477-4051;
Р. И. Кулманбетов – https://orcid.org/0000-0002-9631-0112;
Т. С. Нургожин – https://orcid.org/0000-0002-8036-604X;
М. К. Сулейменов – https://orcid.org/0009-0005-6902-6262;
Г. С. Ибадуллаева – https://orcid.org/0000-0002-1268-9867;
А. Л. Ахелова – https://orcid.org/0000-0002-5118-3914;
А. Ю. Гришина – https://orcid.org/0000-0003-2448-513X.

Статья поступила: 28.07.2025 **Статья принята в печать:** 13.10.2025 **Статья опубликована:** 17.10.2025

Резюме

Введение. Лекарственные растения, такие как копеечник Семенова (*Hedysarum semenowii* Regel & Herder) рода *Hedysarum* L., обладают богатым фитохимическим профилем и могут стать перспективной основой для разработки новых фармацевтических препаратов. Несмотря на известную фармакологическую активность многих видов *Hedysarum* L., профиль безопасности этих растений изучен недостаточно, что требует дополнительной оценки их токсичности и потенциальных побочных эффектов. В этой связи проведены исследования по определению подострой токсичности, местнораздражающего действия и аллергенности экстракта *Hedysarum semenowii* для оценки его безопасности и терапевтического потенциала.

Цель. Определение подострой токсичности, местнораздражающего действия и аллергенности экстракта копеечника Семенова (*Hedysarum semenowii* Regel & Herder).

Материалы и методы. Исследование подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii* проводилось на беспородных крысах, где животным вводили экстракт надземной части растения перорально в дозах 500, 2000 и 5000 мг/кг в течение 28 дней, наблюдая за их состоянием. По окончании исследований подострой токсичности исследовали патологические изменения в печени и почках экспериментальных животных. Местнораздражающее и аллергенное действие оценивали на крысах и морских свинках соответственно с использованием визуальных методов и шкалы Дрейза.

Результаты и обсуждение. В ходе 28-дневного исследования подострой токсичности у животных не выявлено значимой токсичности, смертности или изменений в поведении. Масса тела, потребление корма и воды оставались стабильными. По результатам макроскопического и микроскопического исследования в печени и почках отмечены незначительные физиологические изменения, выраженность которых коррелировала с дозой введенного экстракта. Кроме того, экстракт не вызывал раздражения кожи или аллергенных реакций в тестах с участием крыс и морских свинок.

© Келеке А. С., Ибрагимова Л. Н., Сакипова З. Б., Кулманбетов Р. И., Нургожин Т. С., Сулейменов М. К., Ибадуллаева Г. С., Ахелова А. Л., Гришина А. Ю., 2025
© Keleke A. S., Ibragimova L. N., Sakipova Z. B., Kulmanbetov R. I., Nurgozhin T. S., Suleimenov M. K., Ibadullayeva G. S., Akhelova A. L., Grishina A. Yu., 2025

Заключение. В результате исследований экстракт *Hedysarum semenowii* продемонстрировал низкую токсичность, отсутствие раздражающего и аллергизирующего действий, что подтверждает его безопасность и перспективность для дальнейшего изучения в качестве потенциального терапевтического средства.

Ключевые слова: *Hedysarum semenowii*, подострая токсичность, местнораздражающее действие, аллергизирующее действие, доклинические исследования

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

Вклад авторов. А. С. Келеке и Л. Н. Ибрагимова разработали концепцию исследования, методологию и провели формальный анализ, а также выполнили экспериментальные исследования и подготовили первоначальный вариант рукописи. А. Ю. Гришина, А. С. Келеке и А. Л. Ахелова провели статистическую обработку и анализ данных. Р. И. Кулманбетов, М. К. Сулейменов и Г. С. Ибадуллаева внесли правки и участвовали в редактировании статьи. З. Б. Сакипова и Т. С. Нургожин обеспечили необходимые ресурсы, осуществляли руководство проектом и административное сопровождение. Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант статьи.

Для цитирования: Келеке А. С., Ибрагимова Л. Н., Сакипова З. Б., Кулманбетов Р. И., Нургожин Т. С., Сулейменов М. К., Ибадуллаева Г. С., Ахелова А. Л., Гришина А. Ю. Подострая токсичность, местнораздражающее и аллергизирующее действие экстракта копеечника Семенова (*Hedysarum semenowii* regel & herder). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):208–220. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2159

Subacute toxicity, local irritant, and allergenic effects of *Hedysarum semenowii* extract

Anel S. Keleke[1], Liliya N. Ibragimova[1]✉, Zuriyadda B. Sakipova[1], Ruslan I. Kulmanbetov[1], Talgat S. Nurgozhin[1], Marat K. Suleimenov[1], Galiya S. Ibadullayeva[1], Aiman L. Akhelova[1], Anna Yu. Grishina[2]

[1] Asfendiyarov Kazakh National Medical University. 94, Tole Bi str., Almaty, 050012, Republic of Kazakhstan
[2] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. Center for Experimental Pharmacology. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Liliya N. Ibragimova. **E-mail:** ibragimova.l@kaznmu.kz

ORCID: Anel S. Keleke – https://orcid.org/0000-0001-5502-6142;
Liliya N. Ibragimova – https://orcid.org/0000-0002-8381-5330;
Zuriyadda B. Sakipova – https://orcid.org/ 0000-0003-4477-4051;
Ruslan I. Kulmanbetov – https://orcid.org/0000-0002-9631-0112;
Talgat S. Nurgozhin – https://orcid.org/0000-0002-8036-604X;
Marat K. Suleimenov – https://orcid.org/0009-0005-6902-6262;
Galiya S. Ibadullayeva – https://orcid.org/0000-0002-1268-9867;
Aiman L. Akhelova – https://orcid.org/0000-0002-5118-3914;
Anna Yu. Grishina – https://orcid.org/0000-0003-2448-513X.

Received: 28.07.2025 **Accepted:** 13.10.2025 **Published:** 17.10.2025

Abstract

Introduction. *Hedysarum semenowii* Regel & Herder of the genus *Hedysarum* L., possess a rich phyto-chemical profile and hold promise as a foundation for developing novel pharmaceuticals. Despite the recognized pharmacological activities of various *Hedysarum* L. species, their safety profiles have not been sufficiently studied, necessitating further investigation to evaluate their toxicity and potential adverse effects. To address this gap, a study was conducted to assess the subacute toxicity, local irritant effects, and allergenicity of *Hedysarum semenowii* extract, with the aim of determining its safety and therapeutic potential.

Aim. Determination of subacute toxicity, local irritant effect and allergenicity of the *Hedysarum semenowii* Regel & Herder extract.

Materials and methods. The subacute toxicity study was performed using outbred rats, with the extract from aerial part of the plant administered orally at doses of 500, 2000, and 5000 mg/kg over a 28-day period. The condition of the animals was monitored throughout the study. At the conclusion of the subacute toxicity evaluation, pathological changes in the liver and kidneys of the experimental animals were examined. Local irritant and allergenic effects were assessed in rats and guinea pigs, respectively, employing visual inspection and the Draize scoring system.

Results and discussion. The 28-day subacute toxicity study revealed no significant toxicity, mortality, or behavioral changes in the animals. Body weight, food consumption, and water intake remained stable across all groups. According to the results of macroscopic and microscopic examination, minor physiological changes were noted in the liver and kidneys, the severity of which correlated with the administered doses of the extract. Furthermore, the extract did not induce skin irritation or allergenic reactions in tests involving rats and guinea pigs.

Conclusion. *Hedysarum semenowii* extract exhibited low toxicity and an absence of irritant and allergenic effects, affirming its safety and potential for further exploration as a therapeutic agent.

Keywords: *Hedysarum semenowii*, subacute toxicity, local irritant effect, allergenic effect, preclinical studies

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. Anel S. Keleke and Liliya N. Ibragimova developed the concept of the study, the methodology, conducted the formal analysis, performed the experimental studies, and prepared the initial version of the manuscript. Anna Yu. Grishina, Anel S. Keleke and Aiman L. Akhelova conducted the statistical analysis and data processing. Ruslan I. Kulmanbetov, Marat K. Suleimenov and Galiya S. Ibadullayeva contributed to the review and editing of the manuscript. Zuriyadda B. Sakipova and Talgat S. Nurgozhin provided the necessary resources, carried out project supervision and administrative support. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

For citation: Keleke A. S., Ibragimova L. N., Sakipova Z. B., Kulmanbetov R. I., Nurgozhin T. S., Suleimenov M. K., Ibadullayeva G. S., Akhelova A. L., Grishina A. Yu. Subacute toxicity, local irritant, and allergenic effects of *Hedysarum semenowii* extract. *Drug development & registration*. 2025;14(4):208–220. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2159

ВВЕДЕНИЕ

Фитотерапия является одной из наидревнейших форм лечения заболеваний, к которой, по оценкам Всемирной организации здравоохранения, обращаются до 80 % населения мира для лечения и профилактики различных заболеваний [1, 2]. Лекарственные растения за счет обширного фитохимического профиля остаются источником активных ингредиентов для разработки новых лекарств [3]. Одним из таких перспективных видов для изучения является копеечник Семенова (*Hedysarum semenowii* Regel & Herder), который преимущественно известен как кормовая культура для крупного рогатого скота [4].

Копеечники (род *Hedysarum* L. (sweetvetch), семейство *Fabaceae*) – широко известные лекарственные растения умеренного пояса северного полушария, применяемые как в медицине, так и в косметической практике [5]. Растения рода богаты биологически активными веществами, включая полисахариды, флавоноиды, сапонины, алкалоиды, хальконы и другие соединения, отвечающие за различную фармакологическую активность [6]. В частности, известно, что некоторые хальконы, выделенные из копеечника, демонстрируют значительные противовоспалительные и антипролиферативные свойства, ингибирующее действие на клеточные линии рака печени, легких и прямой кишки [7]. Кроме того, копеечники обладают антиоксидантными, кардиопротекторными и иммуномодулирующими свойствами, которые часто приписываются полисахаридам в их составе [6]. Также известно о возможном терапевтическом применении копеечника при лечении сердечно-сосудистых патологий, диабета и нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера [6, 8].

Несмотря на значительное количество данных о фармакологической активности представителей рода *Hedysarum*, опубликованные сведения об их безопасности и токсичности остаются ограниченными. В то время как исследования, направленные на изучение терапевтического потенциала растений, продолжают углубляться, не меньше внимания требует оценка безопасности. В данном контексте изучение профиля безопасности *Hedysarum semenowii* представляет интерес, поскольку этот малоизученный центральноазиатский вид является ближайшим родственником фармакопейного представителя рода *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz. [9]. Исследование острой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii* на беспородных мышах не выявило летальности или признаков интоксикации [10]. Невозможность определить LD_{50} подчеркнула необходимость дополнительных исследований для выявления динамики «доза – реакция» и оценки долгосрочной безопасности растительного экстракта.

Таким образом, **целью данного исследования** была оценка подострой токсичности, местного раздражающего действия и аллергенности экстракта *Hedysarum semenowii с использованием общепринятых методов in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительное сырье

Надземная часть *Hedysarum semenowii* Regel & Herder собрана в высокогорных участках Кегенского района в Алматинской области в период цветения в июле 2022 года и идентифицирована специалистами республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного ведения «Институт ботаники и фитоинтродукции» Комитета лесного хозяйства и животного мира Министерства экологии и природных ресурсов Республики Казахстан [11], а также прошла первичную обработку в соответствии с требованиями надлежащей практики культивирования и сбора (GACP) [12].

Получение экстракта

В исследованиях применяли экстракт *Hedysarum semenowii*, полученный из высушенного и измельченного сырья трехэтапной мацерацией этанолом с концентрацией в диапазоне 50–95 % (об./об.) с постепенным снижением концентрации (95, 70, 50 %), с применением ультразвуковой обработки (ультразвуковая ванна RoHS, Китай). Удаление экстрагента проводили при помощи роторного испарителя (STEGLER, Китай) до получения густого экстракта с последующей лиофильной сушкой (ZIRBUS, Германия) до сухого экстракта [13]. Полученный экстракт хранили в герметичной баночке для образцов при температуре не выше 5 °C и использовали при необходимости.

Исследование подострой токсичности

Двадцать самцов и самок беспородных белых крыс массой 180–200 г были использованы для оценки подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii.* Исследование проводилось в соответствии с руководством А. Н. Миронова [14] и основами руководства Организации экономического сотрудничества и развития (OECD)[1]. Животные были случайным образом распределены на четыре экспериментальные группы по пять крыс обоих полов в каждой группе. Крысам в первой группе вводили 500 мг/кг экстракта, во второй группе – 2000 мг/кг, в третьей – 5000 мг/кг, а четвертая группа служила контрольной. Животные содержались в полипропиленовых клетках с мягкой подстилкой в условиях контролируемой лабораторной среды, при 12-часовом световом и темном циклах, температуре 22 ± 2 °C и влажности 50 %. Стандартный рацион для грызунов и вода предоставлялись *ad libitum* (без ограничения). Животные проходили период акклиматизации в течение пяти дней перед началом исследования, при этом перед введением дозы они находились на ночном голодании.

Изучение подострой токсичности проводили в течение 28 дней. Животным экспериментальных групп ежедневно вводили водный раствор испытуемого экстракта перорально при помощи зонда, контрольной группе вводили 1 мл / 100 г массы тела дистиллированной воды по той же схеме. Наблюдение за клиникой интоксикации проводилась в течение 2 ч после введения субстанции и в конце рабочего дня ежедневно. Для оценки подострой токсичности у животных определяли показатели, такие как общее состояние, потребление пищи и воды, поведенческие и неврологические изменения, моторные функции, а также наличие любых аномальных выделений. Также отслеживалась смертность.

После завершения 28-дневного периода экспериментальных наблюдений было проведено вскрытие одного животного из каждой группы для макроскопического и микроскопического исследования печени и почек на наличие патологических изменений. Эвтаназия животных проводилась методом цервикальной дислокации, после чего органы готовились для дальнейшего гистопатологического анализа. Гистологическая оценка была проведена опытным гистологом и впоследствии проверена независимым экспертом для минимизации предвзятости и обеспечения последовательности интерпретации.

Данное исследование было проведено как исследование ранней фазы, направленное на оценку подострой токсичности экстракта *H. semenowii.* В связи с пилотным характером исследования его объем был ограничен целевым набором конечных точек.

Исследование местнораздражающего действия

Исследование местнораздражающего действия экстракта проводилось на двух группах крыс (по 5 животных в каждой группе, включая контрольную). У всех животных был предварительно выстрижен участок кожи размером 2,5 × 2,5 см на спине. На этот участок ежедневно наносили 0,5 г тестируемого экстракта в течение 30 дней. Экстракт аккуратно втирали в кожу при помощи стеклянной глазной лопаточки. Животным контрольной группы наносили только основу экстракта.

Наблюдения проводились ежедневно в течение двух часов после нанесения экстракта и в конце рабочего дня. Для оценки местнораздражающего действия использовались визуальные методы наблюдения за степенью раздражения, эластичности и тургора, а также наличием шелушения, корок или трещин. О степени раздражения кожи судили согласно стандартизированной дрейзовской шкале [15] фиксированием изменений в цвете кожи и появлении отека по шкале от 0 до 4 баллов (таблица 1). Соответствующие баллы каждого параметра суммировали и согласно суммарным баллам классифицировали степень раздражения: 0–2 – минимальное или отсутствие раздражения, 3–5 – слабое раздражение, 6–8 – умеренное или сильное раздражение.

Аллергизирующее действие

Исследование аллергизирующего действия экстракта проводили на 5 особях морских свинок методом конъюнктивальной пробы в течение 28 дней. Тестирование с помощью конъюнктивальной пробы проводили на 7, 14 и 28 день. Животным вводили по одной капле водного раствора экстракта глазной пипеткой с вытянутым тонким концом под верхнее веко правого глаза. После на 1 мин прижимали слезно-носовой канал у внутреннего угла глаза. Левый глаз служил контролем, в который вводили по одной капле воды очищенной. Реакцию фиксировали

[1] OECD. Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4. Available at: https://www.oecd.org/en/publications/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en.html. Accessed: 28.07.2025.

через 15 мин (быстрая реакция) и через 24–48 ч (гиперчувствительность замедленного типа) с оценкой по дрейзовской шкале для раздражения глаза (таблица 2) [16].

Таблица 1. Оценка раздражения кожного покрова по дрейзовской шкале

Table 1. Assessment of skin irritation on the Draize scale

№	Наименование параметра Parameter	Шкала оценивания Assessment scale
1	Цвет кожи Skin tone	0 – отсутствует покраснение 0 – no redness
		1 – очень слабое покраснение 1 – very slight redness
		2 – слабое покраснение 2 – slight redness
		3 – умеренное покраснение 3 – moderate redness
		4 – сильное покраснение 4 – severe redness
2	Отек кожи Skin edema	0 – отсутствует отек 0 – no edema
		1 – очень слабый отек 1 – very slight edema
		2 – слабый отек 2 – slight edema
		3 – умеренный отек 3 – moderate edema
		4 – сильный отек 4 – severe edema

Таблица 2. Оценка раздражения глаза по дрейзовской шкале

Table 2. Assessment of eye irritation on the Draize scale

№	Наименование параметра Parameter	Шкала оценивания Assessment scale
1	Внешний вид и размеры радужной оболочка глаза Appearance and size of the iris	0 – норма 0 – normal
		1 – складки выше нормы, гиперемия, отек, перикорнеальная инъекция (любое из этих проявлений или их сочетание), радужка все еще реагирует на свет (медленная реакция считается положительной) 1 – folds are above normal, hyperemia, edema, pericorneal injection (any of these manifestations or a combination of them), the iris is still responding to light (a slow reaction is considered positive)
		2 – отсутствие реакции на свет, кровоизлияние, значительное повреждение (любое или все из перечисленного) 2 – lack of reaction to light, hemorrhage, significant damage (any or all of the above)
2	Покраснение конъюнктивы Conjunctival redness	0 – сосуды в норме 0 – blood vessels are normal
		1 – выраженное расширение сосудов 1 – pronounced vasodilation
		2 – более диффузное, глубокое багрово-красное покраснение, отдельные сосуды трудноразличимы 2 – more diffuse, deep purplish-red redness, individual vessels are difficult to distinguish
		3 – диффузное мясисто-красное покраснение 3 – diffuse fleshy red redness
3	Хемоз конъюнктивы Conjunctival chemosis	0 – отсутствие отека 0 – absence of edema
		1 – любой отек выше нормы 1 – any edema is above normal
		2 – очевидный отек с частичным выворотом век 2 – obvious edema with partial inversion of the eyelids
		3 – отек с закрытием век примерно наполовину 3 – edema with eyelid closure approximately half
		4 – отек с закрытием век наполовину до полного закрытия 4 – edema with eyelid closure half to full closure
4	Выделения конъюнктивы Conjunctival discharge	0 – отсутствие выделений 0 – no discharge
		1 – любое количество выделений, отличное от нормы 1 – any amount of discharge other than normal
		2 – выделения с увлажнением век и волосков около век 2 – discharge with moisturizing of the eyelids and hairs around the eyelids
		3 – выделения с увлажнением век, волосков и значительной области вокруг глаза 3 – discharge with moisturizing of the eyelids, hairs, and a significant area around the eye

Этические принципы

Исследование по определению острой и подострой токсичности, местнораздражающего и аллергизирующего действия экстракта копеечника Семенова (*Hedysarum semenowii* Regel & Herder) проводилось согласно протоколу исследования, одобренному решением Локальной этической комиссии на

заседании № 4 (140) от 3 мая 2023 года, на базе Научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной медицины имени Б. Атчабарова некоммерческого акционерного общества «Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова».

Статистический анализ

Численные результаты исследования подострой токсичности подверглись статистической обработке в виде средних значений с использованием программы GraphPad Prism версии 10. Значимые различия между группами определялись методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением теста Даннета, где значение $p \leq 0{,}05$ считалось статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование подострой токсичности экстракта Hedysarum semenowii

В течение 28-дневного исследования подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii* в целом у животных обоих полов экспериментальных групп сохранялось нормальное физиологическое состояние. В первые часы после введения экстракта наблюдались незначительная летаргия и послабление стула, которые носили кратковременный характер и не сопровождались другими клиническими проявлениями. Симптомы исчезали без какого-либо внешнего вмешательства и не прогрессировали в ходе дальнейшего наблюдения. За период наблюдения у крыс не наблюдалось признаков выраженной интоксикации, в том числе изменений поведения, двигательной активности, неврологического статуса.

Анализ потребления воды и корма экспериментальными животными не выявил статистически значимых различий в средних суточных показателях ($p > 0{,}05$) между контрольной группой и экспериментальными группами, подвергавшимися воздействию экстракта на всех уровнях дозировки (рисунки 1, 2). Кроме того, внутри каждой группы не было отмечено значительных изменений в потреблении воды и корма в течение периода эксперимента. Рисунки 1 и 2 иллюстрируют среднесуточное потребление воды и корма на 100 г веса тела соответственно. Точки данных представляют собой групповые средние значения за день, соединенные линиями для отображения тенденций с течением времени. Планки погрешностей представляют собой стандартные отклонения (SD).

Результаты дисперсионного анализа (ANOVA) показали отсутствие статистически значимых различий в массе тела между экспериментальными группами животных и контрольной группой ($p > 0{,}05$). В начале эксперимента животные всех групп имели схожие показатели массы тела. В течение всего эксперимента динамика изменения массы тела в экспериментальных группах не отличалась от контрольной группы, и у всех животных наблюдался небольшой прирост массы тела (рисунок 3, таблица 3). Эти результаты свидетельствуют о том, что введение экстракта не оказывало существенного влияния на массу тела животных.

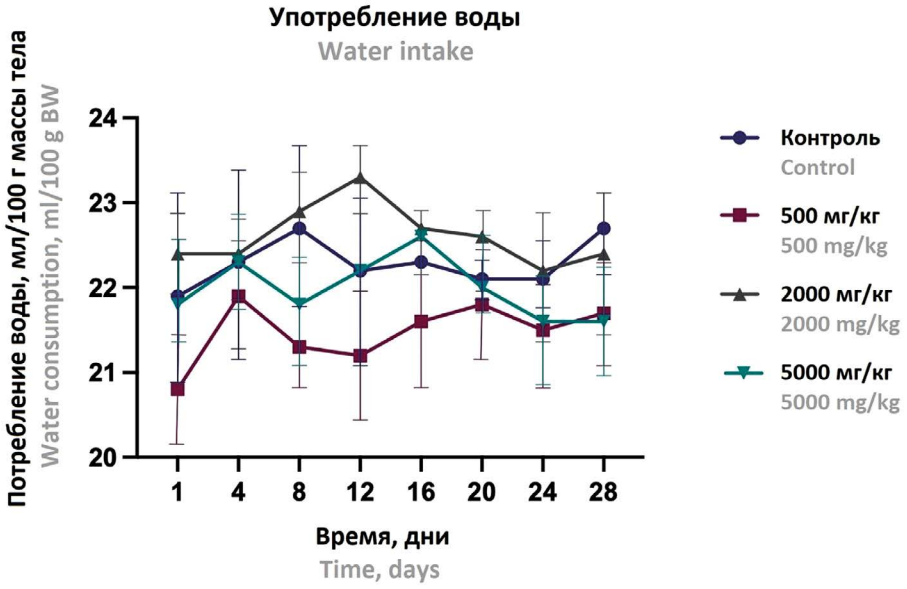


Рисунок 1. Потребление воды на 100 г массы тела экспериментальных животных при исследовании подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii*

Figure 1. Water consumption per 100 g of body weight of experimental animals in the study of subacute toxicity of *Hedysarum semenowii* extract

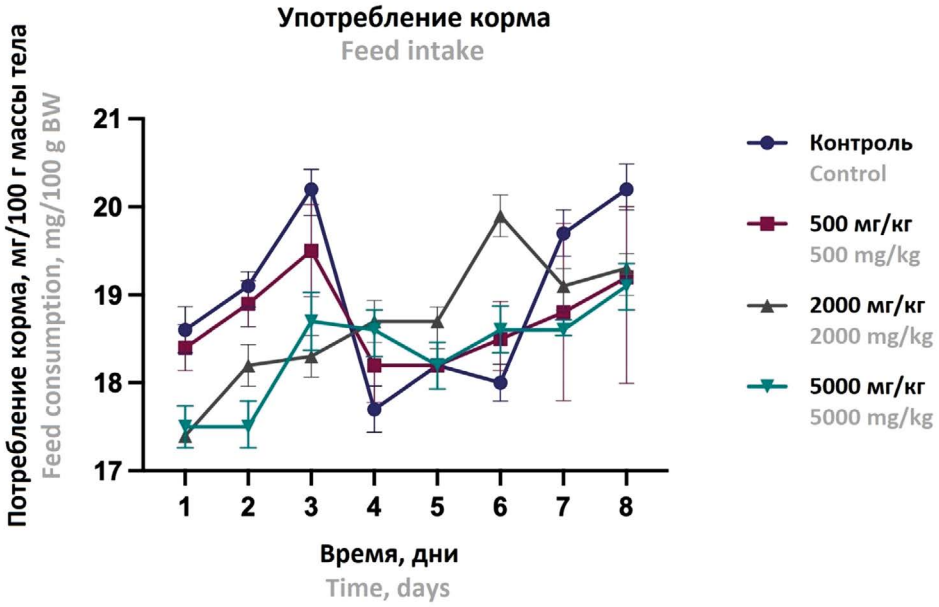


Рисунок 2. **Потребление корма на 100 г массы тела экспериментальных животных при исследовании подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii***

Figure 2. **Feed consumption per 100 g of body weight of experimental animals in the study of subacute toxicity of *Hedysarum semenowii* extract**

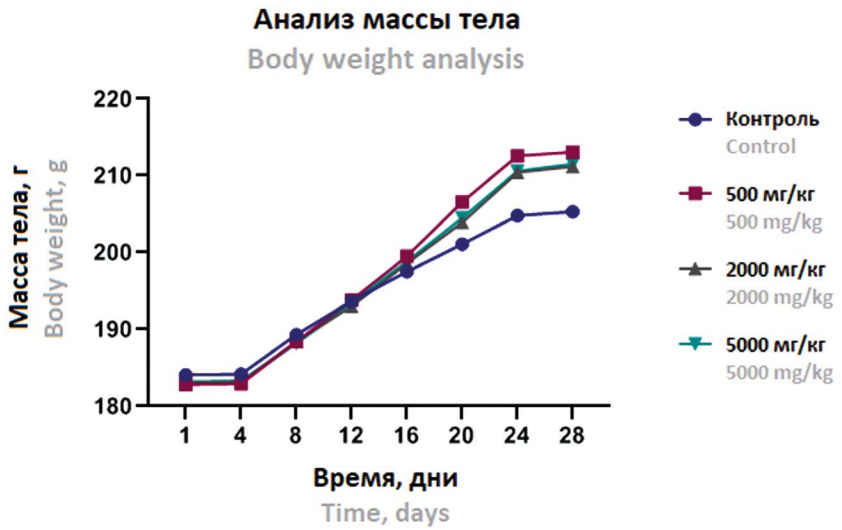


Рисунок 3. **Динамика массы тела экспериментальных животных при исследовании подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii***

Figure 3. **Dynamics of body weight of experimental animals in the study of subacute toxicity of *Hedysarum semenowii* extract**

За весь 28-дневный период исследований не было зарегистрировано случаев смертности среди животных, которым вводили экстракт, даже при дозе 5000 мг/кг массы тела. Это позволяет предположить, что LD_{50} для исследуемого растительного экстракта *Hedysarum semenowii* значительно превышает 5000 мг/кг массы тела.

Макроскопическое исследование при изучении подострой токсичности экстракта Hedysarum semenowii

При вскрытии животных экспериментальной группы, получавших экстракт копеечника Семенова в течение двух недель, было отмечено, что внутренние

Таблица 3. Данные массы тела экспериментальных животных при исследовании подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii*

Table 3. Data on the body weight of experimental animals in the study of subacute toxicity of *Hedysarum semenowii* extract

Дни Days	Масса тела экспериментальных животных Body weight of experimental animals			
	Контроль Control	500 мг/кг 500 mg/kg	2000 мг/кг 2000 mg/kg	5000 мг/кг 5000 mg/kg
1	184,1 ± 4,3	182,8 ± 3,7	183,1 ± 3,9	183,2 ± 3,7
4	184,2 ± 4,3	182,9 ± 3,7	183,2 ± 3,9	183,3 ± 3,7
8	189,3 ± 4,0	188,4 ± 3,6	188,4 ± 3,7	188,2 ± 3,3
12	193,7 ± 3,5	193,8 ± 3,7	193,0 ± 3,4	193,5 ± 3,2
16	197,5 ± 3,8	199,5 ± 3,7	198,6 ± 3,6	198,8 ± 3,6
20	201,1 ± 3,9	206,6 ± 3,9	203,9 ± 3,0	204,5 ± 2,9
24	204,8 ± 4,0	212,6 ± 4,0	210,4 ± 3,4	210,6 ± 2,6
28	205,3 ± 4,2	213,1 ± 4,0	211,2 ± 3,5	211,5 ± 2,7

органы животных анатомически правильны по форме и положению. Величина и форма сердца у животных, которые принимали исследуемый экстракт, не изменены. Мышца сердца была коричневатой, плотной. Печень также обычной величины и формы. Ткань печени – красно-коричневого цвета, упругой консистенции. Величина и форма почек не отличались от контрольной группы, капсула легко снималась. На разрезе почек отчетливо различалось корковое и мозговое вещество.

Микроскопическое исследование при исследовании подострой токсичности экстракта Hedysarum semenowii

В рамках исследований подострой токсичности было проведено микроскопическое исследование тканей печени и почек крыс, которым вводили различные концентрации экстракта *Hedysarum semenowii*, а также контрольной группы.

Соответствующие микрофотографии печени и почек экспериментальных животных, получавших изучаемый растительный экстракт *Hedysarum semenowii*, и контрольной группы представлены на рисунке 4.

Рисунок 4 описывает следующую гистологическую картину печени и почек контрольной и экспериментальных групп.

- *Контрольная группа*. Гепатоциты печени расположены в пластинах толщиной в 1–2 клетки; полигональные клетки с круглыми, центрально расположенными ядрами и обильной эозинофильной цитоплазмой с мелкими базофильными гранулами (стрелкой отмечена центральная печеночная вена). Клубочковые капиллярные петли почек тонкие и нежные; эндотелиальные и мезангиальные клетки в нормальном количестве; окружающие канальцы в норме (стрелкой отмечены клубочки).
- *Экспериментальная группа 500 мг/кг*. Структура печени не изменена, отмечаются очаги межбалочного отека (красная стрелка) и полнокровие синусоидов (желтые стрелки). Гистологическое строение почек сохранено, отмечается очаговое полнокровие сосудов (красная стрелка) и гомогенизация эпителия канальцев (желтые стрелки).
- *Экспериментальная группа 2000 мг/кг*. Строение печени сохранено, отмечается выраженное полнокровие сосудов и синусоидов (красная стрелка), гепатоциты в состоянии паренхиматозной дистрофии (желтые стрелки). Строение почек сохранено, отмечается полнокровие сосудов (красная стрелка), диапедезные кровоизлияния в клубочках (желтая стрелка) и очаги некробиоза эпителия канальцев (черная стрелка).
- *Экспериментальная группа 5000 мг/кг*. Гепатоциты в состоянии тяжелой дистрофии с крупноклеточными изменениями, ядра гомогенные, с заметными ядрышками (красные стрелки), синусоиды с выраженной полнокровием и фокусами кровоизлиянии (желтые стрелки). В почках отмечается полнокровие сосудов, диапедезные кровоизлияния в клубочках (красные стрелки), очаги некробиоза (желтые стрелки) и фокусы некроза эпителия канальцев (черная стрелка).

Результаты гистологических исследований показали, что многократное введение экстракта *Hedysarum semenowii* в течение 28 дней не приводит к гибели животных и не оказывает существенного токсического воздействия на жизненно важные органы, такие как печень и почки. При более низких и умеренных дозах морфология тканей оставалась сопоставимой с контрольной группой. Тем не менее у животных, которым вводили самую высокую дозу препарата (до 5000 мг/кг), наблюдались дозозависимые морфологические изменения в печени и почках. К ним относились умеренное полнокровие сосудов, очаговый межтрабекулярный отек, а также паренхиматозная дистрофия гепатоцитов и эпителия почечных канальцев. Хотя эти изменения не сопровождались явными клиническими симптомами или смертностью, они могут отражать ранние или субклини-

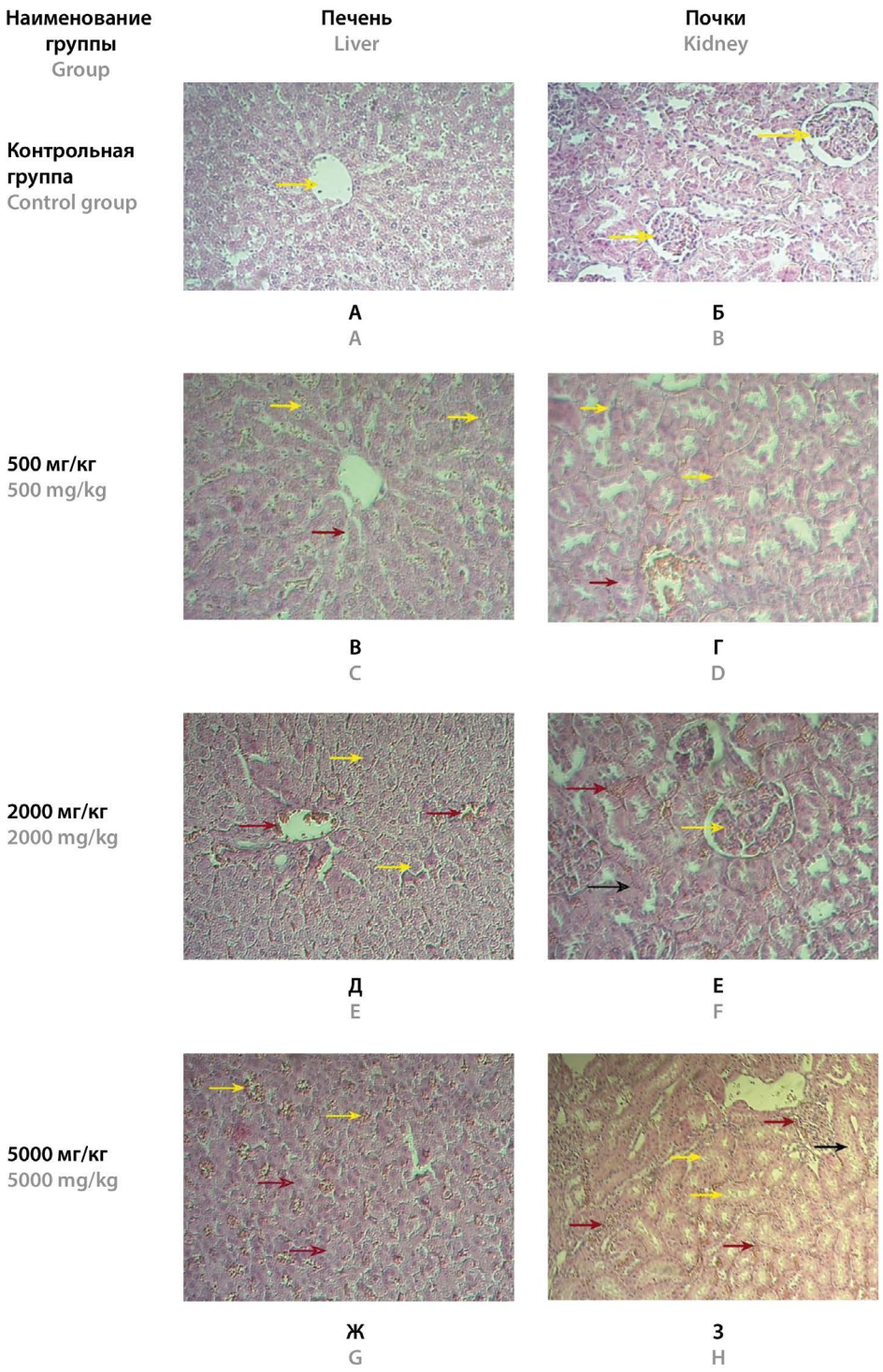


Рисунок 4. Изображения органов (печень и почки) экспериментальных животных после исследования подострой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii* (окраска гематоксилином и эозином, ×200)

Figure 4. Micrographs of organs (liver and kidneys) of experimental animals after a study of subacute toxicity of *Hedysarum semenowii* extract (Hematoxylin and eosin staining, ×200 magnification)

ческие токсические реакции при высоких дозах. Наблюдаемые гистологические изменения могут отражать адаптивные или ранние патологические реакции, что подчеркивает необходимость дальнейшего изучения в долгосрочных исследованиях для полной оценки потенциального риска. Однако эти результаты следует интерпретировать в контексте высоких доз экстракта, сопоставимых с дозами в исследованиях острой токсичности, которые тем не менее не привели к летальному исходу.

В целом многократное введение экстракта *Hedysarum semenowii* удовлетворительно переносилось подопытными животными и не вызывало значительных гистологических нарушений в основных органах, что подтверждает низкий уровень токсичности экстракта в условиях подострого воздействия. Однако дозозависимые реакции тканей при высоких дозах подчеркивают важность тщательного выбора дозы в будущих токсикологических исследованиях и потенциальном фармакологическом применении.

Изучение местнораздражающего действия

В ходе проведения исследования местнораздражающего действия экстракта *Hedysarum semenowii на крыса*х в составе двух групп по пять особей признаки раздражения кожи у экспериментальных животных не были выявлены. Ежедневное нанесение экстракта с последующей визуальной оценкой состояния кожи в течение двух часов после нанесения и в конце рабочего дня не вызвало никаких отклонений в цвете, тургоре, эластичности или толщине кожных складок. Также не было обнаружено шелушений, корок или трещин. Согласно оценке состояния кожи по стандартизированной дрейзовской шкале, в экспериментальной группе на протяжении всего 30-дневного периода наблюдения кожные реакции оставались в пределах 0–2 баллов, что соответствует минимальной или отсутствующей реакции на раздражение. В контрольной группе, где использовалась основа экстракта, также не было зафиксировано признаков раздражения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экстракт *Hedysarum semenowii*, применяемый в указанных дозировках и условиях, не вызывает местного раздражающего действия на кожу крыс, что подтверждает его безопасность в данном аспекте.

Аллергизирующее действие

В ходе исследования аллергизирующего действия экстракта *Hedysarum semenowii* у большинства морских свинок не было выявлено признаков раздражения или воспаления слизистой оболочки глаза на протяжении 28-дневного периода наблюдения. Однако у двух животных из экспериментальной группы было отмечено незначительное покраснение конъюнктивы, соответствующее 1 баллу по дрейзовской шкале: сосуды были расширены выше нормы, но без других проявлений раздражения. Эти изменения были временными и исчезали в течение 24 ч без последствий.

Прочие параметры, такие как отек (хемоз), выделения и состояние радужной оболочки, оставались в пределах нормы, как и у контроля. Радужная оболочка обрабатываемого глаза всех животных реагировала на свет, что свидетельствует об отсутствии серьезных повреждений или воспалительных процессов.

Таким образом, за исключением кратковременного покраснения у пары особей, экстракт *Hedysarum semenowii* не вызвал значительных аллергических реакций или раздражений, что подтверждает его безопасность в условиях данного эксперимента.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данное исследование представляет комплексную оценку подострой токсичности, местного раздражающего и аллергенного потенциала экстракта *Hedysarum semenowii* на моделях грызунов. Пероральное введение экстракта в дозах до 5000 мг/кг в течение 28 дней не привело к смертности или значительным изменениям поведения. Стабильный вес тела, потребление воды и пищи во всех группах, а также отсутствие неблагоприятных клинических симптомов свидетельствуют о хорошей системной переносимости экстракта. Гистологические исследования выявили только легкие дозозависимые изменения, такие как синусоидальная закупорка и изменения эпителия канальцев, без признаков необратимого повреждения органов.

Вышеперечисленные результаты согласуются с предыдущими токсикологическими исследованиями растительных экстрактов других представителей семейства *Fabaceae*, обычно используемых в народной медицине [17–20]. Например, *Psoralea corylifolia* L. продемонстрировал отсутствие токсичности в исследованиях как острой, так и подострой токсичности на мышах и крысах [17]. Аналогичным образом повторное введение экстракта *Arachis hypogaea* L. не вызвало значительных физиологических и поведенческих изменений, за исключением незначительных сдвигов веса печени и почек, которые не сопровождались изменениями биохимических параметров [18].

Безопасность экстракта *H. semenowii* дополнительно подтверждается сравнениями с исследованиями видов, принадлежащих к роду *Astragalus* L., с которым часто сравнивают виды рода *Hedysarum* L. и считают примесями в составе растительных препаратов [21, 22]. Исследования *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. не показали значительных различий в гистологии органов, гематологических параметрах или клинических признаках токсичности как у крыс, так и у собак [19]. Кроме того, введение *A. membranaceus* и его политравяных препаратов крысам Sprague Dawley как в острых, так и в субхронических исследованиях не приводило к смертности или неблагоприятным клиническим признакам при дозах до 4000 мг/кг/день, несмотря на некоторые обратимые нежелательные реакции, которые оставались в физиологических пределах [20].

По сравнению с этими видами экстракт *H. semenowii* продемонстрировал аналогичный уровень, не вызывающий видимых отрицательных эффектов (NOAEL), что указывает на низкую токсичность. Более того, отсутствие местного раздражения кожи или

аллергических реакций конъюнктивы в данном исследовании дополнительно подтверждает хорошую переносимость экстракта, что является ключевым соображением для разработки натуральных фармацевтических продуктов.

Умеренные гистопатологические реакции, наблюдаемые в печени и почках, такие как застой и очаговый некроз при самой высокой дозе, вероятно, представляют собой физиологическую адаптацию или временные клеточные реакции на компоненты экстракта, а не системную токсичность. Эта интерпретация согласуется с пороговыми значениями рекомендаций OECD[1] для приемлемых гистологических изменений в исследованиях подострой токсичности.

Учитывая растущий интерес к фитотерапии и задокументированной фармакологической активности видов *Hedysarum* L. – антиоксидантной, иммуномодулирующей и гепатопротекторной [6], представленные данные по безопасности обеспечивают существенную основу для будущей оценки их фармакокинетики и хронической токсичности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Профиль безопасности экстракта копеечника Семенова был всесторонне изучен посредством серии неклинических исследований, включающих оценку подострой токсичности, а также местнораздражающего и аллергизирующего действия. Совокупные результаты этих исследований дают ценную информацию о потенциальных рисках, связанных с применением экстракта, и его пригодности для терапевтического применения.

Исследования по оценке подострой токсичности показали, что введение экстракта *Hedysarum semenowii* животным не приводило к проявлению токсичности или смертности. Легкие гистопатологические изменения в печени и почках, вероятно, указывают на временные адаптивные реакции на компоненты экстракта. Эти результаты попадают в приемлемый диапазон для подострых исследований, определенный руководящими принципами OECD. Отсутствие значительных неблагоприятных эффектов в отношении жизненно важных органов дополнительно подтверждает безопасность экстракта при использовании в терапевтических дозах.

Однако, несмотря на то, что результаты исследования подтверждают низкую подострую токсичность экстракта *Hedysarum semenowii* в диапазоне исследуемых доз, следует признать несколько ограничений. Поскольку проведенное исследование имеет ранний поисковый характер, дизайн был ограничен логистическими и аналитическими факторами. Отсутствие положительной контрольной группы и исключение функционального и гистологического анализа органов, кроме печени и почек, может ограничить надежность токсикологического сравнения и полноту профиля токсичности. Эти ограничения подчеркивают необходимость более обширных последующих исследований, включающих более широкие панели контрольных точек.

Оценка местнораздражающего и аллергизирующего действия подтвердила безопасность экстракта. Тесты, проведенные на крысах и морских свинках, не выявили признаков раздражения, воспаления или серьезных аллергических реакций при нанесении экстракта на кожу или конъюнктиву соответственно. Отсутствие аллергизирующих свойств, о чем свидетельствует отсутствие кожных и глазных нежелательных реакций, подчеркивает благоприятный профиль безопасности экстракта.

В совокупности результаты неклинических исследований свидетельствуют о том, что экстракт растения *Hedysarum semenowii* можно считать безопасным для применения в терапевтических целях. Отсутствие токсичности, смертности, местного раздражающего действия и аллергизирующих свойств подтверждает его перспективность как потенциального кандидата для использования в дальнейшей фармацевтической разработке.

Таким образом, комплексная оценка профиля безопасности экстракта копеечника Семенова позволила определить его потенциальную пригодность для терапевтического использования, закладывая основу для будущих исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Builders P. F., editor. Herbal Medicine. London: IntechOpen; 2019. 314 p. DOI: 10.5772/intechopen.69412.
2. Maung T. M., Deborah S., Tun A. A., Jian T. S., Subramaniam Y., Pillai J., Johnson J. Traditional medicine vs. modern medicine in rural area of Kedah State, Malaysia. *IOSR*. 2019;14(1):5–8.
3. Wanjiru J. N., Maitho T. E., Mbaria J. M., Moriasi G. A. Subacute Toxicity Effects of the Aqueous Shoot Extract of *Yushania alpina* (K. Schum.) W. C. Lin in Sprague Dawley Rats: An Appraisal of Its Safety in Ethnomedicinal Usage. *Journal of Toxicology*. 2022;6283066. DOI: 10.1155/2022/6283066.
4. Keleke A. S., Ibragimova L. N., Zhumashova G. T., Sabitova A. G., Sultanov E. Sh., Sakipova Z. B. Kazakh plant species of the genus *Hedysarum* L.: distribution, botanical description and profile of pharmacological activity. *Pharmacy of Kazakhstan*. 2023;3(248):297–306. DOI: 10.53511/pharmkaz.2023.74.33.045.
5. Behera S., Kamila P. K., Rout K. K., Barik D. P., Panda P. C., Naik S. K. An efficient plant regeneration protocol of an industrially important plant, *Hedychium coronarium* J. Koenig and establishment of genetic & biochemical fidelity of the regenerants. *Industrial Crops and Products*. 2018;126:58–68. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.09.058.

[1] OECD. Test No. 407: Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4. Available at: https://www.oecd.org/en/publications/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en.html. Accessed: 28.07.2025.

6. Gao X., Ren C., Li L., Zhao H., Liu K., Zhuang M., Lv X., Zhi X., Jiang H., Chen Q., Zhao X., Li Y. Pharmacological action of Hedysarum polysaccharides: a review. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1119224. DOI: 10.3389/fphar.2023.1119224.
7. Liu Y., Zhang J., Wen R., Tu G.-Z., Chen H.-B., Liang H., Zhao Y.-Y. Anti-inflammatory and antiproliferative prenylated chalcones from *Hedysarum gmelinii*. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2018;20(11):1009–1018. DOI: 10.1080/10286020.2018.1450390.
8. Vesnina A., Milentyeva I., Le V., Fedorova A., Altshuler O., Prosekov A. Quercetin isolated from *Hedysarum neglectum* Ledeb. as a preventer of metabolic diseases. *Foods and Raw Materials*. 2024:192–201. DOI: 10.21603/2308-4057-2025-1-633.
9. Cao J.-N., Han C.-R., Yang Y.-C. Characterization of the complete chloroplast genome of *Hedysarum polybotrys* var. *alaschanicum* (Fabaceae) and its phylogeny. *Mitochondrial DNA Part B*. 2021;6(11):3312–3313. DOI: 10.1080/23802359.2021.1994900.
10. Келеке А. С., Туруспаева Ж. Ж., Ибрагимова Л. Н. Исследование острой токсичности экстракта *Hedysarum semenowii* Regel & Herder extract. В сб.: Материалы XIV всероссийской научной конференции с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». 28 марта – 2 апреля 2024 г. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет; 2024. С. 430-431.
11. Джумабаева А. М., Кожамжарова А. С., Ибрагимова Л. Н., Тернинко И. И., Сурбеева Е. С., Сакипова З. Б. Анализ этанольных извлечений корней *Ferula akitschkensis* B. Fedtsch. ex Koso-Pol. методом ГХ/МС. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(3):80–88 DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-3-80-88.
12. Кадырбай А., Сакипова З. Б., Криштанова Н. А., Ибрагимова Л. Н., Ибраева М. Б., Сакипов А. Е., Бекболатова Э. Н., Ридванов Ч., Сермухамедова О. В., Адилбек Е., Сейдуали Т. Е., Анартаева А. Х., Казим А. Ю. Разработка оптимальной технологии сушки лекарственного растительного сырья из полыни осенней (*Artemisia serotina* Bunge) на основе сравнительного анализа. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):80–90. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1578.
13. Келеке А. С., Сакипова З. Б., Ибрагимова Л. Н., Туруспаева Ж. Ж. Способ получения растительного экстракта из травы копеечника Семенова (Hedysarum semenowii Regel & Herder). Патент Республики Казахстан № 9815. 22.11.2024. Доступно по: https://gosreestr.kazpatent.kz/Utilitymodel/Details?docNumber=398329/ Ссылка активна на 03.07.2025.
14. Миронова А. Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
15. Wilson S. L., Ahearne M., Hopkinson A. An overview of current techniques for ocular toxicity testing. *Toxicology*. 2015;327:32–46. DOI: 10.1016/j.tox.2014.11.003.
16. Mochizuki H., Suyama S., Cha J. Y., Ho P.-S., Shimoi A. Optimization of a histamine-induced allergic conjunctivitis model in Guinea pigs. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2022;113:107133. DOI: 10.1016/j.vascn.2021.107133.
17. Uthirapathy S., Krishnasamy G., Periyasamy G., Elangovan R. Toxicity Profiles of the Hydroalcoholic Seed Extract of *Psoralea corylifolia* L. (Fabaceae) in Wistar Rats. *Medicina Balear*. 2022;*37*(3):120–126. DOI: 10.3306/AJHS.2022.37.03.120.
18. Cossetin J. F., Spring de Almeida A., de David Antoniazzi C. T., Qader Kudsi S., Martiele Engelmann A., Gaube Guex C., Sorraila de Oliveira J., Theisen M. C., Santos Ritter C., Henrique Doleski P., da Silva Brum E., Padilha Dalenogare D., Spat Peres D., Guedes Pintos F., Melazzo de Andrade C., Bitencourt Rosa Leal D., Marchesan Oliveira S., de Freitas Bauermann L., Cougo Riéffel R., Rorato Sagrillo M., Kolinski Machado A., Soares Santos A. R., Trevisan G. Hydroalcoholic Extract of Leaf of *Arachis hypogaea* L. (Fabaceae) Did Not Induce Toxic Effects in the Repeated-Dose Toxicity Study in Rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2020;115:104683. DOI: 10.1016/j.yrtph.2020.104683.
19. Yu S.-Y., OuYang H.-T., Yang J.-Y., Huang X.-L., Yang T., Duan J.-P., Cheng J.-P., Chen Y.-X., Yang Y.-J., Qiong P. Subchronic Toxicity Studies of *Radix Astragali* Extract in Rats and Dogs. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;110(2):352–355. DOI: 10.1016/j.jep.2006.09.024.
20. Song J., Lee D., Min B., Bae J.-S., Chang G. T., Kim H. Safety Evaluation of *Astragalus* Extract Mixture HT042 and Its Constituent Herbs in Sprague-Dawley Rats. *Phytomedicine*. 2017;*32*:59–67. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.03.005.
21. Zhang Y., Li Y., Bian T., Sun Y., Zhang Z., Liu T., Gao F., Wang Y., Cao R., Xin E., Yan X. *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* Repairs Impaired Intestinal Barrier Function and Alleviates Colitis-Associated Colorectal Cancer via Remodeling Gut Microbiota and Metabolism. *Journal of Functional Foods*. 2023;108:105748. DOI: 10.1016/j.jff.2023.105748.
22. Zhang Y., Niu J., Zhang S., Si X., Bian T.-T., Wu H., Li D., Sun Y., Jia J., Xin E., Yan X., Li Y. Comparative Study on the Gastrointestinal- and Immune-Regulation Functions of *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* and *Astragali Radix Praeparata Cum Melle* in Rats with Spleen-Qi Deficiency Based on fuzzy matter-element analysis. *Pharmaceutical Biology*. 2022;60(1):1237–1254. DOI: 10.1080/13880209.2022.2086990.

REFERENCES

1. Builders P. F., editor. Herbal Medicine. London: IntechOpen; 2019. 314 p. DOI: 10.5772/intechopen.69412.
2. Maung T. M., Deborah S., Tun A. A., Jian T. S., Subramaniam Y., Pillai J., Johnson J. Traditional medicine vs. modern medicine in rural area of Kedah State, Malaysia. *IOSR*. 2019;14(1):5–8.
3. Wanjiru J. N., Maitho T. E., Mbaria J. M., Moriasi G. A. Subacute Toxicity Effects of the Aqueous Shoot Extract of *Yushania alpina* (K. Schum.) W. C. Lin in Sprague Dawley Rats: An Appraisal of Its Safety in Ethnomedicinal Usage. *Journal of Toxicology*. 2022;6283066. DOI: 10.1155/2022/6283066.
4. Keleke A. S., Ibragimova L. N., Zhumashova G. T., Sabitova A. G., Sultanov E. Sh., Sakipova Z. B. Kazakh plant species of the genus *Hedysarum* L.: distribution, botanical description and profile of pharmacological activity. *Pharmacy of Kazakhstan*. 2023;3(248):297–306. DOI: 10.53511/pharmkaz.2023.74.33.045.

5. Behera S., Kamila P. K., Rout K. K., Barik D. P., Panda P. C., Naik S. K. An efficient plant regeneration protocol of an industrially important plant, *Hedychium coronarium* J. Koenig and establishment of genetic & biochemical fidelity of the regenerants. *Industrial Crops and Products*. 2018;126:58–68. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.09.058.
6. Gao X., Ren C., Li L., Zhao H., Liu K., Zhuang M., Lv X., Zhi X., Jiang H., Chen Q., Zhao X., Li Y. Pharmacological action of Hedysarum polysaccharides: a review. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1119224. DOI: 10.3389/fphar.2023.1119224.
7. Liu Y., Zhang J., Wen R., Tu G.-Z., Chen H.-B., Liang H., Zhao Y.-Y. Anti-inflammatory and antiproliferative prenylated chalcones from *Hedysarum gmelinii*. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2018;20(11):1009–1018. DOI: 10.1080/10286020.2018.1450390.
8. Vesnina A., Milentyeva I., Le V., Fedorova A., Altshuler O., Prosekov A. Quercetin isolated from *Hedysarum neglectum* Ledeb. as a preventer of metabolic diseases. *Foods and Raw Materials*. 2024:192–201. DOI: 10.21603/2308-4057-2025-1-633.
9. Cao J.-N., Han C.-R., Yang Y.-C. Characterization of the complete chloroplast genome of *Hedysarum polybotrys* var. *alaschanicum* (Fabaceae) and its phylogeny. *Mitochondrial DNA Part B*. 2021;6(11):3312–3313. DOI: 10.1080/23802359.2021.1994900.
10. Keleke A. S., Turuspaeva Zh. Zh., Ibragimova L. N. The study of acute toxicity of *Hedysarum semenowii* Regel & Herder extract. In: The XIV All-Russian scientific conference with international participation "Young pharmacy – the potential of the future". March 28 – April 2, 2024. St. Petersburg: Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University; 2024. P. 430–431. (In Russ.)
11. Jumabayeva A. M., Kozhamzharova A. S., Ibragimova L. N., Terninko I. I., Surbeeva E. S., Sakipova Z. B. Screening of the Alcohol Fraction of *Ferula akitschkensis* B. Fedtsch. ex Koso-Pol. by GC/MS Method. *Drug development & registration*. 2023;12(3):80–88. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-3-80-88.
12. Kadyrbay A., Sakipova Z. B., Krishtanova N. A., Ibragimova L. N., Ibrayeva M. B., Sakipov A. E., Bekbolatova E. N., Ridvanov Ch., Sermukhamedova O. V., Adilbek Y., Seiduali T. Y., Anartayeva A. K., Kazim A. U. Development of Optimal Technology for Drying Herbal Medicinal Raw Materials from Autumn Wormwood (*Artemisia serotina* Bunge) Based on Comparative Analysis. *Drug development & registration*. 2023;12(4):80–90. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1578.
13. Keleke A. S., Sakipova Z. B., Ibragimova L. N., Turuspaeva Zh. Zh. Method for obtaining a plant extract from the grass of the Semenov's kopeck (*Hedysarum semenowii* Regel & Herder). Patent of the Republic of Kazakhstan No. 9815. 22.11.2024. Available at: https://gosreestr.kazpatent.kz/Utilitymodel/Details?docNumber=398329/ Accessed: 03.07.2025. (In Russ.)
14. Mironova A. N. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ.)
15. Wilson S. L., Ahearne M., Hopkinson A. An overview of current techniques for ocular toxicity testing. *Toxicology*. 2015;327:32–46. DOI: 10.1016/j.tox.2014.11.003.
16. Mochizuki H., Suyama S., Cha J. Y., Ho P.-S., Shimoi A. Optimization of a histamine-induced allergic conjunctivitis model in Guinea pigs. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2022;113:107133. DOI: 10.1016/j.vascn.2021.107133.
17. Uthirapathy S., Krishnasamy G., Periyasamy G., Elangovan R. Toxicity Profiles of the Hydroalcoholic Seed Extract of *Psoralea corylifolia* L. (Fabaceae) in Wistar Rats. *Medicina Balear*. 2022;*37*(3):120–126. DOI: 10.3306/AJHS.2022.37.03.120.
18. Cossetin J. F., Spring de Almeida A., de David Antoniazzi C. T., Qader Kudsi S., Martiele Engelmann A., Gaube Guex C., Sorraila de Oliveira J., Theisen M. C., Santos Ritter C., Henrique Doleski P., da Silva Brum E., Padilha Dalenogare D., Spat Peres D., Guedes Pintos F., Melazzo de Andrade C., Bitencourt Rosa Leal D., Marchesan Oliveira S., de Freitas Bauermann L., Cougo Riéffel R., Rorato Sagrillo M., Kolinski Machado A., Soares Santos A. R., Trevisan G. Hydroalcoholic Extract of Leaf of *Arachis hypogaea* L. (Fabaceae) Did Not Induce Toxic Effects in the Repeated-Dose Toxicity Study in Rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2020;115:104683. DOI: 10.1016/j.yrtph.2020.104683.
19. Yu S.-Y., OuYang H.-T., Yang J.-Y., Huang X.-L., Yang T., Duan J.-P., Cheng J.-P., Chen Y.-X., Yang Y.-J., Qiong P. Subchronic Toxicity Studies of *Radix Astragali* Extract in Rats and Dogs. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;110(2):352–355. DOI: 10.1016/j.jep.2006.09.024.
20. Song J., Lee D., Min B., Bae J.-S., Chang G. T., Kim H. Safety Evaluation of *Astragalus* Extract Mixture HT042 and Its Constituent Herbs in Sprague-Dawley Rats. *Phytomedicine*. 2017;*32*:59–67. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.03.005.
21. Zhang Y., Li Y., Bian T., Sun Y., Zhang Z., Liu T., Gao F., Wang Y., Cao R., Xin E., Yan X. *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* Repairs Impaired Intestinal Barrier Function and Alleviates Colitis-Associated Colorectal Cancer via Remodeling Gut Microbiota and Metabolism. *Journal of Functional Foods*. 2023;108:105748. DOI: 10.1016/j.jff.2023.105748.
22. Zhang Y., Niu J., Zhang S., Si X., Bian T.-T., Wu H., Li D., Sun Y., Jia J., Xin E., Yan X., Li Y. Comparative Study on the Gastrointestinal- and Immune-Regulation Functions of *Hedysari Radix Praeparata Cum Melle* and *Astragali Radix Praeparata Cum Melle* in Rats with Spleen-Qi Deficiency Based on fuzzy matter-element analysis. *Pharmaceutical Biology*. 2022;60(1):1237–1254. DOI: 10.1080/13880209.2022.2086990.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.243; 615.356

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2153

Check for updates

CC BY 4.0

Изучение гастропротекторных свойств декспантенола при НПВП-гастропатии (доклинические исследования)

А. Ю. Кузнецов[1], А. В. Бузлама[1]✉, С. Доба[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1
[2] Университет Манара. Сирия, г. Латакия, 10-й проект

✉ **Контактное лицо:** Бузлама Анна Витальевна. **E-mail:** buzlamaa@yandex.ru

ORCID: А. Ю. Кузнецов – https://orcid.org/0000-0002-1306-0569;
А. В. Бузлама – https://orcid.org/0000-0003-4236-2387;
С. Х. Доба – https://orcid.org/0000-0003-1426-3701.

Статья поступила: 24.07.2025 **Статья принята в печать:** 15.10.2025 **Статья опубликована:** 17.10.2025

Резюме

Введение. Актуальным остается поиск новых гастропротекторов, одним из которых может являться декспантенол – предшественник пантотеновой кислоты, нетоксичный при приеме внутрь. В РФ не зарегистрированы препараты декспантенола для системного применения, использование для лечения кислото-зависимых заболеваний (К33) желудочно-кишечного тракта не известно, перспективно изучение его гастропротекторных свойств при пероральном применении.

Цель. Доклинические исследования гастропротекторной активности декспантенола при приеме внутрь на модели гастропатии, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП-гастропатии).

Материалы и методы. В эксперименте использовано 142 крысы-самца массой 220–280 г (конвенциональные, рандомбредные, альбиносы). НПВП-гастропатию моделировали путем введения диклофенака натрия внутрь однократно в дозе 50 мг/кг, эвтаназию проводили путем передозировки ингаляционного наркоза через 3 ч после введения диклофенака натрия. Декспантенол вводили внутрь однократно за 1 ч до диклофенака натрия: в дозах 400, 200, 40 мг/кг (раствор водный), в дозе 7 мг/кг (гель для приема внутрь 0,4 масс.%, гелеобразователь – хитозан высоковязкий). Препараты сравнения: висмута трикалия дицитрат, 17 мг/кг, диоксометилтетрагидропиримидин (син. метилурацил) в дозе 42 мг/кг – вводили однократно внутрь за 1 ч до диклофенака натрия. При помощи разработанного программного обеспечения [язык *Python* с графическим пользовательским интерфейсом (GUI)] определяли площадь язв на слизистой оболочке желудка (СОЖ) и их количество. Вычисляли по известным формулам индексы Паулса и противоязвенной активности, проводили гистологические исследования СОЖ, окраска – гематоксилин-эозин.

Результаты и обсуждение. При применении декспантенола выявлено дозозависимое уменьшение площади язвенных дефектов на СОЖ по сравнению с контролем, максимально в 2,7 раза (в дозе 40 мг/кг, 1,0 масс.% водный раствор, однократно перорально), значение индекса противоязвенной активности – 3,7, что выше, чем эффективность метилурацила. Гель для приема внутрь 0,4 масс.%, содержащий декспантенол, в дозе 7 мг/кг обеспечивает уменьшение площади язвенных дефектов на СОЖ на 63 %, величина индекса противоязвенной активности – 2,7, что превышает эффективность висмута трикалия дицитрата, подтверждается морфологическими признаками уменьшения выраженности воспалительного процесса, активизацией регенерации и, вероятно, обусловлено не только активностью декспантенола, но и синергизмом с хитозаном, а также обволакивающим действием лекарственной формы гель. Выявленная гастропротекторная активность декспантенола согласуется с известными механизмами его действия, в том числе такими, как сохранение целостности фосфолипидного бислоя, влияние на синтез муцина и белков плотных контактов (TJ), ядерные факторы транскрипции и апоптоза, факторы роста, цитокины, медиаторы воспаления, деление и дифференцировку клеток.

Заключение. Впервые доказано, что декспантенол обладает гастропротекторной активностью при приеме внутрь, что проявляется значительным достоверным уменьшением количества и площади язвенных дефектов СОЖ на модели НПВП-гастропатии при сравнении с контрольной группой, индекс противоязвенной активности: 3,7 – в дозе 40 мг/кг (1,0 масс.% водный раствор), что превышает эффект метилурацила, 2,7 – в дозе 7 мг/кг (гель для приема внутрь 0,4 масс.%, гелеобразователь – хитозан), подтверждается данными гистологических исследований и превосходит эффективность висмута трикалия дицитрата.

Ключевые слова: противоязвенные средства, регенеранты, репаранты, пантотеновая кислота, витамины, хитозан, гель

© Кузнецов А. Ю., Бузлама А. В., Доба С., 2025
© Kuznetsov A. Yu., Buzlama A. V., Doba S., 2025

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

Вклад авторов. А. Ю. Кузнецов, С. Х. Доба осуществляли проведение исследований, анализ данных. А. В. Бузлама – планирование, интерпретацию результатов. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и подготовке статьи.

Соответствие принципам этики. Животных не подвергали воздействиям, нарушающим принципы гуманности директивы Европейского сообщества (86/609/EEC), протокол этического комитета ФГБОУ ВО ВГУ № 42-03 от 08.10.2020 г.

Для цитирования: Кузнецов А. Ю., Бузлама А. В., Доба С. Изучение гастропротекторных свойств декспантенола при НПВП-гастропатии (доклинические исследования). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):221–228. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2153

The dexpantenol's gastroprotective proprieties investigation use by NSAID-gastropathy model (preclinical study)

Alexandr Yu. Kuznetsov[1], Anna V. Buzlama[1]✉, Solaiman Doba[2]

[1] Voronezh State University. 1, Universitetskaya ploshchad, Voronezh, 394018, Russia
[2] Manara University. 10th project , Latakia, Syria

✉ **Corresponding author:** Anna V. Buzlama. **E-mail:** buzlamaa@yandex.ru

ORCID: Alexandr Yu. Kuznetsov – https://orcid.org/0000-0002-1306-0569;
Anna V. Buzlama – https://orcid.org/0000-0003-4236-2387;
Solaiman Doba – https://orcid.org/0000-0003-1426-3701.

Received: 24.07.2025 **Accepted:** 15.10.2025 **Published:** 17.10.2025

Abstract

Introduction. The search for new gastroprotectors remains relevant, one of which could be dexpanthenol – a precursor of pantothenic acid that is non-toxic when taken orally. In Russia, systemic dexpanthenol preparations are not registered, and their use for treating acid-related diseases (ARDs) of the gastrointestinal tract isn't known, and studying its gastroprotective properties when administered orally is promising.

Aim. Study of gastroprotective properties of dexpanthenol in oral administration using a model of gastropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID-induced gastropathy) in preclinical research.

Materials and methods. The studies were conducted on 142 male outbred white rats weighing 220–280 g. The model used was NSAID-induced gastropathy with ulcerogenic agent sodium diclofenac, administered orally in a single dose of 50 mg/kg, euthanasia was performed 3 hours after administration via an overdose of chloroform anesthesia. Dexpanthenol was administered 1 hour before sodium diclofenac in a single oral dose in the form of an aqueous solution at doses of 400, 200, 40 mg/kg, and in the form of a developed 0.4 % gel (using high-viscosity chitosan as a gelling agent) at a dose of 7 mg/kg. Comparative drugs: dioxomethyltetrahydropyrimidine (syn. methyluracil) at a dose of 42 mg/kg, bismuth tripotassium dicitrate at a dose of 17 mg/kg. Both drugs were administered orally 1 hour before sodium diclofenac in a single dose. Evaluation criteria: number of animals with ulcers, number and area of ulcers on the gastric mucosa (GM) – determined using developed software written in Python with a graphical user interface (GUI). Calculation of the Pauls index and antiulcer activity index using known formulas, conducted histological examinations of the gastric mucosa with hematoxylin-eosin staining.

Results and discussion. It has been established that dexpanthenol provides a dose-dependent statistically significant reduction in the number and area of ulcers on the gastric mucosa, maximally by 2.7 times (at a dose of 40 mg/kg, 1,0 % aqueous solution, single oral administration) compared to the control group, and antiulcer activity index is 3.7, which exceeds the effectiveness of methyluracil. The 0,4 % dexpanthenol gel at a dose of 7 mg/kg demonstrated a significant reduction in ulcer area by 63 %, with an antiulcer activity index of 2.7, surpassing the effectiveness of bismuth tripotassium dicitrate. This is confirmed by signs of reduced inflammation intensity and activation of regeneration processes according to histological studies. The observed effects are likely attributed not only to dexpanthenol's intrinsic activity but also to synergistic interactions with chitosan and the gastroprotective mucoadhesive properties of the gel formulation. The revealed gastroprotective activity of dexpanthenol aligns with its known mechanisms of action, including preservation of phospholipid bilayer integrity, modulation of mucin and tight junction (TJ) protein synthesis, regulation of nuclear transcription and apoptosis factors, growth factors, cytokines, and inflammatory mediators, cell division and cell differentiation.

Conclusion. For the first time, it has been proven that dexpanthenol, when administered orally in a single dose on the NSAID-gastropathy model, exhibit gastroprotective activity. It provides a significant statistically significant reduction in the number and area of ulcers compared to the control group. The antiulcer activity index is 3.7 (at a dose of 40 mg/kg, 1.0 % aqueous solution) surpassing the efficacy of methyluracil, 2,7 – when administered as a 0,4 % gel at 7 mg/kg (with chitosan as the gelling agent), these results were confirmed by histological examination and demonstrated superior effectiveness compared to bismuth tripotassium dicitrate.

Keywords: anti-ulcer agents, regenerants, reparants, pantothenic acid, vitamins, chitosan, gel

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. Alexandr Yu. Kuznetsov and Solaiman Doba performed the experimental work and data analysis. Anna V. Buzlama contributed to study planning and results interpretation. All authors were involved in results discussion and manuscript preparation.

Compliance with the principles of ethics. The study was conducted in compli-ance with the principles of humanity in accordance with the directives of the European Community (86/609/EEC), protocol of the Ethical Committee of the Voronezh State University No. 42-03 dated October 8, 2020.

For citation: Kuznetsov A. Yu., Buzlama A. V., Doba S. The dexpantenol's gastroprotective proprieties investigation use by NSAID-gastropathy model (preclinical study). *Drug development & registration*. 2025;14(4):221–228. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2153

ВВЕДЕНИЕ

Оптимизация лечения кислотозависимых заболеваний (КЗЗ) желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) достигается различными подходами, включая использование многокомпонентной терапии, в том числе введения в схемы препаратов висмута, удвоение доз ингибиторов протонной помпы (ИПП), увеличение длительности курса, однако сообщается о недостаточной безопасности высоких доз ИПП при долгосрочной терапии [1, 2]. Актуальным остается поиск новых гастропротекторов, в том числе среди витаминоподобных веществ и др. соединений [2, 3], одним из которых может являться декспантенол – предшественник пантотеновой кислоты [4], нетоксичный при приеме внутрь, величина полулетальной дозы ($ЛД_{50}$) для мышей перорально – 15 000 мг/кг.

Лекарственные препараты (ЛП) декспантенола широко используются в топических лекарственных формах (мазь, суппозитории и др.) [5], применение в других областях, включая гастроэнтерологию, мало изучено [6, 7]. Известно, что декспантенол (500 мг/кг ежедневно перорально в течение 11 сут, внутрибрюшинно в течение 3 и 4 сут) улучшает клиническое состояние, снижает повреждение слизистой оболочки и маркеры воспаления на модели воспалительного поражения кишечника [7–10]. Механизмы действия декспантенола могут реализовываться через вторичные метаболические пути, в том числе с участием фермента ванин-1 (*VNN*-1), что доказано при пероральном введении пантетина (150 мг/кг) и цистеамина с пантотеновой кислотой на модели колита, индуцированного условно патогенным штаммом клостридий [11, 12]. В РФ не зарегистрированы ЛП декспантенола для системного применения, использование для лечения КЗЗ или профилактики гастропатии, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП-гастропатии), не известно, перспективно изучение гастропротекторных свойств при пероральном применении.

Цель: доклинические исследования гастропротекторной активности декспантенола при приеме внутрь на модели НПВП-гастропатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные, использованные в эксперименте, получены из питомника Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, всего – 142 крысы-самца массой 220–280 г (конвенциональные, рандомбредные, альбиносы). Животных не подвергали воздействиям, нарушающим принципы гуманности директивы Европейского сообщества (86/609/EEC), протокол этического комитета ФГБОУ ВО ВГУ № 42-03 от 08.10.2020 г. Использовали известную модель НПВП-гастропатии [13, 14], в которой в качестве ульцерогенного агента выбран диклофенак натрия, отличающийся от других НПВП быстрым (через 3 ч) формированием эрозивно-язвенных дефектов при однократном пероральном введении [14] и высоким индексом безопасности [отношение ульцерогенной дозы ($УД_{50}$) к средней терапевтической дозе ($ЕД_{50}$) составляет 6,0] [15], что позволяет избежать летальности животных в острый период эксперимента. Предварительно животных всех групп подвергали пищевой депривации на 24 ч при свободном доступе к воде. Для моделирования НПВП-гастропатии осуществляли введение диклофенака натрия (раствор в ампулах для инъекций 2,5 масс.%, «Хемофарм А.Д.», Сербия) внутрь однократно в известной ульцерогенной дозе 50 мг/кг [14, 15]. Затем через 3 ч проводили эвтаназию, для чего использовали метод передозировки ингаляционного хлороформного наркоза. Желудки извлекали, разрезали, промывали 0,9 масс.% раствором натрия хлорида, проводили макроскопический анализ состояния СОЖ. На базе БУЗ ВО «Воронежское областное патологоанатомическое бюро» изготовлены парафиновые срезы и проведены гистологические исследования, окраска гематоксилин-эозином. Предварительно за 1 ч до диклофенака натрия животным опытных групп через желудочный зонд внутрь однократно вводили препараты сравнения либо декспантенол (CAS 81-13-0, ЗАО «Вектон», Россия), контрольной группе – воду дистиллированную в эквивалентном объеме. Интактной группе здоровых животных никакие лекарственные препараты не вводили, осуществляли пищевую депривацию и затем эвтаназию

одновременно с животными контрольных и опытных групп.

Исследования проведены в 2 сериях опытов. В первой серии опытов декспантенол вводили животным однократно внутрь в форме водного раствора в дозах 400 мг/кг (10 масс.% водный раствор), 200 и 40 мг/кг (1 масс.% водный раствор). Диоксометилтетрагидропиримидин (CAS 626-48-2, ЗАО «Вектон», Россия), син. метилурацил, использованный в качестве препарата сравнения, вводили животным в дозе 42 мг/кг, что соответствует максимальной суточной дозе для взрослых при перерасчете.

Во второй серии опытов декспантенол вводили в форме геля для приема внутрь 0,4 масс.% в дозе 7 мг/кг. Разовая доза на данном этапе была уменьшена в 5,7 раза по отношению к дозе, определенной в первой серии как эффективная (40 мг/кг), в связи с тем, что для большинства гастропротекторов рекомендовано применение не менее чем 3–5 раз в день. Опытным путем подобран состав геля: хитозан (гелеобразователь, CAS 9012-76-4, Sigma-Aldrich, Япония) – 1 г, декспантенол – 0,4 г, кислота ледяная уксусная – 0,25 мл, вода очищенная – до 100 мл; гель стабильный, прозрачный, pH 5,3. Висмута трикалия дицитрат (CAS 57644-54-9, торговое наименование «Де-Нол», ЗАО «ЗиО-Здоровье», Россия), использованный в качестве препарата сравнения, вводили животным в форме суспензии в дозе 17 мг/кг, что соответствует терапевтической дозе для взрослых при перерасчете, для чего предварительно таблетки измельчали и затем порошок суспендировали в воде. Одной из групп животных вводили основу геля (хитозан – 1 г, кислота ледяная уксусная – 0,25 мл, вода очищенная – до 100 мл) в количестве 0,8 мл/кг по схеме, аналогичной опытной группе, получавшей гель, содержащий декспантенол.

В каждой из групп определяли количество животных с язвенными дефектами и эрозиями на СОЖ, вычисляли количество и суммарную площадь язвенных дефектов СОЖ с использованием разработанного нами программного обеспечения [язык *Python* с графическим пользовательским интерфейсом (GUI)], осуществляющего преобразование изображения (камера Levenhuk C800 NG, Россия, микроскоп Levenhuk 890T, Россия) в карту контрастности на основе заданных пороговых значений с последующим нахождением замкнутых контуров (Analysis of rat stomach ulcers 1.3, свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2023681331 РФ).

При помощи известной формулы (1) определяли индекс Паулса [13, 14]:

$$IP_S = \frac{S \cdot F\,\%}{100\,\%}, \qquad (1)$$

где IP_S – индекс Паулса; S – суммарная площадь язв в среднем из расчета на одно животное, мм^2; F – количество животных с язвами в группе, %.

Вычисляли индекс противоязвенной активности (AU) как отношение *IP* в контрольной группе к IP в опытной группе, критерий эффективности AU ≥ 2 [13, 14].

Результаты подвергали статистической обработке с использованием Microsoft Office Excel 2024, STATISTICA 14.0, уровень статистической значимости различий при параметрическом распределении оценивали при помощи t-критерия Стьюдента, при непараметрическом – критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-й серии опытов установлено, что влияние декспантенола в опытных группах животных приводило к снижению количества НПВП-индуцированных язв на СОЖ и их средней площади, при этом важно, что максимально выраженная эффективность выявлена в наименьшей из испытанных доз – 40 мг/кг, а именно в данной опытной группе в 2,7 раза (на 64 %) снизилась площадь язвенных дефектов СОЖ, на 46 % уменьшилось количество язв по сравнению с контрольной группой, 3,7 составила величина индекса противоязвенной активности, что следует расценивать как достаточную гастропротекторную активность, превышающую эффективность препарата сравнения метилурацил (таблица 1).

Во 2-й серии опытов установлено, что применение декспантенола в дозе 7 мг/кг в форме геля для приема внутрь 0,4 масс.% приводило к снижению количества язв на 15 %, площадь язв СОЖ уменьшилась на 63 %, величина индекса противоязвенной активности составила 2,7 (таблица 2), что превышает эффект основы геля и висмута трикалия дицитрата. Следует предположить, что достаточная гастропротекторная активность в дозе, меньшей по сравнению с 1-й серией опытов, вероятно, обусловлена не только активностью декспантенола, но и синергизмом с хитозаном, а также обволакивающим действием лекарственной формы гель.

По данным гистологических исследований, у здоровых животных интактной группы на всем протяжении полей зрения СОЖ нормального строения наблюдались единичные фигуры митоза и отдельные клетки в состоянии апоптоза на разных уровнях, только у одного животного данной группы обнаружена единичная поверхностная микроэрозия, вероятно связанная с предшествующей пищевой депривацией. У всех животных контрольной группы обнаружены множественные протяженные язвы до 50 % толщины СОЖ, единичные глубокие язвы до 70 % толщины, в зоне деструкции – кариопикноз или некроз с лизисом, эозинофилы, нейтрофилы, гематин, в перифокальной зоне – отек, лимфоциты. В опытной группе, получавшей декспантенол, гель 0,4 масс.%, выявлено снижение количества и глубины язв СОЖ (2–6 плоских и кратерообразных язв от 30 до 50 % толщины) либо 1–2 точечные эрозии до 30 % толщины СОЖ, на большом протяжении стенка желудка обычного ви-

Таблица 1. Исследование дозозависимости гастропротекторной активности декспантенола на модели НПВП-гастропатии

Table 1. Evaluation of dose-dependent gastroprotective activity of dexpanthenol in a model of NSAID-gastropathy

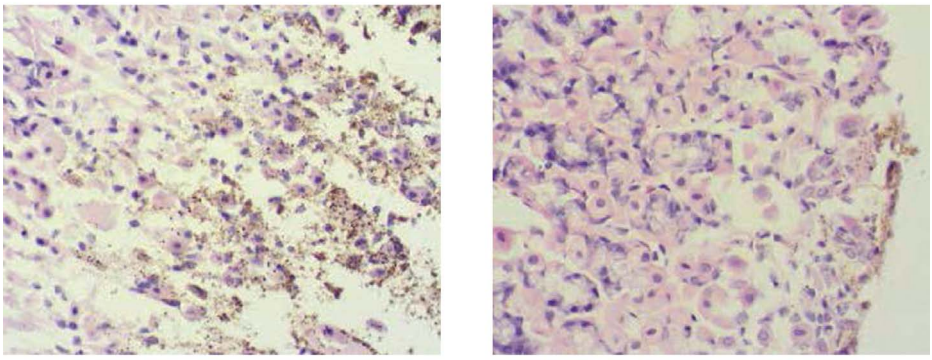
Показатель Parameter	*N*, шт/гол. *N*, pieces/1 individual	*S*, мм² *S*, mm²	*F*, %	IP_s	AU
Интактная группа Intact group	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,0	–	–
Контрольная группа Control group	25,26 ± 3,09	38,16 ± 7,61	100,0	38,16	–
Метилурацил, 42 мг/кг Methyluracil 42 mg/kg	20,10 ± 2,58	21,47 ± 4,58*	100,0	21,47	1,77
разница с контролем, % difference with the control group, %	–20,4	–43,7	–	–	–
Декспантенол, 40 мг/кг Dexpanthenol 40 mg/kg	13,72 ± 2,84*	13,93 ± 3,56**	75,0	10,44	3,65
разница с контролем, % difference with the control group, %	–45,7	–63,5	–25,0	–	–
Декспантенол, 200 мг/кг Dexpanthenol 200 mg/kg	26,36 ± 4,00*	22,48 ± 5,41	100,0	22,48	1,69
разница с контролем, % difference with the control group, %	+4,4	–41,1	–	–	–
Декспантенол, 400 мг/кг Dexpanthenol 400 mg/kg	20,36 ± 3,33	22,76 ± 7,73*	83,3	18,96	2,01
разница с контролем, % difference with the control group, %	–19,4	–40,4	–16,7	–	–

Примечание. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ – уровень статистической значимости различий при сравнении показателей в опытных группах с контрольной группой. $M \pm m$, где M – выборочное среднее; m – ошибка среднего, объем выборки в каждой из групп $n = 12$.

Note. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ – the statistical significance's level of differences when comparing indicators in experimental groups with the control group. $M \pm m$, where M – sample mean; m – mean squared error, sample size in each of the groups $n = 12$.

да с умеренной интенсивности воспалительной инфильтрацией смешанного характера (рисунок 1), что демонстрирует наличие морфологических признаков умеренного уменьшения выраженности воспалительного процесса и тенденции к повышению регенерации СОЖ, подтверждая полученные данные.

Выявленная гастропротекторная активность декспантенола согласуется с известными механизмами его действия и может быть обусловлена влиянием на ферменты антиоксидантной системы [16–18], повышением синтеза муцина и белков плотных контактов (TJ), сохранением целостности фосфолипидного бис-



А
A

Б
B

Рисунок 1. Гистологическая картина СОЖ на модели НПВП-гастропатии.
Окраска – гематоксилин-эозин, ув. ×40. А – контрольная группа; Б – группа декспантенол, гель 0,4 %, 7 мг/кг

Figure 1. Histological appearance of gastric mucosa in NSAID-gastropathy model.
Hematoxylin-eosin staining, magnification ×40. A – control group; B – dexpanthenol's gel 0,4 % group, 7 mg/kg

Таблица 2. Изучение гастропротекторной активности геля, содержащего декспантенол, на модели НПВП-гастропатии

Table 2. Evaluation of dexpantenol's gel gastroprotective in a model of NSAID- gastropathy

Показатель Parameter	*N*, шт/гол. *N*, pieces/1 individual	*S*, мм² *S*, mm²	*F*, %	IP_s	AU
Интактная группа Intact group	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0	–	–
Контрольная группа Control group	14,82 ± 1,23	46,94 ± 5,79	100	46,94	–
Висмута трикалия дицитрат, 17 мг/кг Bismuth tripotassium dicitrate, 17 mg/kg	16,20 ± 2,50	31,80 ± 4,66*	100	31,80	1,47
разница с контролем, % difference with the control group, %	+9,3	–32,3	–	–	–
Декспантенол, гель, 7 мг/кг Dexpanthenol's gel, 7 mg/kg	12,60 ± 1,60	17,40 ± 4,02***	100	17,40	2,69
разница с контролем, % difference with the control group, %	–15,0	–62,9	–	–	–
Основа геля Gel base	10,83 ± 1,66*	33,33 ± 8,08	100	33,33	1,41
разница с контролем, % difference with the control group, %	–26,9	–29,0	–	–	–

Примечание. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ – уровень статистической значимости различий при сравнении показателей в опытных группах с контрольной группой. $M \pm m$, где M – выборочное среднее; m – ошибка среднего, объем выборки в каждой из групп $n = 10$.

Note. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ – the statistical significance's level of differences when comparing indicators in experimental groups with the control group. $M \pm m$, where M – sample mean; m – mean squared error, sample size in each of the groups $n = 10$.

лоя, снижением избыточного отложения коллагена при повреждении ЖКТ [11, 12]. Кроме того, известно, что декспантенол посредством фермента VNN1 катаболизируется в кишечнике до бутирата, являющегося энергетическим субстратом и регулятором деления клеток слизистой оболочки ЖКТ, и пропионата, подавляющего продукцию провоспалительных интерлейкинов ИЛ-17 и ИЛ-22 колоноцитами [11, 12]. Механизмы регенераторной активности декспантенола включают также влияние на ядерные факторы транскрипции и апоптоза [10, 11, 16–18], цитокины, медиаторы воспаления [17–19], факторы роста, деление и дифференцировку клеток посредством активации передачи по каноническому сигнальному пути *Wnt*/катенина [10, 19–21], изменение показателей миграции клеток [22], что в целом позволяет считать его перспективным компонентом для разработки новых гастропротекторных средств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые доказано, что декспантенол обладает гастропротекторной активностью при приеме внутрь, что проявляется значительным достоверным уменьшением количества и площади язвенных дефектов СОЖ на модели НПВП-гастропатии при сравнении с контрольной группой, индекс противоязвенной активности: 3,7 – в дозе 40 мг/кг (1,0 масс.% водный раствор), что превышает эффект метилурацила, 2,7 – в дозе 7 мг/кг (гель для приема внутрь 0,4 масс.%, гелеобразователь – хитозан), подтверждается данными гистологических исследований и превосходит эффективность висмута трикалия дицитрата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трухан Д. И., Филимонов С. Н. Побочные эффекты ингибиторов протонной помпы при длительном применении. Обзор последних публикаций. *Медицина в Кузбассе*. 2025;24(1):61–72.
2. Тряпышко А. А., Дехнич Н. Н. Комбинация гастропротекторов и пробиотиков в эрадикации инфекции *H. pylori*: результаты рандомизированного сравнительного клинического исследования. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2023;25(2):142–149. DOI: 10.36488/cmac.2023.2.142-149.
3. Курманова Е. Н., Ферубко Е. В., Курманов Р. К., Мартынчик И. А. Гастропротективные и противовоспалительные свойства володушки золотистой травы экстракта сухого. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(2):222–225.
4. Doba S., Buzlama A., Kuznetsov A. Pharmacological effects of dexpanthenol. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2024;17(7):3499–3504. DOI: 10.52711/0974-360X.2024.00547.
5. Дворянкова Е. В. Место декспантенола в общей клинической практике. *Клиническая дерматология и венерология*. 2020;19(1):82–86. DOI: 10.17116/klinderma20201901182.
6. Смехова И. Е., Шигарова Л. В., Андреева П. И., Флисюк Е. В., Дзюба А. С. Применение подхода Quality-by-Design для обоснования состава и технологии двух-

компонентных суппозиториев. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):142–149. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-142-149.
7. Cagin Y. F., Atayan Y., Sahin N., Parlakpinar H., Polat A., Vardi N., Tagluk M. E., Tanbek K., Yildiz A. Beneficial effects of dexpanthenol on mesenteric ischemia and reperfusion injury in experimental rat model. *Free Radical Research*. 2016;50(3):354–365. DOI: 10.3109/10715762.2015.1126834.
8. Uysal H. B., Dagli B., Yilmaz M., Kahyaoglu F., Gökçimen A., Omurlu I. K., Demirc B. Protective effects of dexpanthenol against acetaminophen-induced hepatorenal damage. *Biomedical Research*. 2017;28(2):740–749.
9. Cagin Y. F., Parlakpinar H., Vardi N., Polat A., Atayan Y., Erdogan M. A., Tanbek K. Effects of dexpanthenol on acetic acid-induced colitis in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016;12(5):2958–2964. DOI: 10.3892/etm.2016.3728.
10. Motatabzadeh S. M., Abtahi Froushani S. M. Effects of adding dexpanthenol to prednisolone in an experimental model of inflammatory bowel disease. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*. 2020;28(130):237–246. DOI: 10.30699/jambs.28.130.237.
11. Karadag A., Ozdemir R., Kurt A., Parlakpinar H., Polat A., Vardi N., Taslidere E., Karaman A. Protective effects of dexpanthenol in an experimental model of necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery*. 2015;50(7):1119–1124. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2014.10.053.
12. Millet V., Gensollen T., Maltese M., Serrero M., Lesavre N., Bourges C., Pitaval C., Cadra S., Chasson L., Vu Man T. P., Masse M., Martinez-Garcia J. J., Tranchida F., Shintu L., Mostert K., Strauss E., Lepage P., Chamaillard M., Broggi A., Galland F. Harnessing the Vnn1 pantetheinase pathway boosts short chain fatty acids production and mucosal protection in colitis. *Gut*. 2022;72(6):1115–1128. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325792.
13. Багинская А. И., Ферубко Е. В., Курманова Е. Н., Воскобойникова И. В., Колхир В. К., Сидельников Н. И. Экспериментальные модели эрозивноязвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки. М.: Издательский дом «Русский врач»; 2017. 96 с.
14. Бузлама А. В., Николаевский В. А., Чернов Ю. Н., Сливкин А. И. Доклинические исследования лекарственных веществ. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017. 383 с.
15. Миронов А. Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
16. Ceylan H., Yapici S., Tutar E., Ceylan N. O., Tarakçıoğlu M., Demiryurek A. T. Protective effects of dexpanthenol and Y-27632 on stricture formation in a rat model of caustic esophageal injury. *Journal of Surgical Research*. 2011;171(2):517–523. DOI: 10.1016/j.jss.2010.05.005.
17. Zhao X., Zhang S., Shao H. Dexpanthenol attenuates inflammatory damage and apoptosis in kidney and liver tissues of septic mice. *Bioengineered*. 2022;13(5):11625–11635. DOI: 10.1080/21655979.2022.2070585.
18. Ozcan M. S., Savran M., Kumbul Doguc D., Kubra Dogan H., Altintas M., Cosan S. Dexpanthenol ameliorates lipopolysaccharide-induced cardiovascular toxicity by regulating the IL-6/HIF1α/VEGF pathway. *Heliyon*. 2024;10(1):e24007. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e24007.
19. Kırgız Ö., Altuğ M. E., Özkan H., Han M. C., Akçakavak G., Özarslan A. C., Yücel S. 45S5 bioactive glass-ointment positively effects on wound healing in rats by regulating TNFα, Il-10, VEGF, and TGFβ. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2024;38(17–18):e25094. DOI: 10.1002/jcla.25094.
20. Shin J. Y., Kim J., Choi Y.-H., Kang N.-G., Lee S. Dexpanthenol promotes cell growth by preventing cell senescence and apoptosis in cultured human hair follicle cells. *Current Issues in Molecular Biology*. 2021;43(3):1361–1373. DOI: 10.3390/cimb43030097.
21. Heise R., Skazik C., Marquardt Y., Czaja K., Sebastian K., Kurschat P., Gan L., Denecke B., Ekanayake-Bohlig S., Wilhelm K.-P., Merk H. F., Baron J. M. Dexpanthenol modulates gene expression in skin wound healing in vivo. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2012;25(5):241–248. DOI: 10.1159/000341144.
22. Yildizhan E., Ulger B. V., Akkus M., Akinci D., Basol O. Comparison of topical sucralfate with dexpanthenol in rat wound model. *International Journal of Experimental Pathology*. 2022;103(4):164–170. DOI: 10.1111/iep.12441.

REFERENCES

1. Trukhan D. I., Filimonov S. N. Side effects of proton pump inhibitors with long-term use. A review of recent publications. *Medicine in Kuzbass*. 2025;24(1):61–72. (In Russ.)
2. Tryapyshko A. A., Dekhnich N. N. Combination of gastroprotectors and probiotics in the eradication of *H. pylori* infection: results of a randomized comparative clinical trial. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2023;25(2):142–149. (In Russ.) DOI: 10.36488/cmac.2023.2.142-149.
3. Kurmanova E. N., Ferubko E. V., Kurmanov R. K., Martynchik I. A. Gastroprotective and anti-inflammatory properties of bupleurum aureum dry extract. *Drug development & registration*. 2017;(2):222–225. (In Russ.)
4. Doba S., Buzlama A., Kuznetsov A. Pharmacological effects of dexpanthenol. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2024;17(7):3499–3504. DOI: 10.52711/0974-360X.2024.00547.
5. Dvoriankova E. V. Place of dexpanthenol in clinical practice. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology*. 2020;19(1):82–86. (In Russ.) DOI: 10.17116/klinderma20201901182.
6. Smekhova I. E., Shigarova L. V., Andreeva P. I., Flisyuk E. V., Dzyuba A. S. Application of Quality-by-Design approach to justify the composition and technology of two-component suppositories. *Drug development & registration*. 2022;11(4):142–149. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4-142-149.
7. Cagin Y. F., Atayan Y., Sahin N., Parlakpinar H., Polat A., Vardi N., Tagluk M. E., Tanbek K., Yildiz A. Beneficial effects of dexpanthenol on mesenteric ischemia and reperfusion injury in experimental rat model. *Free Radical Research*. 2016;50(3):354–365. DOI: 10.3109/10715762.2015.1126834.
8. Uysal H. B., Dagli B., Yilmaz M., Kahyaoglu F., Gökçimen A., Omurlu I. K., Demirc B. Protective effects of dexpanthenol against acetaminophen-induced hepatorenal damage. *Biomedical Research*. 2017;28(2):740–749.
9. Cagin Y. F., Parlakpinar H., Vardi N., Polat A., Atayan Y., Erdogan M. A., Tanbek K. Effects of dexpanthenol on acetic acid-induced colitis in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016;12(5):2958–2964. DOI: 10.3892/etm.2016.3728.

10. Motatabzadeh S. M., Abtahi Froushani S. M. Effects of adding dexpanthenol to prednisolone in an experimental model of inflammatory bowel disease. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*. 2020;28(130):237–246. DOI: 10.30699/jambs.28.130.237.
11. Karadag A., Ozdemir R., Kurt A., Parlakpinar H., Polat A., Vardi N., Taslidere E., Karaman A. Protective effects of dexpanthenol in an experimental model of necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery*. 2015;50(7):1119–1124. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2014.10.053.
12. Millet V., Gensollen T., Maltese M., Serrero M., Lesavre N., Bourges C., Pitaval C., Cadra S., Chasson L., Vu Man T. P., Masse M., Martinez-Garcia J. J., Tranchida F., Shintu L., Mostert K., Strauss E., Lepage P., Chamaillard M., Broggi A., Galland F. Harnessing the Vnn1 pantetheinase pathway boosts short chain fatty acids production and mucosal protection in colitis. *Gut*. 2022;72(6):1115–1128. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325792.
13. Baginskaya A. I., Ferubko E. V., Kurmanova E. N., Voskoboynikova I. V., Kolkhir V. K., Sidel'nikov N. I. Experimental models of erosive and ulcerative lesions of the stomach and duodenum. Moscow: Izdatel'skiy dom «Russkiy vrach»; 2017. 96 p. (In Russ.)
14. Buzlama A. V., Nikolaevskiy V. A., Chernov Yu. N., Slivkin A. I. Preclinical studies of medicinal substances. Moscow: GEOTAR-Media; 2017. 383 p. (In Russ.)
15. Mironov A. N., editor. Guidelines for conducting preclinical drug trials. Part One. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ.)
16. Ceylan H., Yapici S., Tutar E., Ceylan N. O., Tarakçıoğlu M., Demiryurek A. T. Protective effects of dexpanthenol and Y-27632 on stricture formation in a rat model of caustic esophageal injury. *Journal of Surgical Research*. 2011;171(2):517–523. DOI: 10.1016/j.jss.2010.05.005.
17. Zhao X., Zhang S., Shao H. Dexpanthenol attenuates inflammatory damage and apoptosis in kidney and liver tissues of septic mice. *Bioengineered*. 2022;13(5):11625–11635. DOI: 10.1080/21655979.2022.2070585.
18. Ozcan M. S., Savran M., Kumbul Doguc D., Kubra Dogan H., Altintas M., Cosan S. Dexpanthenol ameliorates lipopolysaccharide-induced cardiovascular toxicity by regulating the IL-6/HIF1α/VEGF pathway. *Heliyon*. 2024;10(1):e24007. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e24007.
19. Kırgız Ö., Altuğ M. E., Özkan H., Han M. C., Akçakavak G., Özarslan A. C., Yücel S. 45S5 bioactive glass-ointment positively effects on wound healing in rats by regulating TNFα, Il-10, VEGF, and TGFβ. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2024;38(17–18):e25094. DOI: 10.1002/jcla.25094.
20. Shin J. Y., Kim J., Choi Y.-H., Kang N.-G., Lee S. Dexpanthenol promotes cell growth by preventing cell senescence and apoptosis in cultured human hair follicle cells. *Current Issues in Molecular Biology*. 2021;43(3):1361–1373. DOI: 10.3390/cimb43030097.
21. Heise R., Skazik C., Marquardt Y., Czaja K., Sebastian K., Kurschat P., Gan L., Denecke B., Ekanayake-Bohlig S., Wilhelm K.-P., Merk H. F., Baron J. M. Dexpanthenol modulates gene expression in skin wound healing in vivo. *Skin Pharmacology and Physiology*. 2012;25(5):241–248. DOI: 10.1159/000341144.
22. Yildizhan E., Ulger B. V., Akkus M., Akinci D., Basol O. Comparison of topical sucralfate with dexpanthenol in rat wound model. *International Journal of Experimental Pathology*. 2022;103(4):164–170. DOI: 10.1111/iep.12441.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.036.8; 543.544.53; 616-006.448

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2138

Check for updates

CC BY 4.0

Целевое метаболомное профилирование множественной миеломы: диагностика и оценка эффективности терапии

В. Г. Варзиева✉, К. М. Шестакова, А. А. Болдин, Д. А. Куцакина, Ю. Ю. Кириченко, Ю. Н. Беленков, И. С. Ильгисонис, В. В. Тарасов, С. А. Апполонова

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:** Варзиева Валерия Георгиевна. **E-mail:** varzieva.valeria@gmail.com

ORCID: В. Г. Варзиева – https://orcid.org/0000-0002-9067-8717;
К. М. Шестакова – https://orcid.org/0000-0001-6554-3936;
А. А. Болдин – https://orcid.org/0000-0001-6817-6270;
Д. А. Куцакина – https://orcid.org/0009-0001-7169-0577;
Ю. Ю. Кириченко – https://orcid.org/0000-0002-8271-7704;
Ю. Н. Беленков – https://orcid.org/0000-0002-3014-6129;
И. С. Ильгисонис – https://orcid.org/0000-0001-6817-6270;
В. В. Тарасов – https://orcid.org/0000-0002-9394-7994;
С. А. Апполонова – https://orcid.org/0000-0002-9032-1558.

Статья поступила: 03.07.2025 **Статья принята в печать:** 31.10.2025 **Статья опубликована:** 01.11.2025

Резюме

Введение. Множественная миелома (ММ) представляет собой злокачественное заболевание плазматических клеток, характеризующееся выраженной гетерогенностью клинического течения и вариабельностью ответа на лечение. Метаболомный анализ, отражающий совокупность малых молекул в биологических жидкостях, открывает новые возможности для поиска диагностических и прогностических биомаркеров.

Цель. Оценить метаболомные профили пациентов с ММ и выявить метаболические маркеры, ассоциированные с эффективностью полихимиотерапии.

Материалы и методы. Исследование проводилось с сентября 2022 года по май 2025 года на базе кафедры госпитальной терапии № 1 Сеченовского Университета. Проведен целевой анализ метаболитов плазмы крови 29 пациентов с ММ до начала лечения и 30 здоровых добровольцев (контроль). Пациенты были разделены на группы с ответом и без ответа на основании результатов проведения трех курсов терапии первой линии по протоколу VCD.

Результаты и обсуждение. Обнаружены значительные различия в метаболомных профилях пациентов с ММ по сравнению с контрольной группой. У больных ММ отмечен повышенный катаболизм триптофана через кинурениновый путь (~41 % увеличение соотношения кинуренин/триптофан, ~80 % снижение уровня серотонина), изменения в метаболитах цикла мочевины и оксида азота (~28 % снижение аргинина, ~5,3-кратное увеличение асимметричного диметиларгинина), а также аминокислотный дисбаланс (снижение уровня серина, аспартата, BCAA) и значительное увеличение общего количества ацилкарнитинов (в ~1,4 раза выше, чем в контроле). Исходный метаболический профиль также отличался у пациентов с различными результатами лечения: до лечения у пациентов, у которых впоследствии наблюдался клинический ответ, были снижены уровни некоторых ацилкарнитинов и продуктов распада триптофана (например, антраниловой кислоты), в то время как у пациентов без ответа были снижены уровни 5-гидрокситриптофана, индол-3-молочной кислоты и гистидина.

Заключение. Метаболомный анализ выявил характерные метаболические изменения при ММ, отражающие активацию иммунометаболических путей (триптофан-кинурениновый путь, метаболизм аргинина) и нарушение регуляции энергии и аминокислот. Полученные результаты указывают на потенциальную прогностическую значимость метаболитов: ряд биомаркеров (например, производные триптофана, ацилкарнитины) может быть связан с чувствительностью к химиотерапии. Полученные данные открывают перспективы для дальнейших исследований метаболических подходов в мониторинге и терапии ММ.

© Варзиева В. Г., Шестакова К. М., Болдин А. А., Куцакина Д. А., Кириченко Ю. Ю., Беленков Ю. Н., Ильгисонис И. С., Тарасов В. В., Апполонова С. А., 2025
© Varzieva V. G., Shestakova K. M., Boldin A. A., Kutsakina D. A., Kirichenko Yu. Yu., Belenkov Yu. N., Ilgisonis I. S., Tarasov V. V., Appolonova S. A., 2025

Ключевые слова: метаболомика, множественная миелома, биомаркер, эффективность лечения, прогноз, диагностика

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

Вклад авторов. В. Г. Варзиева, С. А. Апполонова спланировали эксперимент и проводили анализ образцов. И. С. Ильгисонис, Д. А. Куцакина – сбор образцов и клинических данных пациентов. К. М. Шестакова, А. А. Болдин участвовали в обработке данных. Ю. Н. Беленков, В. В. Тарасов осуществляли научное консультирование и редактирование статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда: грант № 24-75-00062 «Изучение роли омных маркеров (микроРНК-155, микроРНК-146а, метаболомный профиль) как ранних предикторов васкулотоксичности полихимиотерапии».

Соответствие принципам этики. Исследование было одобрено этическим комитетом Сеченовского Университета (протокол № 25-22, 08.12.2022 г.) и проводилось в соответствии с этическими принципами медицинских исследований с участием людей, изложенными в Хельсинкской декларации.

Для цитирования: Варзиева В. Г., Шестакова К. М., Болдин А. А., Куцакина Д. А., Кириченко Ю. Ю., Беленков Ю. Н., Ильгисонис И. С., Тарасов В. В., Апполонова С. А. Целевое метаболомное профилирование множественной миеломы: диагностика и оценка эффективности терапии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):229–248. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2138

Targeted metabolomic profiling of multiple myeloma: diagnostics and treatment efficacy

Valeria G. Varzieva✉, Ksenia M. Shestakova, Andrey A. Boldin, Daria A. Kutsakina, Yulia Yu. Kirichenko, Yuri N. Belenkov, Irina S. Ilgisonis, Vadim V. Tarasov, Svetlana A. Appolonova

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:** Valeria G. Varzieva. **E-mail:** varzieva.valeria@gmail.com

ORCID: Valeria G. Varzieva – https://orcid.org/0000-0002-9067-8717;
Ksenia M. Shestakova – https://orcid.org/0000-0001-6554-3936;
Andrey A. Boldin – https://orcid.org/0000-0001-6817-6270;
Daria A. Kutsakina – https://orcid.org/0009-0001-7169-0577;
Yulia Yu. Kirichenko – https://orcid.org/0000-0002-8271-7704;
Yuri N. Belenkov – https://orcid.org/0000-0002-3014-6129;
Irina S. Ilgisonis – https://orcid.org/0000-0001-6817-6270;
Vadim V. Tarasov – https://orcid.org/0000-0002-9394-7994;
Svetlana A. Appolonova – https://orcid.org/0000-0002-9032-1558.

Received: 03.07.2025 **Accepted:** 31.10.2025 **Published:** 01.11.2025

Abstract

Introduction. Multiple myeloma (MM) is a malignant disease of plasma cells characterized by marked heterogeneity of the clinical course and variability in response to treatment. Metabolomic analysis, which reflects the totality of small molecules in biological fluids, opens up new possibilities for the search for diagnostic and prognostic biomarkers.

Aim. To evaluate metabolomic profiles of patients with multiple myeloma (MM) and to identify metabolic markers associated with the efficacy of polychemotherapy.

Materials and methods. The study was conducted from September 2022 to May 2025 at the Department of Hospital Therapy No. 1 of Sechenov University. We performed targeted analysis of plasma metabolites in 29 pre-treatment MM patients and 30 healthy volunteers (controls). Patients were divided into response and no response groups based on the results of therapy with VCD protocol after three courses.

Results and discussion. Significant differences in metabolomic profiles of MM patients compared to controls were found. MM patients showed increased tryptophan catabolism via the kynurenine pathway (~41 % increase in kynurenine/tryptophan ratio, ~80 % decrease in serotonin levels), changes in urea and nitric oxide cycle metabolites (~28 % decrease in arginine, ~5.3-fold increase in asymmetric dimethylarginine), and amino acid imbalances (decrease in serine, aspartate, BCAA) and a significant increase in total acylcarnitines (~1.4-fold higher than control). The baseline metabolic profile also differed between patients with different treatment outcomes: before treatment, patients who subsequently showed a clinical response had lower levels of several acylcarnitines and tryptophan breakdown products (e.g. anthranilic acid), whereas patients without response showed decreased levels of 5-hydroxytryptophan, indole-3-lactic acid and histidine.

Conclusions. Metabolomic analysis revealed characteristic metabolic alterations in MM reflecting activation of immunometabolic pathways (tryptophan kynurenine pathway, arginine metabolism) and impaired energy and amino acid regulation. The results indicate the potential prognostic significance of metabolites: a number of biomarkers (e.g. tryptophan derivatives, acylcarnitines)

may be associated with chemotherapy sensitivity. The findings open the prospects for further research on metabolic approaches in MM monitoring and therapy.

Keywords: metabolomics, multiple myeloma, biomarker, treatment efficacy, prognosis, diagnosis

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. Valeria G. Varzieva and Svetlana A. Appolonova designed the experiment and analyzed the samples. Irina S. Ilgisonis and Daria A. Kutsakina collected the samples and clinical data from the patients. Ksenia M. Shestakova and Andrey A. Boldin participated in data processing. Yuri N. Belenkov and Vadim V. Tarasov provided scientific advice and edited the article. All authors participated in the discussion of the results and in writing the text of the article.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation: Grant No. 24-75-00062 "Investigation of the Role of Omic Markers (MicroRNA-155, MicroRNA-146a, Metabolomic Profile) as Early Predictors of Polychemotherapy Vasculotoxicity".

Compliance with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee of Sechenov University (Protocol No. 25-22, December 8, 2022) and was conducted in accordance with the ethical principles of medical research involving human subjects as set out in the Declaration of Helsinki.

For citation: Varzieva V. G., Shestakova K. M., Boldin A. A., Kutsakina D. A., Kirichenko Yu. Yu., Belenkov Yu. N., Ilgisonis I. S., Tarasov V. V., Appolonova S. A. Targeted metabolomic profiling of multiple myeloma: diagnostics and treatment efficacy. *Drug development & registration*. 2025;14(4):229–248. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2138

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) – злокачественное заболевание плазматических клеток, характеризующееся их клональной пролиферацией в костном мозге и избыточной продукцией моноклонального иммуноглобулина [1]. В последние годы разработаны эффективные схемы полихимиотерапии (ПХТ) с использованием протеасомных ингибиторов (бортезомиб, карфилзомиб), иммуномодуляторов (талидомид, леналидомид) и моноклональных антител, что существенно улучшило выживаемость больных ММ [2, 3]. Тем не менее ММ остается неизлечимой: заболевание отличается высокой гетерогенностью и непредсказуемостью ответа на терапию, от полного ответа до лекарственной резистентности у разных пациентов [4]. В связи с этим актуален поиск новых прогностических биомаркеров и мишеней для терапии, включая молекулярные и метаболические характеристики опухоли.

Метаболическое перепрограммирование является одной из особенностей злокачественных клеток. Опухолевые клетки изменяют собственный метаболизм для поддержания собственного роста и уклонения от противоопухолевого иммунитета [5]. Изучение метаболических изменений при ММ представляет большой интерес по двум основным причинам. Во-первых, метаболомные маркеры имеют потенциал служить ранними диагностическими инструментами и контролировать эффективность лечения. Во-вторых, они отражают патофизиологические процессы, которые могут быть жизнеспособными целями для новых методов лечения [4, 6, 7].

Метаболомика – совокупный анализ малых молекул метаболитов в биологических образцах – позволяет получить «отпечаток» метаболических нарушений, ассоциированных с заболеванием. Этот подход продемонстрировал значительный потенциал в выявлении характерных особенностей метаболизма, связанных с различными патологиями [8–11]. Недавний систематический обзор показал, что метаболический профиль крови у пациентов с ММ существенно отличается от такового у здоровых людей [12].

В частности, у больных ММ часто наблюдается активация кинуренинового пути метаболизма триптофана вследствие повышенной экспрессии триптофан-диоксигеназы 2 (TDO2) – фермента, превращающего триптофан в кинуренин [13]. Данный иммунометаболический сдвиг приводит к истощению запасов триптофана и накоплению иммуносупрессивных продуктов, способствуя угнетению противоопухолевого иммунитета [14]. Кроме того, у пациентов с ММ и другими гемобластозами описано изменение метаболизма аргинина: повышенная активность аргиназы в микроокружении опухоли и продукция метаболитов мочевинного цикла могут истощать L-аргинин, необходимый для нормальной Т-клеточной функции [15]. Нарушения энергетического обмена так-

же характерны для прогрессирования ММ: по данным метаболомных исследований, в плазме больных обнаруживаются повышенные уровни ряда ацилкарнитинов (производных жирных кислот), свидетельствующие о дисбалансе бета-окисления и митохондриальной функции [7]. В совокупности эти данные указывают на то, что метаболический фенотип ММ тесно связан с патогенезом болезни и реакцией на лечение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Целью исследования являлся анализ метаболомных профилей пациентов с ММ для выявления метаболитов, связанных как с самим заболеванием, так и с ответом на терапию. Для этого в исследование были включены пациенты, соответствующие критериям включения, а также группа здоровых добровольцев, использованная в качестве контроля. У всех участников до начала лечения проводился забор крови, после чего выполнялся таргетный метаболомный анализ плазмы. На первом этапе сравнивались профили пациентов с ММ и здоровых добровольцев, что позволило определить метаболиты, ассоциированные с заболеванием. На втором этапе пациенты с ММ были разделены на группы по наличию или отсутствию ответа на химиотерапию и их метаболомные профили сопоставлялись между собой для выявления потенциальных предикторов терапевтического ответа.

В исследование были включены 29 пациентов с впервые выявленной ММ и 30 здоровых добровольцев. Информированное согласие было получено от всех участников исследования. Исследование проводилось с сентября 2022 года по май 2025 года на базе кафедры госпитальной терапии № 1 Сеченовского Университета. Исследование было одобрено этическим комитетом Сеченовского Университета (протокол № 25-22, 08.12.2022 г.). Дополнительная информация о клинических характеристиках исследуемых групп представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клинические данные участников исследования

Table 1. Clinical data of study participants

Параметр Parameter	**Пациенты с ММ** Patients with MM			**Контроль** Control	***p*-value**
	Пациенты с ответом на терапию Patients with a response to therapy	**Пациенты без ответа на терапию** Patients with no response to therapy	**Без конечных точек** No endpoints		
Количество участников (М/Ж) Number of participants (M/F)	15 (8/7)	11 (2/9)	3 (2/1)	29 (9/20)	–
Возраст (ср. знач. +/– ст. откл.) Age (mean +/– standard deviation)	64,3 ± 2,6	63,9 ± 13,.2	58,0 ± 19,8	46,7 ± 5,9	0.0002
ИМТ (ср. знач. +/– ст. откл.) BMI (mean +/– standard deviation)	25,7 ± 5,1	25,8 ± 4,7	25,0 ± 3,0	23,7 ± 3,5	0.009
Курение (да/нет) Smoking (yes/no)	3/12	1/10	1/2	0	–
Стадия на момент постановки диагноза по классификации ISS (I/II/III) Stage at diagnosis according to the ISS classification (I/II/III)	7/5/3	4/6/1	Нет данных No data	–	–
Тип секреции Ig Ig secretion type	IgG (Gk) – 12 IgG (G λ) – 2 IgA (Ak) – 1	IgG (Gk) – 8 IgG (G λ) – 1 IgA (A λ) – 2	Нет данных No data	–	–
Уровень парапротеина, мг/л (ср. знач. +/– ст. откл.) Paraprotein level, mg/L (mean +/– standard deviation)	35,1+/–13,1	33,3+/–19,6	Нет данных No data	–	–

Примечание. *P*-value – значение критерия Стьюдента при сравнении значений с контрольной группой.

Note. *P*-value is the value of the Student's t-test when comparing values with the control group.

В исследуемую группу вошли пациенты с подтвержденным диагнозом впервые выявленной множественной миеломы, определенной согласно клиническим рекомендациям, не имеющие других онкологических заболеваний в анамнезе и не являющиеся кандидатами для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК)[1]. В группу контроля вошли пациенты без злокачественных новообразований в анамнезе. Критериями исключения для обеих когорт были: возраст до 18 лет, наличие других заболеваний в острой фазе, обострение любых хронических заболеваний, сахарный диабет, острые респираторные инфекции, наркологическая и алкогольная зависимости, беременность и период лактации. Дополнительно критериями исключения для исследуемой группы были: макроглобулинемия Вальденстрема; острые коронарные и церебральные события в течение 6 месяцев до включения в исследование; морфологически подтвержденный амилоидоз; смена курса терапии; гиперчувствительность к компонентам терапии.

Образцы крови пациентов собирали в двух точках: до начала противоопухолевой терапии и после трех курсов лечения по протоколу VCD (бортезомиб, циклофосфамид, дексаметазон), когда оценивается первый ответ на терапию. Пациенты включались в группу ответа, если они соответствовали критериям частичного ответа, очень хорошего частичного ответа или полного ответа, согласно клиническим рекомендациям. Далее 2,5 мл образца крови отбирали в вакуумные пробирки с консервантом K_2-ЭДТА, после сбора образцы крови центрифугировали, а полученную плазму аликвотировали и хранили при –80 °C до проведения анализа.

Целевой метаболомный анализ

Анализ включал целевое количественное определение 98 эндогенных соединений. Аликвоты исследуемых образцов размораживали при комнатной температуре, отбирали 10 мкл и переносили в микропробирку типа «эппендорф» объемом 2,0 мл. Далее вносили смесь изотопно-меченых внутренних стандартов, которая включала стандартные образцы аминокислот и ацилкарнитинов для неонатального скрининга MassChrom (Chromsystems, Германия), а также производные триптофанового обмена (Toronto Research Chemicals, Канада). Затем пробы перемешивали на вортексе и упаривали досуха. К сухому остатку добавляли 50 мкл дериватизирующей смеси фенилизотиоцианата (Sigma-Aldrich, США) (ацетонитрил : вода : пиридин, 1 : 1 : 1) и оставляли при комнатной температуре в течение 20 мин. Далее в образцы добавляли 100 мкл 5 мМ раствора ацетата аммония в метаноле (Sigma-Aldrich, США) и перемешивали на шейкере в течение 30 мин. Затем в пробы добавляли 100 мкл деионизированной воды из установки Milli-Q Plus (Millipore, Франция), перемешивали на вортексе, центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 10 мин. Отбирали 100 мкл и отправляли на ВЭЖХ-МС/МС анализ.

Образцы анализировали с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) и масс-спектрометрического детектора с ионизацией электрораспылением Agilent 6460 (Agilent Technologies, США) с установленной аналитической колонкой для ВЭЖХ Acquity UPLC BEH C18, 2,1 × 50 мм, размер частиц 1,7 мкм (Waters Corporation, США). Подвижная фаза А – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты (Sigma-Aldrich, США) и 0,01%-й раствор гептафтормасляной кислоты (Sigma-Aldrich, США) в воде деионизированной, подвижная фаза В – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле для ВЭЖХ (Sigma-Aldrich, США). Градиентное элюирование проводили следующим образом: линейное изменение растворителя В составляло от 1 до 30 % в течение 0,5–1 мин; от 30 до 75 % – в течение 1–3 мин; от 75 до 95 % – в течение 3–3,5 мин и поддерживалось на уровне 95 % 4,5 мин; от 95 до 1 % – в течение 4,5–4,6 мин и поддерживалось на уровне 1 % в течение 4,6–6 мин. Скорость потока подвижной фазы составляла 0,5 мл/мин. Параметры масс-спектрометрического анализа: температура газа в источнике – 300 °C; расход распыляющего газа – 11 л/мин; давление на распылителе – 30 psi; напряжение на капилляре – 3500 кВ. Масс-спектрометрический анализ осуществлялся в режиме положительной ионизации методом мониторинга множественных реакций.

Статистическая обработка данных

Полученные масс-хроматограммы обрабатывались с применением программного обеспечения MassHunter (Agilent Technologies, США). Статистическая обработка и анализ экспериментальных данных проводились с помощью пакета Stats языка программирования Python, программ STATISTICA 10.0, SPSS 23.0, SIMCA 13.0. Выбросы в метаболомных данных оценивали с помощью метода IQR. Выбросы и пропущенные значения заменяли на медианные значения в данной группе. Оценку различия выборочных средних количественных переменных выполняли с помощью параметрического критерия Стьюдента или непараметрического критерия Манна – Уитни.

Метод главных компонент и ортогональный метод частичных наименьших квадратов для дискриминационного анализа (OPLS-DA) выполняли при помощи ПО Umetrics SIMCA P+ (Umeå, Швеция).

[1] Клинические рекомендации. Множественная миелома. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Доступно по: https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/144_2. Ссылка активна на25.09.2025.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая характеристика исследования

В данном исследовании мы изучили целевые метаболомные профили пациентов с ММ и здоровых добровольцев. Пациентам в группе с ММ была проведена терапия первой линии по схеме VCD, по результатам которой они были разделены на подгруппы с ответом на терапию и без него. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Анализ методом главных компонент (МГК) позволил выявить значимые различия между группой контроля и группой пациентов с множественной миеломой (ММ), что свидетельствует о существенных метаболических отличиях между этими группами. Однако внутри группы ММ разделение пациентов относительно их ответа на ПХТ менее точное (рисунок 2).

Метаболомные маркеры множественной миеломы

В результате унивариантного анализа, включающего оценку различий выборочных средних и кратность изменений концентраций метаболомного профиля пациентов из исследуемых групп, а также на основе исследования насыщения метаболических путей было выявлено, что для пациентов с ММ характерны изменения в метаболизме триптофана (в особенности метаболитов серотонинового пути), метаболитов цикла мочевины и оксида азота, а также аминокислотного и ацилкарнитинового профилей. Результаты анализа представлены в таблице 2.

На рисунке 3 представлены пузырьковые диаграммы, отражающие значимые различия в концентрациях метаболитов в плазме крови пациентов с ММ в сравнении с их уровнями в контрольной группе.

Метаболомные маркеры ответа на терапию

Далее выполняли ретроспективный анализ метаболомных профилей внутри группы пациентов с ММ, разделенных относительно их ответа на три курса терапии первой линии.

В результате унивариантного анализа было установлено, что в зависимости от ответа на терапию метаболомные профили пациентов с ММ до начала терапии различаются по концентрационным уровням продуктов катаболизма триптофана (индол-3-лактата, антранилловой кислоты, 5-ОН-триптофана), гистидина, таурина и ацилкарнитинов. В таблице 3 указаны метаболиты, позволяющие различить пациентов по ответу на терапию.

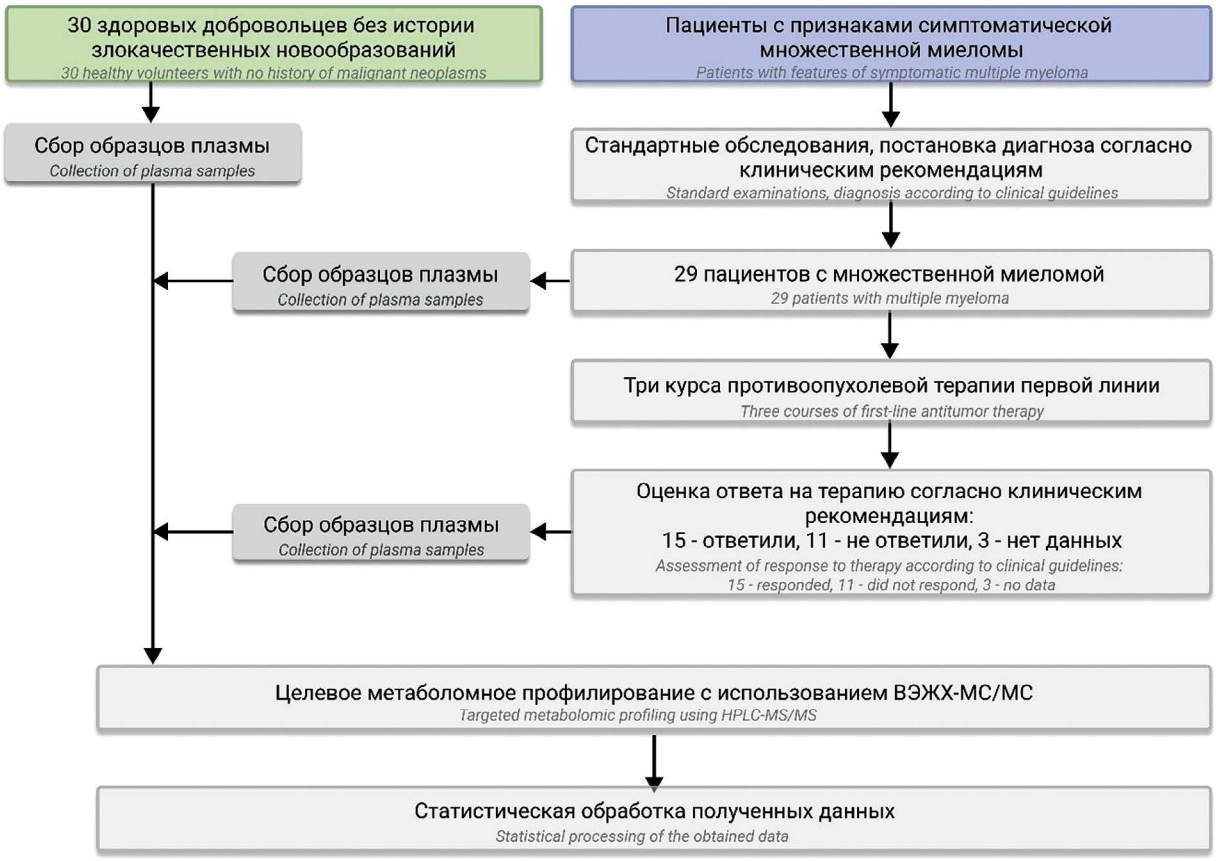


Рисунок 1. Блок-схема дизайна исследования

Figure 1. Study design flow-chart

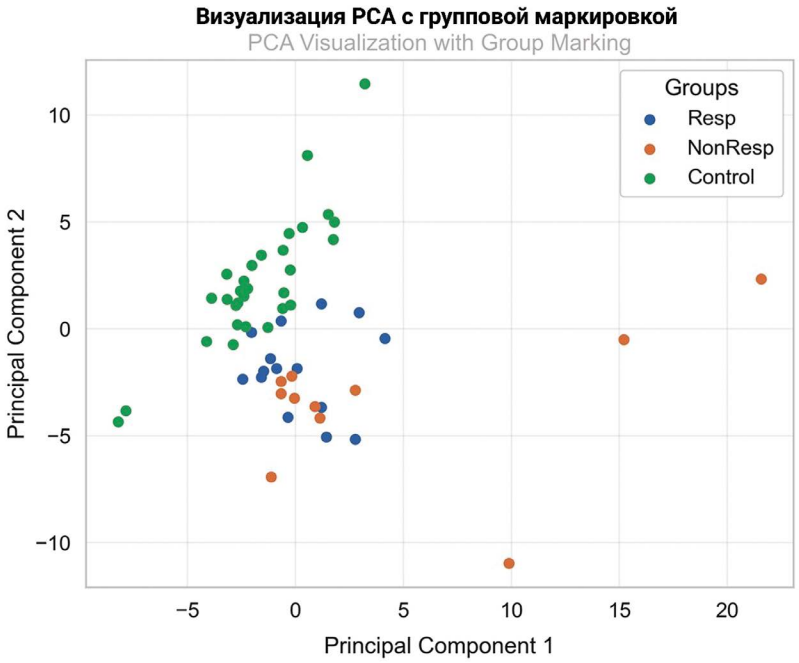


Рисунок 2. Распределение пациентов из экспериментальных групп относительно двух главных компонент с использованием метода МГК

Resp – группа с ответом на терапию; NonResp – группа без ответа на терапию; Control – контроль

Figure 2. Distribution of patients from the experimental groups with respect to the two principal components using the PCA method

Resp – group with response to therapy; NonResp – group without response to therapy; Control – control

Таблица 2. Результаты метаболомного профилирования пациентов

Table 2. Results of metabolomic profiling of patients

Метаболиты Metabolite	***p*-value**	**FC (ММ vs Контроль)** FC (MM vs Control)	**log_2FC**	**Направленность изменения при ММ** Direction of change in MM
Метаболиты триптофана Tryptophan metabolites				
Триптофан Tryptophan	<0,00001	1,00	–0,32	↓
5-гидрокситриптофан 5-hydroxyryptophan	<0,00001	1,35	0,43	↑
Серотонин Serotonin	<0,00001	0,24	–2,07	↓
5-ГИУК 5-HIAA	<0,00001	49,75	5,64	↑
Мелатонин Melatonin	<0,00001	0,78	–0,36	↓
Кинуренин/триптофан Kynurenin/tryptophan	<0,00001	1,41	0,49	↑
Кинуреновая к-та Kynurenic acid	<0,00001	1,34	0,42	↑
Хиноленовая к-та Quinolinic acid	<0,00001	2,21	1,14	↑
Индол-3-карбоксальдегид Indole-3-carboxaldehyde	<0,00001	1,37	0,45	↑
Индол-3-молочная к-та Indole-3-lactic acid	<0,00001	1,46	0,54	↑
Метаболиты цикла мочевины и оксида азота Metabolites of the NO cycle				
Аргинин Arginine	<0,00001	0,72	–0,48	↓
АДМА ADMA	<0,00001	5,31	2,41	↑
СДМА SDMA	<0,00001	3,70	1,89	↑

Метаболиты Metabolite	*p*-value	FC (MM vs Контроль) FC (MM vs Control)	log_2FC	Направленность изменения при ММ Direction of change in MM
N-MMA N-MMA	<0,00001	3,37	1,75	↑
Орнитин Ornithine	<0,00001	0,80	–0,32	↓
Цитруллин Citrulline	<0,00001	0,49	–1,03	↓
Аминокислоты Amino acids				
Лизин Lysine	<0,00001	1,93	0,95	↑
Серин Serine	<0,00001	0,47	–1,10	↓
Аспартат Aspartate	<0,0001	0,37	–1,43	↓
Фенилаланин Phenylalanine	<0,0001	0,77	–0,38	↓
Гидроксипролин Hydroxyproline	<0,0001	1,61	0,68	↑
Глутамат Glutamate	<0,0001	0,71	–0,50	↓
Метилгистидин Methylhistidine	<0,0001	0,50	–0,99	↓
Глутамин Glutamine	<0,001	0,86	–0,22	↓
Гистидин Histidine	<0,001	0,73	–0,46	↓
Валин Valine	<0,001	0,86	–0,22	↓
Пролин Proline	<0,001	1,25	0.32	↑
Аспарагин Asparagine	<0,001	1,20	0,26	↑
Суммарное содержание BCAA Total BCAA content	<0,001	0,88	–0,19	↓
Лейцин + изолейцин Leucine + isoleucine	<0,001	0,88	–0,19	↓
Ацилкарнитины Acylcarnitines				
Сумма ацилкарнитинов Total acylcarnitine content	<0,01	1,44	0,53	↑
C0	<0,01	1,46	0,55	↑
C2	<0,05	1,35	0,44	↑
C3	<0,05	1,52	0,61	↑
C4	<0,05	2,04	1,03	↑
C5	<0,05	1,45	0,53	↑
C5-1	<0,05	1,59	0,67	↑
C5-OH	<0,05	0,74	–0,44	↓
C8-1	<0,01	0,50	–1,00	↓
C10-1	<0,01	4,00	2,00	↑
C10-2	<0,01	3,06	1,61	↑
C12-1	<0,05	0,53	–0,91	↓
C14-OH	<0,05	0,75	–0,42	↓
C16-1	<0,05	1,38	0,46	↑
C18-1	<0,05	1,43	0,51	↑
C18-1-OH	<0,01	4,97	2,31	↑
Другие метаболиты Other metabolites				
Цитидин Cytidine	<0,001	1,38	0,47	↑
Уридин Uridine	<0,001	0,29	–1,76	↓
Таурин Taurine	<0,001	0,26	–1,96	↓
Аденозин Adenosine	<0,01	0,40	–1,32	↓
Карнозин Carnosine	<0,01	0,53	–0,92	↓
Креатинин Creatinine	<0,01	0,75	–0,42	↓
Пантотеновая к-та Pantothenic acid	<0,01	1,36	0,44	↑
Рибофлавин Riboflavin	<0,01	1,33	0,41	↑
Бетаин Betain	<0,01	2,27	1,18	↑
Холин Choline	<0,01	1,44	0,52	↑
TMAO TMAO	<0,01	2,69	1,43	↑

Примечание. FC – Fold Change; *p*-value – критерий Стьюдента; 5-ГИУК – 5-гидроксииндолуксусная кислота; АДМА – асимметричный диметиларгинин; СДМА – симметричный диметиларгинин; N-MMA – N-монометиларгинин; BCAA – аминокислоты с разветвленной цепью; С – ацилкарнитин, TMAO – триметиламин-N-оксид.

Note. FC – Fold Change; *p*-value – Student's t-test; 5-HIAA – 5-hydroxyindoleacetic acid; ADMA – asymmetric dimethylarginine; SDMA – symmetric dimethylarginine; N-MMA – N-monomethylarginine; BCAA – branched-chain amino acids; C – acylcarnitine, TMAO – trimethylamine-N-oxide.

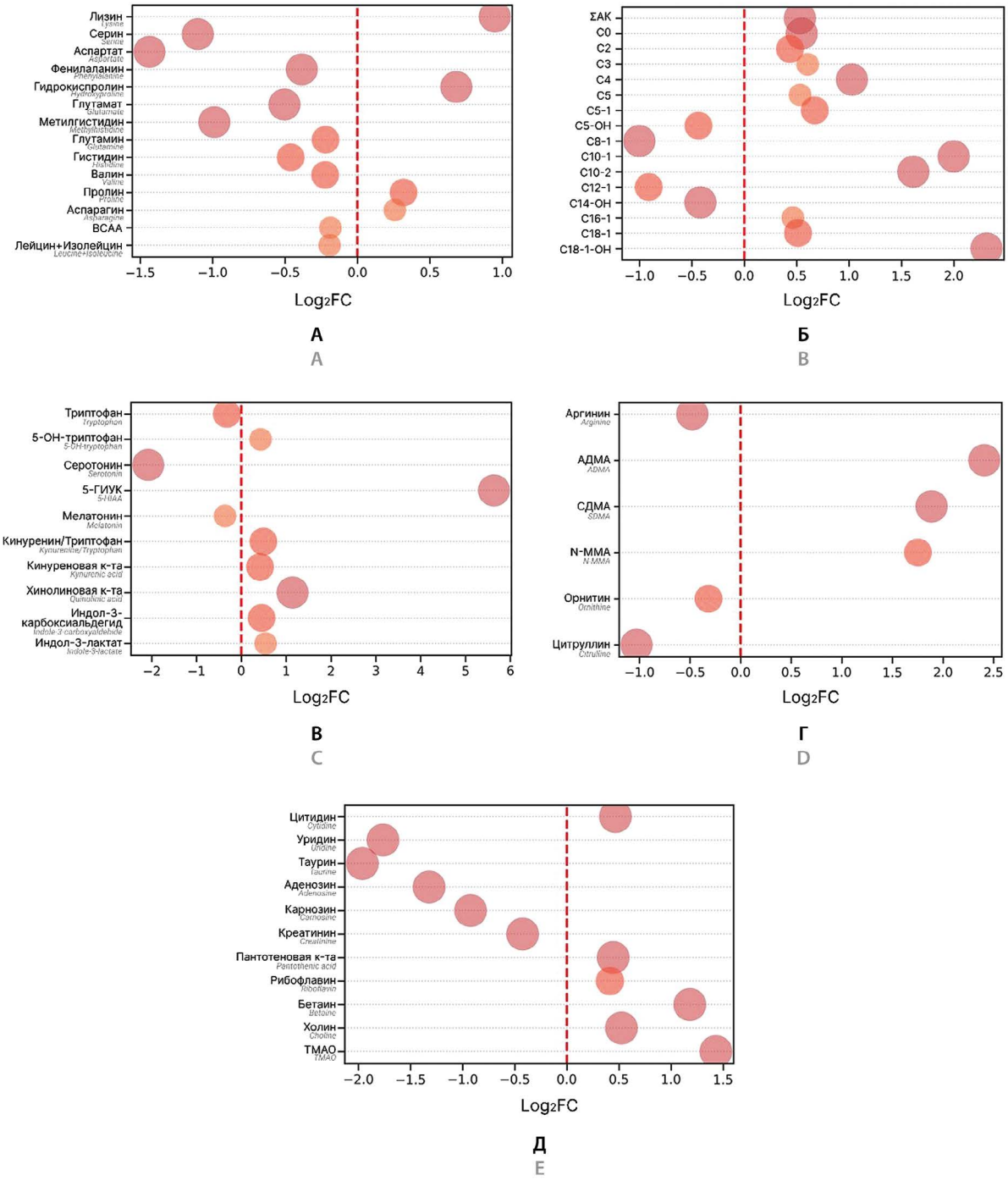


Рисунок 3. Пузырьковые диаграммы, иллюстрирующие метаболиты, концентрационные уровни которых существенно различались в исследуемых группах пациентов:

А – метаболиты аминокислотного профиля; Б – метаболиты ацилкарнитинового профиля; В – интермедиаты катаболизма триптофана; Г – метаболиты цикла оксида азота и мочевины; Д – другие метаболиты. Положение пузырей относительно оси *X* определяется значением логарифма кратности изменения концентрации метаболита в группе ММ по сравнению с группой контроля. Чем дальше пузырь расположен от красной линии, тем сильнее выражено различие по данному метаболиту между группами. Размер пузыря обратно пропорционален значению *p*-значения: чем больше пузырь, тем более статистически значимо различие

Figure 3. Bubble diagrams illustrating metabolites which concentration levels differed significantly in the studied groups:

A – amino acids; B – acylcarnitines; C – intermediates of tryptophan catabolism; D – metabolites of NO cycle; E – other metabolites. The position of the bubbles relative to the *X*-axis is determined by the logarithm of the fold change in the metabolite concentration in the MM group compared to the control group. The further the bubble is from the red line, the greater the difference in this metabolite between the two groups

Таблица 3. Результаты метаболомного профилирования пациентов с делением на группы по ответу на терапию

Table 3. Results of metabolomic profiling of patients divided into groups according to response to therapy

Метаболит Metabolite	*p*-value	Log_2FC	Направленность изменения в группе без ответа Direction of change in the no response group
Антраниловая к-та Antranilic acid	<0,01	1,4	↑
Гистидин Histidine	<0,01	–0,8	↓
Лизин Lysine	<0,05	–0,4	↓
5-гидрокситриптофан 5-hydroxytryptophan	<0,05	–0,6	↓
Индол-3-молочная к-та Indole-3-lactic acid	<0,05	–0,5	↓
Таурин Taurine	<0,05	0,9	↑
N-MMA	<0,05	1,5	↑
C0	<0,05	0,5	↑
C2	<0,05	0,9	↑
C4	<0,05	1,3	↑
C5-DC	<0,05	0,9	↑
C6	<0,01	1,5	↑
C8	<0,01	1,2	↑
C10-1	<0,01	1,4	↑
C10	<0,05	1,1	↑
C14-2	<0,05	1,1	↑
C14-1	<0,05	1,0	↑
C16-1	<0,05	1,0	↑
C16-1-OH	<0,05	0,9	↑
C16-OH	<0,05	–0,3	↓
C18-1	<0,05	–0,8	↓
C18-1-OH	<0,05	1,0	↑
C18-2	<0,05	0,9	↑

Примечание. FC – Fold Change; *p*-value – критерий Стьюдента; N-MMA – N-monomethylarginine.

Note. FC – Fold Change; p-value – Student's t-test; N-MMA – N-monomethylarginine.

На рисунке 4 представлены метаболиты, концентрационные уровни которых до начала лечения существенно различались у пациентов с ответом и без ответа на терапию. Точки, расположенные в верхней части графика, отражают метаболиты с высокой статистической значимостью (*p*-значение < 0,05) и значительными изменениями абсолютных значений ($|log_2FC| > 0,58$). Положение точек относительно горизонтальной оси указывает на направление изменения: точки справа свидетельствуют о значимом повышении уровня метаболита у пациентов с положительным ответом по сравнению с группой без ответа на терапию, а слева – о его снижении.

ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика и дизайн исследования

В исследование были включены 29 пациентов с подтвержденной множественной миеломой до начала лечения и 30 здоровых добровольцев без злокачественных новообразований в анамнезе. Средний возраст пациентов с ММ составил ~64 года, что значимо выше, чем в контроле (~47 лет, $p < 0,001$), также группа пациентов характеризовалась несколько большим средним ИМТ ($p < 0,01$), который был в пределах референтных значений. Пациентам проводилась терапия по протоколу VCD, содержащему бортезомиб, циклофосфамид и дексаметазон без снижения дозировок препаратов; по результатам ранней оценки эффективности терапии были выделены подгруппы больных, достигших ответа на терапию (частичная/полная ремиссия, $n = 15$), и с отсутствием ответа (стабилизация или прогрессия заболевания, $n = 11$). У 3 пациентов эффективность лечения не была оценена (они исключены при сравнении подгрупп). Рисунок 1 иллюстрирует общий дизайн исследования, включая разделение выборок и проведение метаболомного анализа. Для сравнительной оценки групп применялся многомерный статистический метод – анализ главных компонент (МГК). Рисунок 2 показывает распределение образцов на плоскости первых двух главных компонент: наблюдается четкое разделение контрольных образцов и образцов пациентов с ММ, что свидетельствует об общем различии метаболических профилей между здоровыми и больными. В то же время разделение внутри группы ММ по признаку ответа на терапию выражено менее отчетливо (частичное перекрытие точек подгрупп на графике), что указывает на более тонкие метаболические отличия между пациентами с различным ответом на терапию. Тем не менее дальнейший унивариантный анализ позволил выявить ряд отдельных метаболитов, концентрации которых статистически значимо различались между этими подгруппами до начала лечения (см. таблицу 3 и рисунок 4).

Метаболомные маркеры множественной миеломы

Результаты количественного метаболомного профилирования выявили широкий спектр метаболитов, измененных при ММ по сравнению со здоровыми. Наиболее выраженные различия затрагивают катаболизм триптофана по кинурениновому и серотониновому путям; метаболизм аргинина; профиль свободных аминокислот; уровень ацилкарнитинов. Полный список существенных метаболитов приведен в таблице 2. На рисунке 5 изображены наиболее во-

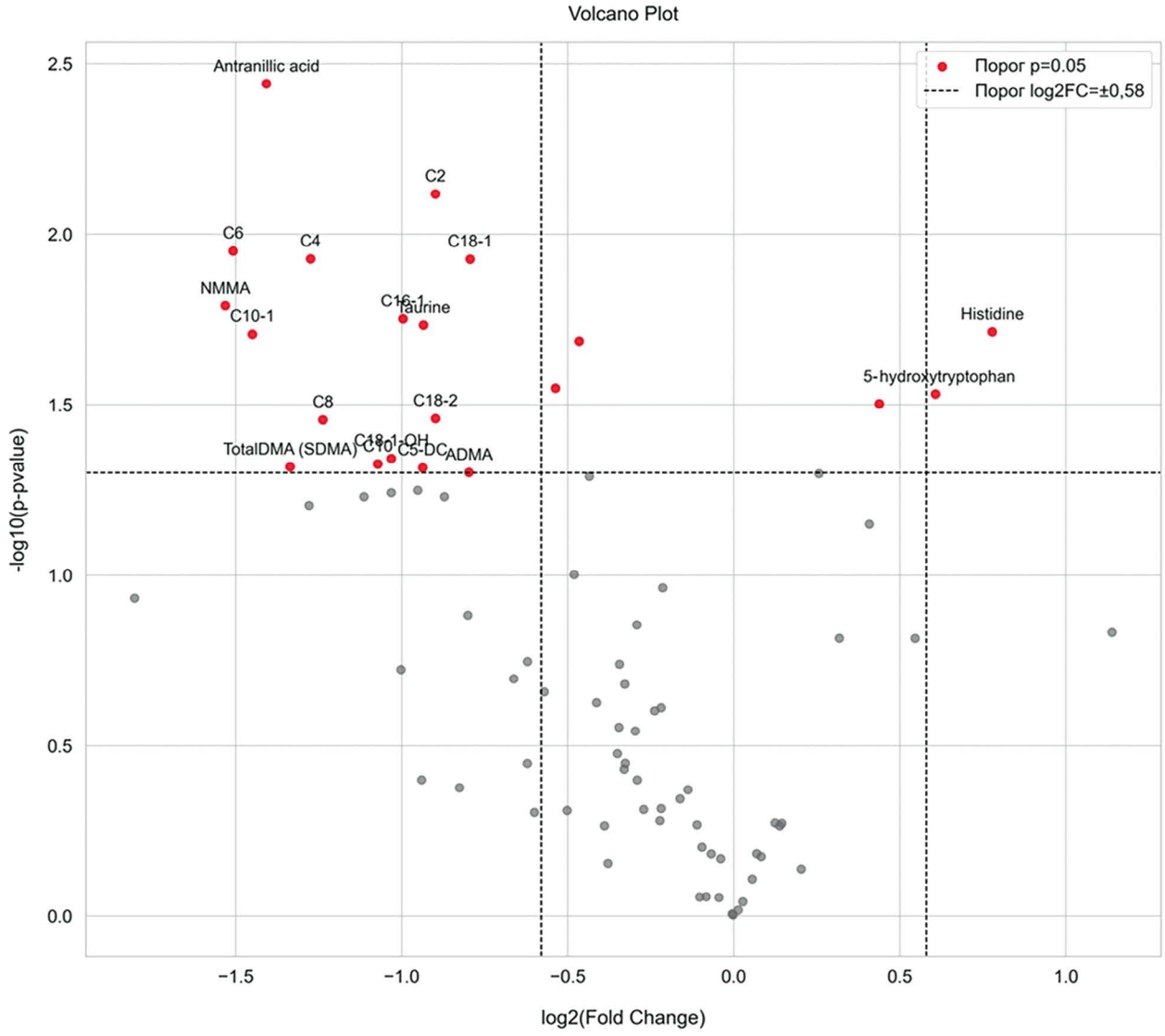


Рисунок 4. Вулканическая диаграмма, отражающая различия в концентрациях метаболитов между подгруппами пациентов с ответом и без ответа на терапию

Figure 4. Volcano plot showing differences in metabolite concentrations between subgroups of patients with and without response to chemotherapy

влеченные метаболические пути. Ниже обсуждаются ключевые изменения и их возможное биологическое значение.

Триптофановый путь

У пациентов с ММ обнаружены отчетливые нарушения обмена триптофана. На рисунке 6 изображена схема метаболизма триптофана с указанием изменений концентраций метаболитов.

Концентрация самого триптофана в плазме была несколько ниже, чем у здоровых ($log_2FC = –0.32$; $p < 0,00001$), однако особенно заметны изменения в его производных. В образцах больных резко снижены уровни нейромедиатора серотонина ($log_2FC = –2.07$; $p < 0,00001$) и его производного мелатонина. Одновременно значительно повышены метаболиты альтернативного кинуренинового пути (соотношение кинуренин/триптофан увеличено: $log_2FC = 0,49$; $p < 0,00001$), а также абсолютные концентрации нескольких катаболитов триптофана – кинуреновой кислоты, хинолиновой кислоты, индол-3-карбоксальдегида, индол-3-молочной кислоты ($log_2FC = 0,42–1,14$; $p < 0,00001$). Эти сдвиги указывают на активацию фермента TDO2 (триптофан-диоксигеназа 2), катализирующего превращение триптофана в кинуренин и экспрессирующегося клетками ММ, и, как следствие, усиление кинуренинового пути при ММ [7, 16]. Следствием является истощение пула триптофана, доступного для синтеза серотонина, что объясняет снижение уровня серотонина у больных.

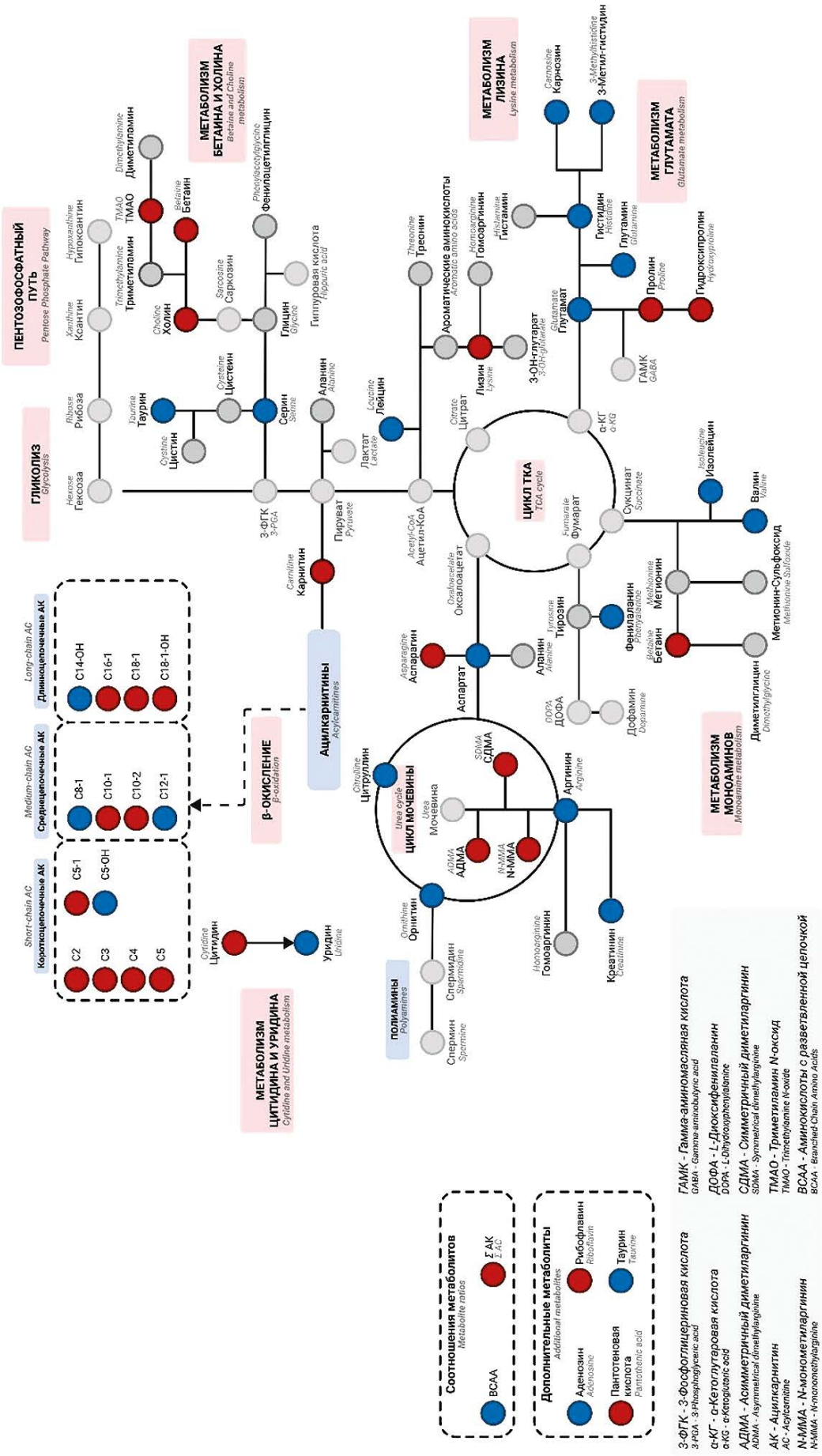


Рисунок 5. Общая схема метаболизма, отражающая изменения метаболомного профиля, характерные для множественной миеломы. Красным цветом отмечены метаболиты с повышенными концентрациями, синим – с пониженными

Figure 5. General outline of the changes in the metabolomic profile characteristic of MM. Metabolites with increased concentrations are marked in red, and those with decreased concentrations are marked in blue

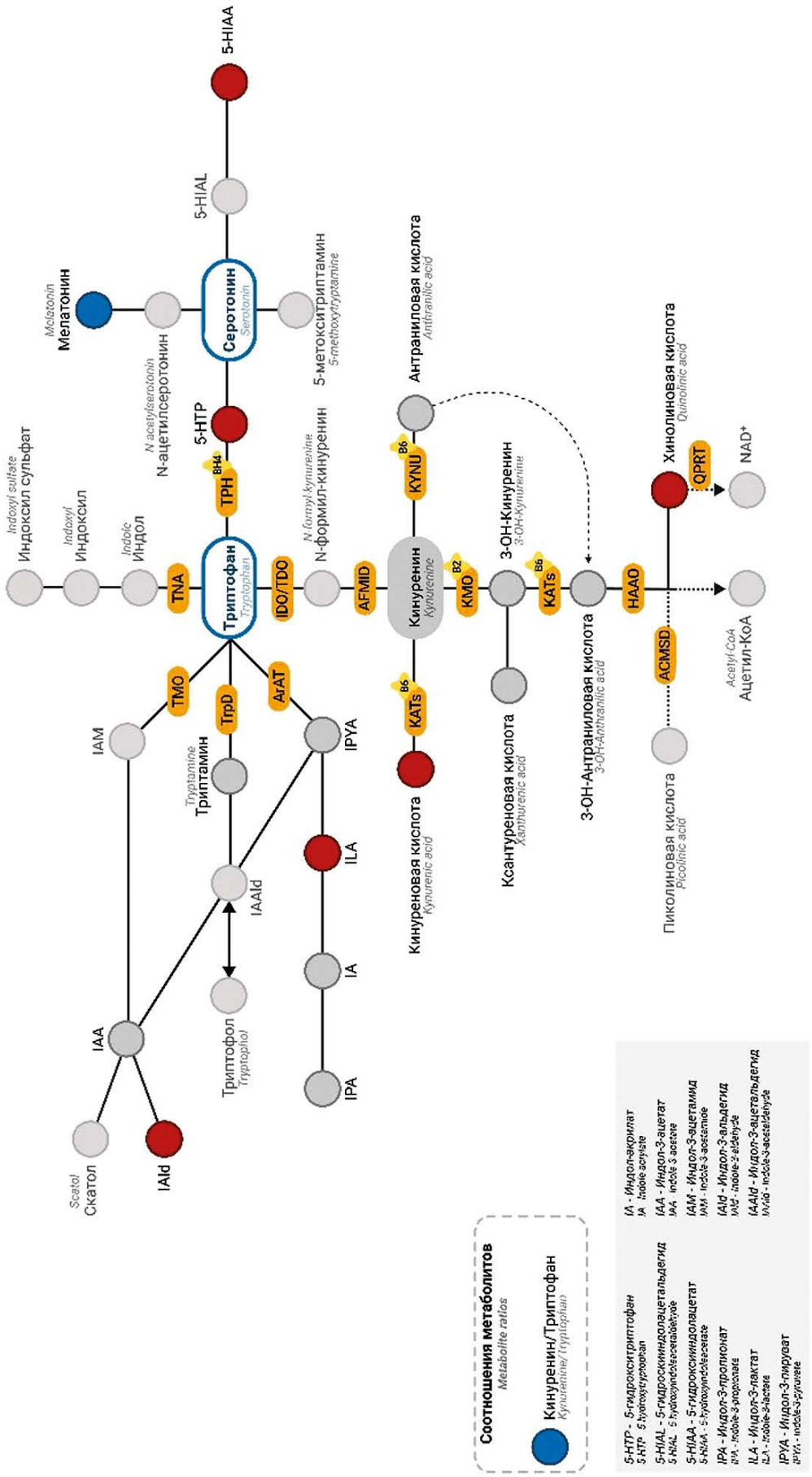


Рисунок 6. Схема метаболизма триптофана, отражающая изменения метаболомного профиля, характерные для множественной миеломы. Красным цветом отмечены метаболиты с повышенными концентрациями, синим – с пониженными

Figure 6. A scheme of tryptophan metabolism reflecting changes in the metabolomic profile characteristic of MM. Metabolites with increased concentrations are marked in red, those with decreased concentrations are marked in blue

Полученные данные согласуются с результатами других исследований: так, показано, что активность TDO и повышение соотношения Kyn/Trp являются характерными признаками ММ и коррелируют с агрессивностью течения заболевания [7]. Также было показано, что высокий уровень кинуренина и высокий коэффициент Kyn/Trp ассоциированы с худшим прогнозом и сокращением выживаемости при ММ [13, 17]. В исследованиях на культуре клеток отмечалось, что накопление кинуренина и связанных метаболитов подавляет пролиферацию и функцию Т-клеток, что приводит к снижению противоопухолевого иммунитета [18].

Хинолиновая кислота представляет собой метаболит кинуренинового пути и одновременно является предшественником никотинамидадениндинуклеотида (NAD^+) – важного кофактора, участвующего в репарации ДНК и обеспечении выживания клеток [19]. Повышенные уровни хинолиновой кислоты могут быть связаны с усиленной продукцией NAD^+, что способствует клеточной пластичности, инвазивности и хеморезистентности опухолевых клеток. Дополнительно синтез NAD^+ из хинолиновой кислоты повышает способность опухолевых клеток справляться с окислительным стрессом, индуцированным химио- или радиотерапией, снижая уровень апоптоза и повышая клеточную выживаемость. Более того, NAD^+ является критически важным кофактором для работы ферментов, таких как PPAR, которые участвуют в репарации ДНК. Повышенные уровни NAD^+ способствуют более эффективному восстановлению повреждений ДНК, вызванных химиотерапией, тем самым снижая эффективность лечения [20]. Таким образом, активация триптофанового обмена по кинуреновому пути у пациентов с ММ представляет важный механизм патогенеза, потенциально снижающий эффективность противоопухолевого иммунитета и обеспечивающий резистентность опухоли. Перспективным направлением является таргетирование данного пути (например, ингибиторами TDO или другими блокаторами кинуренинового каскада) с целью усиления иммунного ответа на опухоль [21, 22].

Метаболизм аргинина, цикл мочевины и оксида азота

Вторым значимым каскадом изменений при ММ стал цикл мочевины и связанные с ним пути синтеза оксида азота. На рисунке 7 изображена схема метаболизма с указанием измененных метаболитов.

В плазме пациентов обнаружено снижение уровня аргинина ($\log_2FC = –0,48$, $p < 0,00001$) при одновременном повышении метилированных производных аргинина – асимметричного и симметричного диметиларгинина (АДМА и СДМА) и N-монометиларгинина (N-MMA), концентрации которых у больных увеличены в несколько раз (АДМА: $\log_2FC = 2,41$, $p < 0,00001$; N-MMA: $\log_2FC = 1,75$, $p < 0,00001$; СДМА: $\log_2FC = 1,89$, $p < 0,00001$). Орнитин – продукт распада аргинина под действием аргиназы – у пациентов был не повышен, а напротив, умеренно понижен ($\log_2FC = –0,32$, $p < 0,00001$). Также снижена концентрация цитруллина ($\log_2FC = –1,03$, $p < 0,00001$), образующегося из аргинина при реакции синтеза оксида азота. Снижение L-аргинина может быть следствием гиперактивации фермента аргиназы (например, вырабатываемой миелоидными супрессорными клетками в костном мозге), что приводит к превращению аргинина в орнитин и мочевину и истощению его пула [23]. Доказано, что при ММ повышенная активность аргиназы-1 в клетках микроокружения коррелирует с прогрессированием опухоли и сопровождается системным падением уровня L-аргинина, что ведет к угнетению Т-клеточного ответа [15]. В модельных экспериментах фармакологическое ингибирование аргиназы способствовало восстановлению функции Т-лимфоцитов и замедлению роста опухоли [15]. Таким образом, дефицит аргинина у наших пациентов, вероятно, вносит вклад в иммунодисфункцию при ММ.

Повышение концентрации АДМА – эндогенного ингибитора NO-синтазы – представляет другой важный фактор. АДМА образуется при распаде метилированных белков и конкурентно угнетает синтез оксида азота (NO) из аргинина [24]. Увеличение АДМА и СДМА согласуется с результатами предыдущих исследований [17, 25–27].

В нашем исследовании уровень АДМА в плазме пациентов в 5–6 раз превышал таковой у здоровых, что согласуется с имеющимися данными о роли АДМА как маркера эндотелиальной дисфункции и сердечно-сосудистых осложнений [25].

Последствия увеличения АДМА – снижение биодоступности NO – могут способствовать сосудистым нарушениям и гипотетически – иммунным сдвигам (NO участвует в цитотоксической активности иммунных клеток). В целом выявленные нами изменения указывают на дисбаланс в системе Arg-NO: дефицит аргинина и избыток ингибиторов NO-синтазы могут создавать проопухолевое, иммуносупрессивное микроокружение. Дальнейшие исследования необходимы для выяснения, можно ли использовать коррекцию этого пути (например, добавление L-аргинина или применение ингибиторов аргиназы) для улучшения иммунного статуса и эффективности лечения ММ.

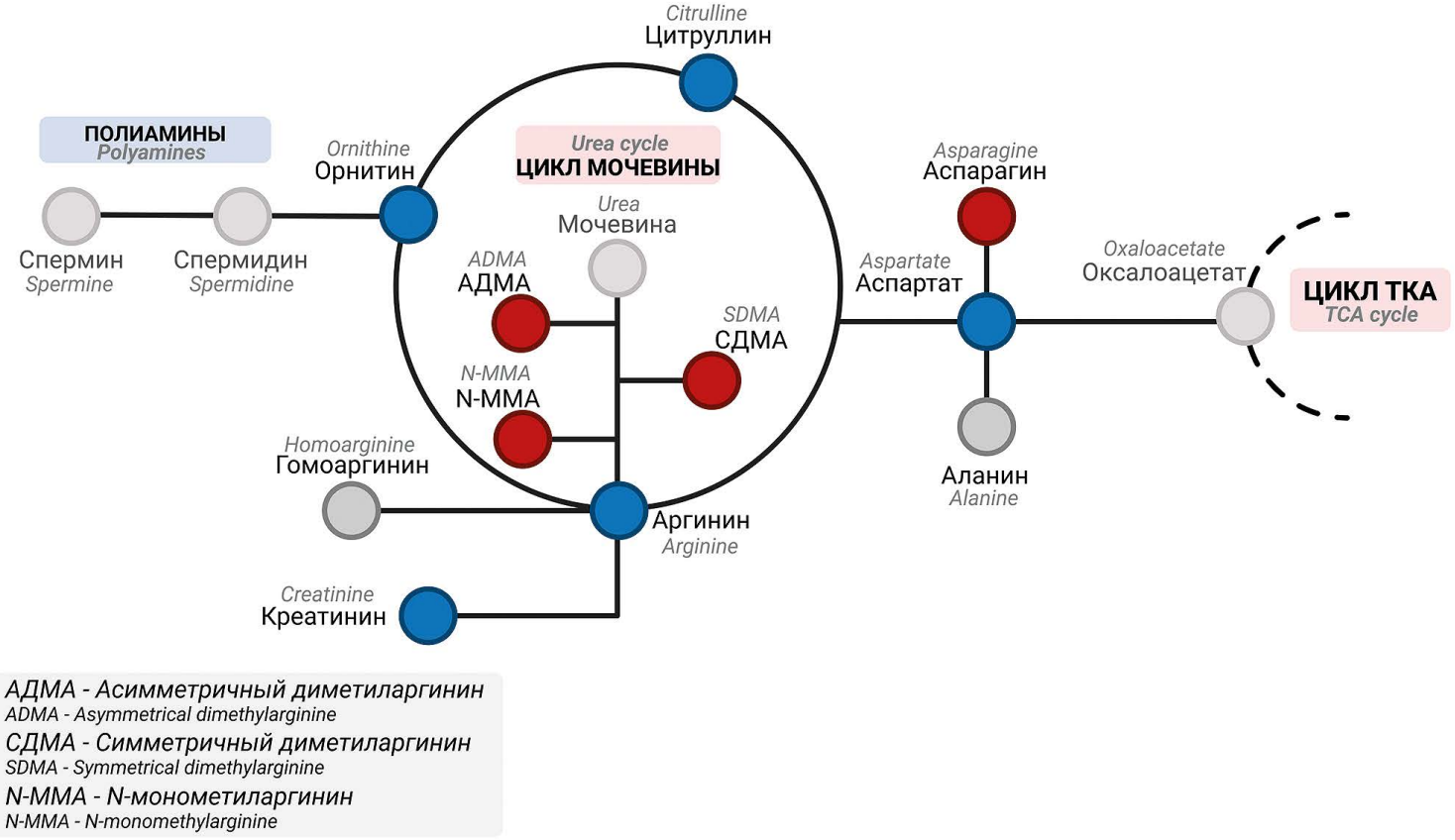


Рисунок 7. Схема метаболизма аргинина, отражающая изменения метаболомного профиля, характерные для множественной миеломы

Красным цветом отмечены метаболиты с повышенными концентрациями, синим – с пониженными

Figure 7. Arginine metabolism scheme reflecting changes in the metabolomic profile characteristic of MM

Metabolites with increased concentrations are marked in red, those with decreased concentrations are marked in blue

Аминокислотный профиль

Большое количество изменений в аминокислотном профиле плазмы было связано с ММ. Уровни аминокислот, таких как серин ($log_2FC = –1,10$, $p < 0,00001$), аспартат ($log_2FC = –1,73$, $p < 0,0001$), глутамат ($log_2FC = –0,50$, $p < 0,0001$), фенилаланин ($log_2FC = –0,38$, $p < 0,0001$), гистидин ($log_2FC = –0,46$, $p < 0,001$), метилгистидин ($log_2FC = –0,99$, $p < 0,0001$), валин ($log_2FC = –0,22$, $p < 0,001$), и общее содержание аминокислот с разветвленной цепью (BCAA, лейцин + изолейцин + валин, $log_2FC = –0,19$, $p < 0,001$) были снижены в сравнении с контролем. В то же время уровни некоторых аминокислот были выше в группе с ММ. Так, наблюдалось увеличение лизина ($log_2FC = 0,95$, $p < 0,00001$), гидроксипролина ($log_2FC = 0,68$, $p < 0,0001$), пролина ($log_2FC = 0,32$, $p < 0,001$) и аспарагина ($log_2FC = 0,26$, $p < 0,001$) по сравнению с контролем. Увеличение гидроксипролина примечательно тем, что этот метаболит образуется при распаде коллагена [29]. Его избыток в плазме может указывать на активную деградацию костного матрикса, что согласуется с клинической картиной ММ, характеризующейся остеолитическими поражениями костей.

Снижение уровня BCAA при ММ соответствует данным литературы: у пациентов с ММ на момент диагностики концентрации BCAA в крови, как правило, ниже, чем у здоровых добровольцев [4, 17, 25, 29]. BCAA также могут указывать на метаболическое перепрограммирование клеток ММ в сторону получения энергии. В реакции, катализируемой трансферазой аминокислот с разветвленной цепью (BCAT), аминогруппа BCAA переносится на α-кетоглутарат, в результате чего образуется глутамат и α-кетокислота с разветвленной цепью (BCKA). Затем BCKA метаболизируются через цепь реакций, которые приводят к синтезу сукцинил-КоА или ацетил-КоА [30]. Ранее BCAA были связаны с развитием и прогрессией опухолей [31, 32]. Помимо этого, экспрессия LAT1 – основного переносчика BCAA – коррелирует с прогрессией ММ и стадией заболевания. Также BCAA необходимы для бета-окисления жирных кислот, поскольку служат субстратом для синтеза короткоцепочечных ацилкарнитинов (АК) [33].

Ацилкарнитины и энергетический обмен

Одним из наиболее характерных отличий метаболического профиля ММ стало повышение уровня ацилкарнитинов в плазме. Ацилкарнитины представляют собой производные карнитина, связанные с различными ацильными группами (остатками жирных кислот); они являются промежуточными продуктами бета-окисления жирных кислот в митохондриях. У пациентов с ММ отмечено достоверное увеличение суммарной концентрации ацилкарнитинов примерно в 1,4 раза относительно контроля ($p < 0,01$). Уровни большинства определяемых ацилкарнитинов вне зависимости от длины ацильного радикала были значительно повышены (см. таблицу 2.) В сумме карнитиновый профиль сместился в сторону накопления ряда ацильных остатков

Данные наблюдения совпадают с результатами предыдущих исследований [7, 27]. С помощью схожего целевого метаболомного анализа было показано, что в сыворотке больных ММ значительно повышены свободный карнитин (C0), ацетилкарнитин (C2) и несколько длинноцепочечных ацилкарнитинов (C14:1, C16, C18, C18:1, C18:2) по сравнению со здоровым контролем [7]. Предположительно, накопление ацилкарнитинов отражает перегрузку путей окисления жирных кислот и митохондриальную дисфункцию в условиях раковой кахексии или при непосредственном воздействии опухоли на метаболизм печени и мышц [7]. Избыток ацилкарнитинов может указывать на неполное расщепление жирных кислот: когда β-окисление не успевает полностью утилизировать поступающие жирные кислоты, избыточные ацильные фрагменты буферируются в виде ацилкарнитинов. Отмечено, что даже на ранних стадиях ММ без тяжелой кахексии профили ацилкарнитинов отличаются от нормы, поэтому данные изменения, вероятно, являются частью опухоль-ассоциированного метаболического фенотипа [7].

Интересно, что в нашей работе повышены не только длинноцепочечные ацилкарнитины, но и короткие (C3, C4, C5). Рост пропионил- и бутирилкарнитинов может свидетельствовать об активации катаболизма BCAA (уровни которых были снижены) и некоторых других процессов, приводящих к образованию пропионил-CoA. Также увеличение C3- и C5-карнитинов ранее связывали с нарушениями микробиоты кишечника [34], приводящими к повышенному производству пропионата и масляной кислоты, однако в контексте ММ это пока не изучено.

Отличия метаболомных профилей в зависимости от ответа на терапию

Одной из задач исследования было выявить, существуют ли в исходном метаболомном профиле пациента маркеры, ассоциированные с будущей эффективностью терапии. Для этого мы сравнили уровни метаболитов до лечения у больных, впоследствии ответивших на терапию ($n = 15$), и у больных без эффекта ($n = 11$). Статистически значимые отличия между этими подгруппами представлены в таблице 3 и на рисунках 4 и 8.

Выявлено, что у пациентов без ответа на терапию концентрации ряда метаболитов были исходно выше по сравнению с пациентами, ответившими на лечение. В группе без ответа отмечались достоверно более высокие уровни некоторых метаболитов, в частности антраниловой кислоты ($log_2FC = 1,4$; $p < 0,01$) и таурина ($log_2FC = 0,9$, $p < 0,05$). Повышение уровня таурина представляет интерес, поскольку его обычно называют метаболитом, который модулирует

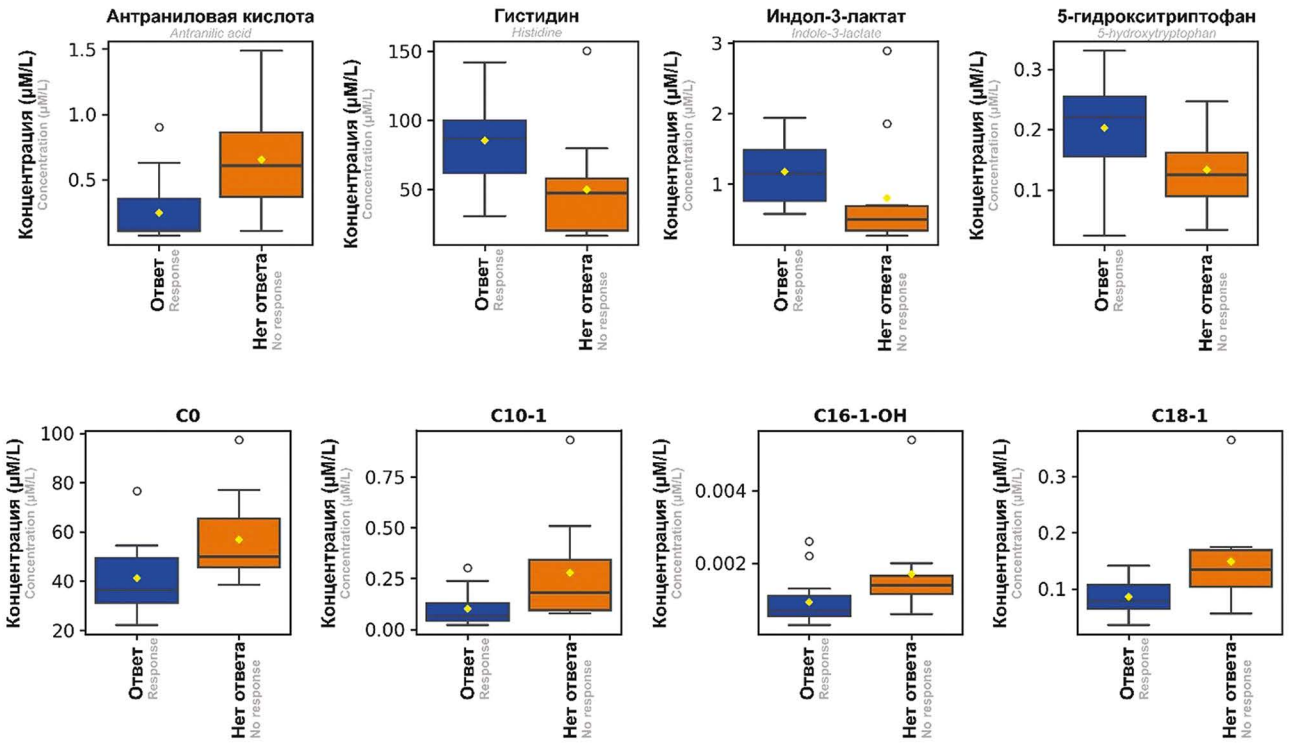


Рисунок 8. Коробчатые диаграммы значимо различающихся метаболитов в группах с различными ответами на терапию

Figure 8. Box-plots of significantly changed metabolites between different treatment responses

противоопухолевый иммунитет. Однако, когда опухолевые клетки сверхэкспрессируют белок-транспортер таурина SLC6A6, они могут успешно конкурировать за свободный таурин с $CD8^+$-Т-клетками. Такое обкрадывание позволяет опухолевым клеткам использовать таурин для собственных нужд, одновременно снижая активность иммунных клеток [31].

Наибольшие различия затронули профиль ацилкарнитинов. Почти все значимые типы ацилкарнитинов показали более высокие исходные концентрации у пациентов, не ответивших на терапию, по сравнению с пациентами, достигшими ответа на терапию. Наши результаты коррелируют с результатами da Silva et al. (2020) [27], где с увеличением стадии заболевания по классификации ISS росли уровни ацилкарнитинов. В то же время в исследовании Lodi et al. (2013) [36] при сравнении пациентов с активным заболеванием, в стадии ремиссии и после рецидива заболевания уровень ацилкарнитинов значительно повышался на более поздних стадиях заболевания. Ацилкарнитины необходимы клетке для получения энергии путем окисления жирных кислот. Повышение их концентраций может отражать повышенную активность данного пути у пациентов без ответа. Клетки множественной миеломы существуют в области с высокой доступностью жиров и часто окружены большим количеством адипоцитов. В исследовании Falank et al. наблюдалась редукция адипоцитов костного мозга при совместном культивировании этих клеток с клетками ММ, что говорит об активном процессе потребления липидов опухолевыми клетками [37].

Напротив, уровни некоторых других метаболитов были ниже в группе пациентов, не ответивших на лечение. В данной группе наблюдались тенденции к более низким исходным уровням 5-гидрокситриптофана (промежуточного продукта синтеза серотонина; $\log_2FC = -0{,}6$; $p < 0{,}05$), индол-3-молочной кислоты ($\log_2FC = -0{,}5$, $p < 0{,}05$) и лизина ($\log_2FC = -0.4$, $p < 0{,}05$). Также в данной группе наблюдался низкий исходный уровень аминокислоты гистидина ($\log_2FC = -0{,}8$; $p < 0{,}01$), важной для функционирования иммунной системы. Более низкие уровни индол-3-лактата – метаболита кишечной микробиоты – могут отражать влияние кишечной микробиоты на противоопухолевый иммунитет. Так, индол-3-лактат, полученный из бактерий рода *Lactobacillus*, подавляет развитие колоректального рака путем эпигенетической регуляции $CD8^+$-Т-клеток [38]. Низкие уровни этого метаболита говорят об отсутствии этого эффекта в группе пациентов без ответа на терапию. При этом применение пробиотических *Lactobacillus reuteri* в исследовании на мышах увеличивало эффективность терапии ингибиторами иммунных контрольных точек [39]. Возможно, применение пробиотиков, относящихся к роду *Lactobacillus*, поможет увеличить эффективность терапии ММ.

Другой метаболит, для которого было описано применение как сенсибилизирующего агента, – гистидин – был снижен в группе без ответа. Гистидин – незаменимая аминокислота, обладает множеством метаболических функций, в том числе влияет на прогрессирование опухоли, чувствительность к лекарствам и иммунные реакции при различных видах рака. Так, прием гистидина повышает эффективность химиотерапевтических препаратов, таких как гемцитабин и метотрексат, нарушая гомеостаз аминокислот в раковых клетках, усиливая окислительный стресс и истощая запасы глутатиона, что делает раковые клетки более уязвимыми к компонентам терапии [40–43]. Помимо этого, гистидин – богатый гликопротеин (HRGP), содержащий богатые гистидином участки, может модулировать опухолевое микроокружение, способствуя поляризации макрофагов в сторону противоопухолевого фенотипа, усиливая иммуноопосредованное подавление опухоли [42, 44] и снижая экспрессию PD-1, тем самым усиливая функции естественных клеток-киллеров [45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование подтверждает наличие характерного метаболического профиля при множественной миеломе, включающего активацию кинуренинового пути триптофана, дефицит аргинина, снижение BCAA и накопление ацилкарнитинов. Эти сдвиги отражают нарушения иммунного и энергетического обмена и могут способствовать снижению эффективности противоопухолевого ответа. Впервые показано, что базовые уровни отдельных метаболитов (например, антраниловой кислоты и ацилкарнитинов) коррелируют с ответом на химиотерапию, что позволяет рассматривать их как потенциальные прогностические маркеры. Перспективным направлением являются метаболомный мониторинг и таргетная коррекция нарушенных путей (ингибирование TDO2 и аргиназы), способные усилить эффективность терапии. Эти данные открывают перспективы для использования метаболомных биомаркеров в прогнозировании и персонализации лечения. Основным ограничением исследования была маленькая выборка пациентов и применение лишь одного протокола лечения. В связи с этим необходима валидация результатов на более широкой выборке пациентов с применением различных протоколов лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Cowan A. J., Green D. J., Kwok M., Lee S., Coffey D. G., Holmberg L. A., Tuazon S., Gopal A. K., Libby E. N. Diagnosis and Management of Multiple Myeloma. *JAMA*. 2022;327(5):464–477. DOI: 10.1001/jama.2022.0003.
2. Rodríguez-Lobato L. G., De Daniel A., Pereira A., Fernández De Larrea C., Tovar N., Cibeira M. T., Moreno D. F., Mateos J. M., Llobet N., Carcelero E., Munáriz D., Bladé J., Rosiñol L. Attrition rates and treatment outcomes in multiple myeloma: real-world data over a 40-year period. *Blood Cancer Journal*. 2025;15(1):103. DOI: 10.1038/s41408-025-01311-y.
3. Mohty M., Facon T., Malard F., Harousseau J.-L. A roadmap towards improving outcomes in multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*. 2024;14(1):135. DOI: 10.1038/s41408-024-01115-6.
4. Zhao R., Xie Y., Yang B., Wang C., Huang Q., Han Y., Yang L., Yan S., Wang X., Fu C., Wu D., Wu X. Identification of metabolic biomarkers to predict treatment outcome and disease progression in multiple myeloma. *American Journal of Cancer Research*. 2020;10(11):3935–3946.
5. Nong S., Han X., Xiang Y., Qian Y., Wei Y., Zhang T., Tian K., Shen K., Yang J., Ma X. Metabolic reprogramming in cancer: Mechanisms and therapeutics. *MedComm*. 2023;4(2):e218. DOI: 10.1002/mco2.218.
6. Wei Y., Wang J., Chen F., Li X., Zhang J., Shen M., Tang R., Huang Z. Serum Abnormal Metabolites for Evaluating Therapeutic Response and Prognosis of Patients With Multiple Myeloma. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:808290. DOI: 10.3389/fonc.2022.808290.
7. Steiner N., Müller U., Hajek R., Sevcikova S., Borjan B., Jöhrer K., Göbel G., Pircher A., Gunsilius E. The metabolomic plasma profile of myeloma patients is considerably different from healthy subjects and reveals potential new therapeutic targets. *PLoS ONE*. 2018;13(8):e0202045. DOI: 10.1371/journal.pone.0202045.
8. Markin P. A., Brito A., Moskaleva N., Lartsova E. V., Shpot Y. V., Lerner Y. V., Mikhajlov V. Y., Potoldykova N. V., Enikeev D. V., La Frano M. R., Appolonova S. A. Plasma metabolomic profile in prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer and associations with the prostate-specific antigen and the Gleason score. *Metabolomics*. 2020;16(7):74. DOI: 10.1007/s11306-020-01694-y.
9. Shestakova K. M., Moskaleva N. E., Boldin A. A., Rezvanov P. M., Shestopalov A. V., Rumyantsev S. A., Zlatnik E. Yu., Novikova I. A., Sagakyants A. B., Timofeeva S. V., Simonov Yu., Baskhanova S. N., Tobolkina E., Rudaz S., Appolonova S. A. Targeted metabolomic profiling as a tool for diagnostics of patients with non-small-cell lung cancer. *Scientific Reports*. 2023;13(1):11072. DOI: 10.1038/s41598-023-38140-7.
10. Sun Y., Zhang X., Hang D., Lau H. C.-H., Du J., Liu C., Xie M., Pan Y., Wang L., Liang C., Zhou X., Chen D., Rong J., Zhao Z., Cheung A. H.-K., Wu Y., Gou H., Wong C. C., Du L., Deng J., Hu Z., Shen H., Miao Y., Yu J. Integrative plasma and fecal metabolomics identify functional metabolites in adenoma-colorectal cancer progression and as early diagnostic biomarkers. *Cancer Cell*. 2024;42(8):1386–1400.E8. DOI: 10.1016/j.ccell.2024.07.005.
11. Fei F., Zheng M., Xu Z., Sun R., Chen X., Cao B., Li J. Plasma Metabolites Forecast Occurrence and Prognosis for Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:894891. DOI: 10.3389/fonc.2022.894891.
12. Varzieva V. G., Mesonzhnik N. V., Ilgisonis I. S., Belenkov Y. N., Kozhevnikova M. V., Appolonova S. A. Metabolomic biomarkers of multiple myeloma: A systematic review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*. 2024;1879(5):189151. DOI: 10.1016/j.bbcan.2024.189151.
13. Asano A., Ri M., Masaki A., Maeda Y., Tachita T., Hirade K., Marumo Y., Nakashima T., Hagiwara S., Kinoshita S., Suzuki T., Narita T., Kusumoto S., Komatsu H., Inaga-

ki H., Iida S. Aberrant tryptophan metabolism leads to unfavorable outcomes in lenalidomide-treated myeloma patients. *Hematological Oncology*. 2023;41(3):424–433. DOI: 10.1002/hon.3108.
14. León-Letelier R. A., Dou R., Vykoukal J., Sater A. H. A., Ostrin E., Hanash S., Fahrmann J. F. The kynurenine pathway presents multi-faceted metabolic vulnerabilities in cancer. *Frontiers in Oncology*. 2023;13:1256769. DOI: 10.3389/fonc.2023.1256769.
15. Ramji K., Grzywa T. M., Sosnowska A., Paterek A., Okninska M., Pilch Z., Barankiewicz J., Garbicz F., Borg K., Bany-Laszewicz U., Zerrouqi A., Pyrzynska B., Rodziewicz-Lurzynska A., Papiernik D., Sklepkiewicz P., Kedzierska H., Staruch A., Sadowski R., Ciepiela O., Lech-Maranda E., Juszczynski P., Mackiewicz U., Maczewski M., Nowis D., Golab J. Targeting arginase-1 exerts antitumor effects in multiple myeloma and mitigates bortezomib-induced cardiotoxicity. *Scientific Reports*. 2022;12(1):19660. DOI: 10.1038/s41598-022-24137-1.
16. Reinke J. G., Peng P., Petrusca D. N., Chaudhry K., Carlson L., Schorr C. R., Lee K. P. Role of Tryptophan Metabolizing Enzymes in Multiple Myeloma Survival. *Blood*. 2024;144(Supplement 1):3350. DOI: 10.1182/blood-2024-211044.
17. Gonsalves W. I., Broniowska K., Jessen E., Petterson X.-M., Bush A. G., Gransee J., Lacy M. Q., Hitosugi T., Kumar S. K. Metabolomic and Lipidomic Profiling of Bone Marrow Plasma Differentiates Patients with Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance from Multiple Myeloma. *Scientific Reports*. 2020;10(1):10250. DOI: 10.1038/s41598-020-67105-3.
18. Ray A., Song Y., Du T., Tai Y.-T., Chauhan D., Anderson K. C. Targeting tryptophan catabolic kynurenine pathway enhances antitumor immunity and cytotoxicity in multiple myeloma. *Leukemia*. 2020;34(2):567–577. DOI: 10.1038/s41375-019-0558-x.
19. Gouasmi R., Ferraro-Peyret C., Nancey S., Coste I., Renno T., Chaveroux C., Aznar N., Ansieau S. The Kynurenine Pathway and Cancer: Why Keep It Simple When You Can Make It Complicated. *Cancers*. 2022;14(11):2793. DOI: 10.3390/cancers14112793.
20. Sahm F., Oezen I., Opitz C. A., Radlwimmer B., von Deimling A., Ahrendt T., Adams S., Bode H. B., Guillemin G. J., Wick W., Platten M. The Endogenous Tryptophan Metabolite and NAD+ Precursor Quinolinic Acid Confers Resistance of Gliomas to Oxidative Stress. *Cancer Research*. 2013;73(11):3225–3234. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3831.
21. Han Y., Wang P., Guo Z., Xiang A., Cao S., Chen Y. TDO Target Inhibitor Research Progress Review. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2025;13(03):356–368. DOI: 10.4236/jbm.2025.133027.
22. Paranthaman P., Veerappapillai S. Identification of putative Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) and tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) dual inhibitors for triple-negative breast cancer therapy. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2025;1–19. DOI: 10.1080/07391102.2024.2332509.
23. Giallongo C., Scandura G., Barbato A., La Spina E., Longhitano L., Zuppelli T., Dulcamare I., Parrinello N. L., Giallongo S., Polito F., Oteri R., Aguennouz M., Palumbo G. A., Lolicato M., Volti G. L., Di Raimondo F., Tibullo D., Romano A. Arginine Deprivation in Microenvironment Makes Multiple Myeloma Resistant to Proteasome Inhibitors Via Increased Lactate Release and Metabolic Rewiring. *Blood*. 2022;140(Supplement 1):7102–3. DOI: 10.1182/blood-2022-170276.
24. Wilcken D. E. L., Sim A. S., Wang J., Wang X. L. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of l-arginine on its metabolism. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2007;91(4):309–317. DOI: 10.1016/j.ymgme.2007.04.017.
25. Yue L., Zeng P., Li Y., Chai Y., Wu C., Gao B. Nontargeted and targeted metabolomics approaches reveal the key amino acid alterations involved in multiple myeloma. *PeerJ*. 2022;10:e12918. DOI: 10.7717/peerj.12918.
26. Du H., Wang L., Liu B., Wang J., Su H., Zhang T., Huang Z. Analysis of the Metabolic Characteristics of Serum Samples in Patients With Multiple Myeloma. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:884. DOI: 10.3389/fphar.2018.00884.
27. Guerreiro da Silva I. D. C., Valadares de Castro Levatti E., Pedroso A. P., Lobo Marchioni D. M., Ferreira Carioca A. A., Braga Colleoni G. W. Biochemical phenotyping of multiple myeloma patients at diagnosis reveals a disorder of mitochondrial complexes I and II and a Hartnup-like disturbance as underlying conditions, also influencing different stages of the disease. *Scientific Reports*. 2020;10(1):21836. DOI: 10.1038/s41598-020-75862-4.
28. Kuo T.-R., Chen C.-H. Bone biomarker for the clinical assessment of osteoporosis: recent developments and future perspectives. *Biomarker Research*. 2017;5(1):18. DOI: 10.1186/s40364-017-0097-4.
29. Chanukuppa V., More T. H., Taunk K., Taware R., Chatterjee T., Sharma S., Rapole S. Serum metabolomic alterations in multiple myeloma revealed by targeted and untargeted metabolomics approaches: a pilot study. *RSC Advances*. 2019;9(51):29522–29532. DOI: 10.1039/C9RA04458B.
30. Peng H., Wang Y., Luo W. Multifaceted role of branched-chain amino acid metabolism in cancer. *Oncogene*. 2020;39(44):6747–6756. DOI: 10.1038/s41388-020-01480-z.
31. Jung M. K., Okekunle A. P., Lee J. E., Sung M. K., Lim Y. J. Role of Branched-chain Amino Acid Metabolism in Tumor Development and Progression. *Journal of Cancer Prevention*. 2021;26(4):237–43. DOI: 10.15430/JCP.2021.26.4.237.
32. Wang J., Wang W., Zhu F., Duan Q. The role of branched chain amino acids metabolic disorders in tumorigenesis and progression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;153:113390. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113390.
33. McCann M. R., George De La Rosa M. V., Rosania G. R., Stringer K. A. L-Carnitine and Acylcarnitines: Mitochondrial Biomarkers for Precision Medicine. *Metabolites*. 2021;11(1):51. DOI: 10.3390/metabo11010051.
34. Lemons J. M. S., Conrad M., Tanes C., Chen J., Friedman E. S., Roggiani M., Curry D., Chau L., Hecht A. L., Harling L., Vales J., Kachelries K. E., Baldassano R. N., Goulian M., Bittinger K., Master S. R., Liu L., Wu G. D. Enterobacteriaceae Growth Promotion by Intestinal Acylcarnitines, a Biomarker of Dysbiosis in Inflammatory Bowel Disease. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2024;17(1):131–48. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2023.09.005.
35. Flemming A. Tumour cell consumption of taurine exhausts CD8+ T cells. *Nature Reviews Immunology*. 2024;24(5):306–306. DOI: 10.1038/s41577-024-01032-6.
36. Lodi A., Tiziani S., Khanim F. L., Günther U. L., Viant M. R., Morgan G. J., Bunce C. M., Drayson M. T. Proton NMR-Based Metabolite Analyses of Archived Serial Paired Serum

and Urine Samples from Myeloma Patients at Different Stages of Disease Activity Identifies Acetylcarnitine as a Novel Marker of Active Disease. *PLoS ONE*. 2013;8(2):e56422. DOI: 10.1371/journal.pone.0056422.

37. Falank C., Fairfield H., Farrell M., Reagan M. New Bone Cell Type Identified As Driver of Drug Resistance in Multiple Myeloma: The Bone Marrow Adipocyte. *Blood*. 2017;130:122. DOI: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.122.122.
38. Zhang Q., Zhao Q., Li T., Lu L., Wang F., Zhang H., Liu Z., Ma H., Zhu Q., Wang J., Zhang X., Pei Y., Liu Q., Xu Y., Qie J., Luan X., Hu Z., Liu X. Lactobacillus plantarum-derived indole-3-lactic acid ameliorates colorectal tumorigenesis via epigenetic regulation of CD8+ T cell immunity. *Cell Metabolism*. 2023;35(6):943–960.E9. DOI: 10.1016/j.cmet.2023.04.015.
39. Bender M. J., McPherson A. C., Phelps C. M., Pandey S. P., Laughlin C. R., Shapira J. H., Medina Sanchez L., Rana M., Richie T. G., Mims T. S., Gocher-Demske A. M., Cervantes-Barragan L., Mullett S. J., Gelhaus S. L., Bruno T. C., Cannon N., McCulloch J. A., Vignali D. A. A., Hinterleitner R., Joglekar A. V., Pierre J. F., Lee S. T. M., Davar D., Zarour H. M., Meisel M. Dietary tryptophan metabolite released by intratumoral Lactobacillus reuteri facilitates immune checkpoint inhibitor treatment. *Cell*. 2023;186(9):1846–1862.e26. DOI: 10.1016/j.cell.2023.03.011.
40. Kumar N., Rachagani S., Natarajan G., Crook A., Gopal T., Rajamanickam V., Kaushal J. B., Nagabhishek S. N., Powers R., Batra S. K., Saraswathi V. Histidine Enhances the Anticancer Effect of Gemcitabine against Pancreatic Cancer via Disruption of Amino Acid Homeostasis and Oxidant—Antioxidant Balance. *Cancers*. 2023;15(9):2593. DOI: 10.3390/cancers15092593.
41. Huang Y., Snuderl M., Jain R. K. Polarization of Tumor-Associated Macrophages: A Novel Strategy for Vascular Normalization and Antitumor Immunity. *Cancer Cell*. 2011;19(1):1–2. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.01.005.
42. Frezza C. Histidine metabolism boosts cancer therapy. *Nature*. 2018;559(7715):484–485. DOI: 10.1038/d41586-018-05573-4.
43. Kanarek N., Keys H. R., Cantor J. R., Lewis C. A., Chan S. H., Kunchok T., Abu-Remaileh M., Freinkman E., Schweitzer L. D., Sabatini D. M. Histidine catabolism is a major determinant of methotrexate sensitivity. *Nature*. 2018;559(7715):632–636. DOI: 10.1038/s41586-018-0316-7.
44. Pan Y., Deng L., Wang H., He K., Xia Q. Histidine-rich glycoprotein (HRGP): Pleiotropic and paradoxical effects on macrophage, tumor microenvironment, angiogenesis, and other physiological and pathological processes. *Genes & Diseases*. 2022;9(2):381–392. DOI: 10.1016/j.gendis.2020.07.015.
45. Nishimura Y., Wake H., Teshigawara K., Wang D., Sakaguchi M., Otsuka F., Nishibori M. Histidine-rich glycoprotein augments natural killer cell function by modulating PD-1 expression via CLEC-1B. *Pharmacology Research & Perspectives*. 2019;7(3):e00481. DOI: 10.1002/prp2.481.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.03; 543.51 + 543.54

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-1879

Check for updates

CC BY 4.0

Изучение распределения нового производного 4,5-дигидроизоксазол-5-карбоксамида на крысах

И. И. Яичков[1, 2]✉, М. К. Корсаков[2], Н. Н. Вольхин[1], С. С. Петухов[1, 2], А. Н. Тюшина[1, 2], 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, Ярославская область, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет им. К. Д. Ушинского» (ЯГПУ им. К. Д. Ушинского). Центр трансфера фармацевтических технологий им. М. В. Дорогова. 150010, Россия, Ярославская область, г. Ярославль, ул. Технопарковая, д. 11/2

✉ **Контактное лицо:** Яичков Илья Игоревич. **E-mail:** i.yaichkov@yspu.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;
С. С. Петухов – https://orcid.org/0009-0007-8435-7689;
А. Н. Тюшина – https://orcid.org/0009-0007-8084-5239;
В. Е. Зайкова – https://orcid.org/0009-0008-9431-1980;
О. Э. Лазарянц – https://orcid.org/0009-0002-1249-3669.

Статья поступила: 20.07.2025 **Статья принята в печать:** 06.11.2025 **Статья опубликована:** 07.11.2025

Резюме

Введение. Новое фармакологически активное вещество 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R004) является новым ингибитором PAR-2-рецепторов для терапии ревматоидного артрита. Данное соединение находится на этапе доклинического исследования. Изучение распределения R004 и его метаболитов по органам и тканям ранее не проводилось.

Цель. Изучение распределения R004 и его метаболитов по органам и тканям крыс после однократного перорального введения субстанции.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 50 крысах-самцах линии Wistar. Субстанция R004 вводилась перорально в терапевтической дозировке 10 мг/кг. Отбор образцов печени, почек, сердца, легких, селезенки, мозга, кожи и мышц проводился через 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 ч после введения лекарственного средства. Органы немедленно гомогенизировались с использованием ацетонитрила и замораживались. Дальнейшую пробоподготовку осуществляли путем добавления к гомогенатам ацетонитрильного раствора внутренних стандартов. Количественное определение R004 и его 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) проводилось методом ВЭЖХ-МС/МС.

Результаты и обсуждение. Биоаналитическая методика количественного определения R004, M1 и M2 в органах и тканях была успешно валидирована в аналитических диапазонах 2–2000 нг/г для R004 и 1–1000 нг/г для M1 и M2. R004 распределяется по всем изучаемым биологическим объектам. Тканевая биодоступность R004 уменьшается в следующей последовательности: печень > кожа > почки > легкие > мышцы > сердце > селезенка > мозг. M1 и M2 в больших количествах обнаружены в печени и почках. В сердце, легкие и селезенку метаболиты проникали в значительно меньших концентрациях. В тканях кожи идентифицирован только M2. В мозге и мышцах M1 и M2 не обнаружены.

Заключение. Валидированная биоаналитическая методика была успешно использована при изучении распределения субстанции R004. Действующее вещество хорошо распределяется по всем изучаемым органам и имеет высокую тканевую биодоступность. Наибольшие концентрации метаболитов зафиксированы в печени и почках.

Ключевые слова: ингибитор PAR-2-рецепторов, ВЭЖХ-МС/МС, валидация, фармакокинетика, распределение, гомогенизация

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

© Яичков И. И., Корсаков М. К., Вольхин Н. Н., Петухов С. С., Тюшина А. Н., Зайкова В. Е., Лазарянц О. Э., 2025
© Yaichkov I. I., Korsakov M. K., Volkhin N. N., Petukhov S. S., Tyushina A. N., Zaykova V. E., Lasaraynz O. E., 2025

Вклад авторов. И. И. Яичков проводил разработку и валидацию биоаналитической методики, анализ образцов животных. А. А. Шетнев отвечал за формулирование целей и задач, организационную часть исследования. Н. Н. Вольхин, С. С. Петухов, А. Н. Тюшина, В. Е. Зайкова, О. Э. Лазарянц отвечали за работу с лабораторными животными.

Финансирование. Грант Российского научного фонда № 22-13-20085.

Для цитирования: Яичков И. И., Корсаков М. К., Вольхин Н. Н., Петухов С. С., Тюшина А. Н., Зайкова В. Е., Лазарянц О. Э. Изучение распределения нового производного 4,5-дигидроизоксазол-5-карбоксамида на крысах. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):249–260. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-1879

The study of distribution of a new 4,5-dihydroisoxazole-5-carboxamide derivative in rats

Ilya I. Yaichkov[1, 2]✉, Mikhail K. Korsakov[2], Nikita N. Volkhin[1], Sergey S. Petukhov[1, 2], Alena N. Tyushina[1, 2], Valeria E. Zaykova[1, 2], Olga E. Lasaraynz[1, 2]

[1] Yaroslavl State Medical University. 5, Revolutsionnaya str., Yaroslavl, Yaroslavl region, 150000, Russia
[2] Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky. M. V. Dorogov Center for Transfer of Pharmaceutical Technologies. 11/2, Tekhnoparkovaya str., Yaroslavl, Yaroslavl region, 150010, 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;
Sergey S. Petukhov – https://orcid.org/0009-0007-8435-7689;
Alena N. Tyushina – https://orcid.org/0009-0007-8084-5239;
Valeria E.Zaykova – https://orcid.org/0009-0008-9431-1980;
Olga E. Lasaraynz – https://orcid.org/0009-0002-1249-3669.

Received: 20.07.2025 **Accepted:** 06.11.2025 **Published:** 07.11.2025

Abstract

Introduction. The new pharmacologically active substance 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 a new PAR-2 receptor inhibitor for treatment of rheumatoid arthritis. This compound is at the stage of preclinical trail. The distribution study of R004 and its metabolites by organs and tissues has not been performed before.

Aim. The investigation of distribution of R004 and its metabolites in rat organs after a single oral administration of the active substance.

Materials and methods. The study was carried out on 50 male Wistar rats. Substance of R004 was administered orally at a therapeutic dosage of 10 mg/kg. Sampling of liver, kidneys, heart, lungs, spleen, brain, skin and muscles was performed 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 h after administration of the drug. Organs were immediately homogenized using acetonitrile and frozen. Further sample preparation was carried out by addition an acetonitrile solution of internal standards to the homogenates. Quantification of R004 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) was performed by HPLC-MS/MS.

Results and discussion. The developed method for quantification of R004, M1 and M2 in organs has been successfully validated in the analytical ranges of 2–2000 ng/g for R004 and 1–1000 ng/g for M1 and M2. R004 is distributed by all studied biological objects. The tissue bioavailability of R004 decreases in the following sequence: liver > skin > kidneys > lungs > muscles > heart > spleen > brain. M1 and M2 was detected in large quantities in liver and kidneys. Metabolites penetrated into the heart, lungs and spleen in much lower concentrations. In skin tissues only M2 was identified. M1 and M2 were not found in brain and muscles.

Conclusions. The validated bioanalytical method has been successfully used for distribution study of R004 substance. The drug is well distributed throughout the studied organs and has a high tissue bioavailability. The highest concentrations of metabolites were observed in liver and kidneys.

Keywords: PAR-2 receptor inhibitor, HPLC-MS/MS, validation, pharmacokinetics, distribution, homogenization

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, Sergey S. Petukhov, Alena N. Tyushina, Valeria E. Zaykova, Olga E. Lasaraynz carried out the experiment on laboratory animals.

Funding. Grant of Russian Scientific Fund № 22-13-20085.

For citation: Yaichkov I. I., Korsakov M. K., Volkhin N. N., Petukhov S. S., Tyushina A. N., Zaykova V. E., Lasaraynz O. E. The study of distribution of a new 4,5-dihydroisoxazole-5-carboxamide derivative in rats. *Drug development & registration*. 2025;14(4):249–260. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-1879

ВВЕДЕНИЕ

Производное 4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида, 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-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, в ходе которого доказана его фармакологическая активность. Данное соединение является новой перспективной молекулой для терапии ревматоидного артрита [1]. R004 подвергается биотрансформации путем гидролиза с образованием двух основных метаболитов: 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновой кислоты (M1) и 4-метокси-3-(трифторметил)анилина (M2) (рисунок 1) [2]. При изучения системной экспозиции субстанции R004 на крысах установлена линейность фармакокинетических параметров максимальной концентрации и площади под фармакокинетической кривой «концентрация – время» у действующего вещества и его метаболитов в диапазоне доз от 10 до 40 мг/кг [3].

Изучение распределения R004 и его метаболитов ранее не проводилось. Наиболее часто для данных исследований используют грызунов – крыс [4–7]. Методика для количественного определения R004, M1 и M2 в органах животных ранее не разрабатывалась. При ее создании могут быть адаптированы параметры ВЭЖХ-МС/МС-анализа, использованные в биоаналитической методике для плазмы [3]. Для подготовки проб тканей возможно применение механической гомогенизации [4, 8, 10, 11], ультразвуковой гомогенизации [5, 6, 9], а также ферментативной обработки [10]. Однако ввиду нестабильности R004 в пробах после отбора [2, 3] использование последних двух способов нецелесообразно из-за их длительности. Кроме того, при ферментативном разложении гидролиз действующего вещества может усилиться. Для извлечения аналитов целесообразно использовать органические растворители. Так, применение органического экстрагента метанола в смеси с водой в объемном соотношении 9:1 предотвратило гидролиз симвастатина в гомогенатах тканей [12]

Таким образом, **целью работы** является изучение распределения R004 и его метаболитов по органам и тканям крыс после однократного перорального введения субстанции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Аналитическое оборудование и реактивы

Для количественного определения R004 и его метаболитов применялись высокоэффективный жидкостной хроматограф Agilent 1260 Infinity (Agilent

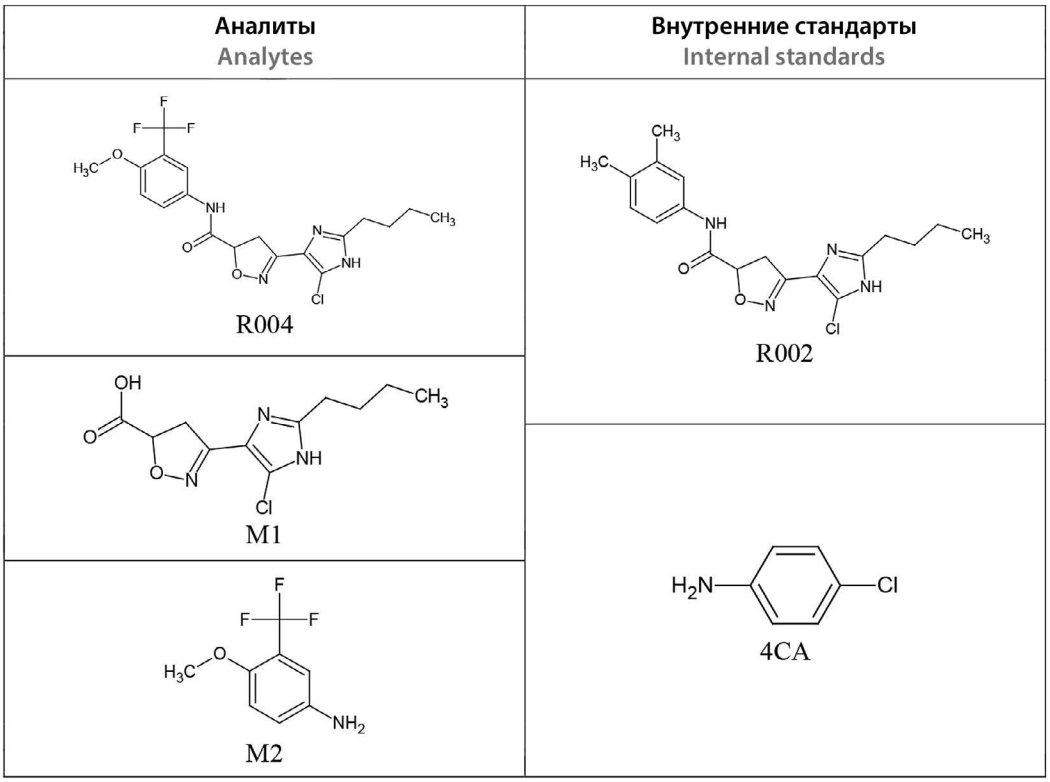


Рисунок 1. Структурные формулы 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида (R004), его метаболитов (M1 и M2) и внутренних стандартов (R002 и 4CA)

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 (R004), its metabolites (M1 and M2) and internal standards (R002 and 4CA)

Technologies, Германия), совмещенный с тандемным масс-спектрометрическим детектором QTRAP 5500 (AB Sciex Pte. Ltd., Сингапур). Программное обеспечение Analyst 1.6.2 (AB Sciex LLC, США) использовалось для управления ВЭЖХ-МС/МС-системой, а пакет MultiQuant 3.0.5 (AB Sciex LLC, США) – для обработки полученных хроматограмм.

В качестве стандартных образцов изучаемых соединений применялись 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (99,2 %), 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоновая кислота (99,3 %) (оба – Центр трансфера фармацевтических технологий им. М. В. Дорогова ЯГПУ им. К. Д. Ушинского, Россия); 4-метокси-3-(трифторметил)анилин (99,0 %, Alfa Aesar, США). Для приготовления раствора внутренних стандартов (ВС) использовались 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[3,4-диметилфенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамид (R002) (98,5 %, Центр трансфера фармацевтических технологий им. М. В. Дорогова ЯГПУ им. К. Д. Ушинского, Россия) и 4-хлоранилин (4СА) (≥98 %, Alpha Chemika, Индия), а также ацетонитрил (о.с.ч., АО «Химмед», Россия).

Подготовка проб органов

Органы после отбора немедленно охлаждали жидким азотом, затем взвешивали, добавляли ацетонитрил в соотношении 1 : 1 (масса/об.) и гомогенизировали на шариковом гомогенизаторе (Homogenizer Bioprep-6, Allsheng, Китай) с применением шариков из нержавеющей стали диаметром 5 мм. Затем пробы центрифугировали 5 мин при 10000 об/мин (Heraeus Multifuge X3R, Thermo Fisher Scientific, США) и охлаждении до +4 °С и к 50 мкл надосадочной жидкости добавляли 100 мкл раствора ВС R002 и 4СА в ацетонитриле. Смесь перемешивали на шейкере и центрифугировали 5 мин при 10000 об/мин и температуре +4 °С, супернатант переносили в микровставки для виал. Для приготовления калибровочных образцов и образцов контроля качества 10 мкл рабочего раствора R004, M1 и M2 в диметилсульфоксиде (х.ч., АО «ЭКОС-1», Россия) добавляли к 190 мкл гомогената. Концентрация аналитов в пробах составляла:

- R004: калибровочные образцы – 2 (нижний предел количественного определения – LLOQ), 10, 50, 200, 500, 1000, 1500, 2000 нг/мл; образцы контроля качества – 6 (нижний уровень – LQC), 750 (средний уровень – MQC), 1750 нг/мл (верхний уровень – HQC), образцы для оценки эффекта разведения – 3500 нг/мл (Dil);
- M1 и M2: калибровочные образцы – 1 (LLOQ), 5, 25, 100, 250, 500, 750, 1000 нг/мл; образцы контроля качества – 3 (LQC), 375 (MQC), 875 (HQC) нг/мл, образцы для оценки эффекта разведения – 1750 нг/мл (Dil).

Параметры хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования

Хромато-масс-спектрометрическое определение проводили с помощью методики, использованной для определения изучаемых соединений в плазме [3]. Для хроматографического разделения применяли хроматографическую колонку 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) и подвижную фазу (ПФ), состоящую из 2 элюентов: 0,2%-го раствора муравьиной кислоты («eluent additive for LC-MS», Scharlab, Китай) в воде (компонент А) и ацетонитрила (компонент Б). Элюирование осуществляли в градиентном режиме [3]. Скорость потока составляла 0,5 мл/мин, температура термостата – 40 °С. В стартовый состав ПФ входило 60 % компонента А и 40 % компонента Б. С 0,5 мин по 3 мин анализа содержание водной части ПФ линейно снижалось до 10 %, а органической части – увеличивалось до 90 %. Данное соотношение элюентов сохранялось до 8,5 мин анализа. Затем состав ПФ восстанавливался до начальных значений в течение 0,1 мин. Время уравновешивания системы составляло 4 мин.

Масс-спектрометрическое детектирование осуществлялось с применением электрораспылительной ионизации (полярность – положительная). Для определения аналитов и ВС использовались следующие MRM-переходы:

- R004 – 445 → 425 m/z (количественный) и 445 → 200 m/z (контрольный);
- M1 – 272 → 200 m/z (количественный) и 272 → 144 m/z (контрольный);
- M2 – 192 → 108 m/z (количественный) и 192 → 123 m/z (контрольный);
- R002 (ВС для R004) – 375 → 226 m/z;
- 4СА – 128 → 93 m/z (для расчетов M1) и 128 → 75 m/z (для расчетов M2).

Валидация биоаналитической методики

Валидация методики осуществлялась согласно требованиям решения Совета ЕЭК от 3 ноября 2016 г. № 85[1] и руководства ICH M10[2]. Объем валидационных испытаний внутрисерийной прецизионности и правильности, эффекта разведения, стабильности, воспроизводимости при повторном введении серии был оптимизирован для минимизации использования холостых образцов органов животных (таблица 1).

[1] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». https://docs.cntd.ru/document/456026107. Ссылка активна на 20.07.2024.

[2] ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. 2022. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/ich-m10-bioanalytical-method-validation-scientific-guideline. Accessed: 20.07.2024.

Таблица 1. Результаты изучения линейности методики определения 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида и его метаболитов в органах крысы

Table 1. The results of studying the linearity of the method of quantification 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 rat organs

Испытание Test	**R004**		**M1**		**M2**	
Аналитический диапазон, нг/г Analytical range, ng/g	2–2000		1–1000		1–1000	
Калибровочная зависимость Calibration dependence	Линейная Linear		Линейная Linear		Линейная Linear	
Весовой коэффициент Weighting	1/x		1/x		1/x	
Органы крысы Rat organs	**a**	**b**	**a**	**b**	**a**	**b**
Печень (6 серии) Liver (6 batches)	0,00040	0,00013	0,00374	0,00111	0,00556	0,00224
Почки (3 серии) Kidneys (3 batches)	0,00041	0,00025	0,00396	0,00051	0,00523	0,00107
Сердце (3 серии) Heart (3 batches)	0,00040	0,00017	0,00408	0,00063	0,00522	0,00075
Легкие (3 серии) Lung (3 batches)	0,00037	0,00026	0,00387	0,00100	0,00551	0,00126
Селезенка (3 серии) Spleen (3 batches)	0,00037	0,00024	0,00381	0,00094	0,00544	0,00202
Мозг (3 серии) Brain (3 batches)	0,00037	0,00012	0,00398	0,00105	0,00549	0,00217
Кожа (3 серии) Skin (3 batches)	0,00039	0,00026	0,00422	0,00116	0,00508	0,00266
Мышцы (3 серии) Muscles (3 batches)	0,00039	0,00037	0,00424	0,00101	0,00529	0,00171

Примечание. a – средние значения угловых коэффициентов калибровочных кривых; b – средние значения свободных коэффициентов калибровочных кривых.

Note. a – mean values of slopes of calibration curves; b – mean values of intercepts of calibration curves.

Дизайн исследования распределения

Распределение R004 изучалось на 50 крысах-самцах линии Wistar (питомник ООО «СМК Стезар») массой 255 ± 2 г. Субстанция лекарственного средства вводилась перорально в дозировке 10 мг/кг. Отбор образцов органов проводился через 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 ч после введения лекарственного средства. На каждую точку использовалось по 5 крыс. Животных умертвляли декапитацией. Печень, почки, сердце, легкие, селезенку, мозг, пробы кожи и мышц бедра немедленно извлекали, обрабатывали жидким азотом, взвешивали и гомогенизировали с ацетонитрилом. Полученные гомогенаты хранили в морозильной камере при температуре не выше –70 °C.

Исследование было одобрено этическим комитетом ЯГПУ им. К. Д. Ушинского (протокол № 1 от 29.01.2024).

Расчет фармакокинетических параметров

Для каждого органа рассчитывались следующие фармакокинетические параметры: R004, M1 и M2 с помощью программного пакета R v. 3.3.2, (модуль Bear v. 2.7.7): максимальная концентрация (C_{max}); время достижения максимальной концентрации (T_{max}); площадь под кривой «концентрация – время» от момента введения до последней точки отбора (AUC_{0-t}) и до бесконечности ($AUC_{0-\infty}$); среднее резидентное время (MRT). Тканевая биодоступность (Ft) рассчитывалась с помощью Microsoft Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе разработки методики была изучена стабильность R004 в ацетонитрильных гомогенатах органов. Испытание проводилось на образцах с кон-

центрацией изучаемого вещества HQC. Для расчетов использовался метод внешнего стандарта. Так, исследуемое соединение оставалось стабильным в течение 24 ч хранения проб гомогенатов при комнатной температуре (STS), 3 циклов заморозки/разморозки проб гомогенатов (FTS), а также 24 ч хранения приготовленных проб в автосемплере (ASS) (рисунок 2).

Для оценки степени извлечения (СИ) рабочий раствор аналитов добавлялся к кусочкам цельных органов, затем проводилась их гомогенизация, пробоподготовка и количественное определение. Так, СИ R004 находилась в диапазоне 89,16–94,13 %, СИ метаболита M1 – 89,15–94,03 %, СИ метаболита M2 – 88,67–92,61 %. Данные результаты являются приемлемыми для дальнейшей валидации методики и свидетельствуют об отсутствии гидролиза R004 в процессе механической гомогенизации. Обратной конверсии метаболитов в исходную молекулу в процессе хранения и гомогенизации не наблюдалось.

Оценка селективности проводилась на пробах каждого изучаемого объекта, полученных от 6 разных крыс. Правильность и прецизионность определения аналитов на уровне концентраций LLOQ при этом соответствовала установленным требованиям (таблица 3). На хроматограммах холостых образцов обнаружены только хроматографические пики в области времени удерживания R004: их площадь не превышала 10,23 % от площади пиков LLOQ-образца. Аналитический сигнал других изучаемых веществ и внутренних стандартов отсутствовал в интактных пробах.

Линейность калибровочных кривых была подтверждена в диапазоне 2–2000 нг/г для R004 и в диапазоне 1–1000 нг/г для метаболитов M1 и M2 (см. таблицу 1). При этом 6 аналитических серий были выполнены на образцах печени, так как на ней проводился весь объем валидационных испытаний. На пробах других органов и тканей проанализированы по 3 валидационные серии. Средние значения угловых коэффициентов градуировочных кривых, построенных на гомогенатах разных биологических объектов, были близки (см. таблицу 1).

Изучение эффекта матрицы было выполнено на гомогенатах каждого исследуемого органа и ткани, полученных от 6 разных животных: анализировались по 6 проб на уровнях концентрации LQC и HQC. Величина относительного стандартного отклонения нормализованного фактора матрицы (NMF) R004, M1 и M2 в каждой матрице не превышала 15 % (таблица 2). Абсолютные значения NMF у всех аналитов в пробах разных органов были близкими и отличались менее чем на 15 %. Ввиду отсутствия различий в результатах оценки селективности, градуировочной зависимости и эффекта матрицы, проведенных на образцах печени, почек, сердца, легких, селезенки, мозга, кожи и мышц крысы, объем валидационных испытаний был сокращен. Поэтому подтверждение воспроизводимости при повторном введении, краткосрочной стабильности, стабильности после 3-кратной заморозки/разморозки, стабильности в автосемплере, отсутствия эффекта разведения проводились только на гомогенатах печени.

Таблица 2. Оценка эффекта матрицы методики определения 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида и его метаболитов в органах крысы

Table 2. Evaluation of matrix effect of the 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 rat organs

Орган Organ	Показатель Parameter	R004		M1		M2	
		LQC	HQC	LQC	HQC	LQC	HQC
Печень Liver	NMF	0,990	0,954	0,977	0,969	0,957	0,961
	RSD (NMF), %	1,82	7,92	3,55	2,05	3,22	4,32
Почки Kidneys	NMF	0,958	0,970	0,979	0,990	0,971	0,939
	RSD (NMF), %	3,78	8,15	6,16	4,32	2,35	3,87
Сердце Heart	NMF	0,984	0,950	0,944	0,960	0,949	0,953
	RSD (NMF), %	5,91	3,06	6,03	3,99	5,57	3,23
Легкие Lung	NMF	0,961	0,977	0,984	0,979	0,959	0,958
	RSD (NMF), %	4,54	2,69	2,95	1,75	5,46	4,56
Селезенка Spleen	NMF	0,990	0,946	0,949	0,962	0,990	0,979
	RSD (NMF), %	5,46	4,74	7,06	6,44	1,94	3,47
Мозг Brain	NMF	0,984	0,957	0,986	0,967	0,939	0,973
	RSD (NMF), %	4,24	5,64	2,42	2,45	6,06	3,49
Кожа Skin	NMF	0,960	0,982	0,979	0,984	0,959	0,941
	RSD (NMF), %	4,92	2,27	3,78	3,05	3,12	4,03
Мышцы Muscles	NMF	0,987	0,978	0,984	0,936	0,987	0,971
	RSD (NMF), %	6,46	3,54	4,86	5,77	4,47	3,36

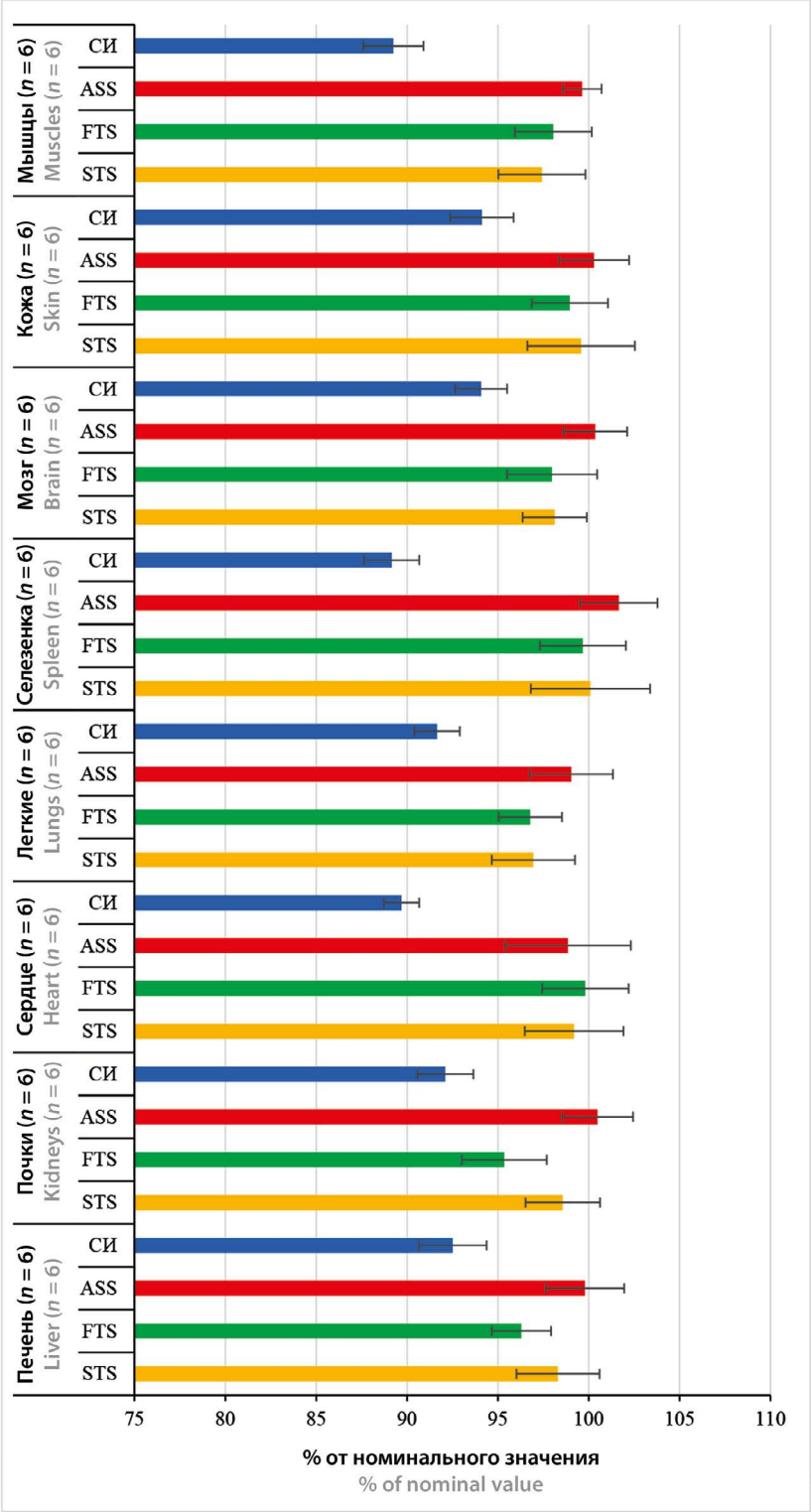


Рисунок 2. Результаты предварительных испытаний стабильности 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида в гомогенатах органов (со стандартной ошибкой среднего).

STS – краткосрочная стабильность; ASS – стабильность в автосемплере; FTS – стабильность после 3 циклов замораживания/размораживания; СИ – степень извлечения

Figure 2. Results of preliminary stability tests of 3-(2-butyl-5-chloro-1H-imidazole-4-yl)-N-[4-methoxy-3-(trifluoromethyl) phenyl]-4,5-dihydro-1,2-oxazole-5-carboxamide in organ homogenates (with the standard error of the mean).

STS – short-term stability; ASS – autosampler stability; FTS – stability after 3 cycles of freezing/thawing; СИ – recovery

Для подтверждения внутрисерийной правильности и прецизионности методики анализировались по 2 валидационные серии на образцах каждого органа и ткани (таблица 3). Среднее значение относительной погрешности определения (δ) каждого аналита находилось в диапазоне ±15 %, а RSD рассчитанных концентраций не превышал допустимые 15 %. При межсерийной оценке метрологических характеристик методики были объединены результаты всех 16 аналитических серий. Величина δ для R004 составила 0,17–2,86 %, для M1 – 1,77–2,27 %, для M2 – 1,95–3,52 %. Значение RSD полученных данных на каждом уровне концентраций составляло менее 8,99 % (таблица 3).

При двукратном разведении гомогенатов печени с концентрацией аналитов Dil холостым образцом правильность и прецизионность результатов сохранялась на требуемом уровне. Так, δ для R004 составила –2,27 %, δ для M1 – –1,71 %, δ для M2 – –1,35 %, а величина RSD не превышала 15 %.

Таблица 3. Результаты оценки правильности и прецизионности методики определения 3-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида и его метаболитов в органах и тканях крысы

Table 3. Results of evaluation of accuracy and precision of the method of quantification 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 rat organs and tissues

Испытание / Test		Концентрация / Concentration	R004		M1		M2	
			δ, %	RSD, %	δ, %	RSD, %	δ, %	RSD, %
Внутрисерийная правильность и прецизионность / Intraday accuracy and precision	Печень (2 серии, *n* = 12) / Liver (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	0,40	6,09	0,79	7,22	4,91	5,90
		LQC	3,46	2,52	1,94	4,64	6,13	2,56
		MQC	1,37	2,90	6,05	3,30	5,21	3,42
		HQC	3,37	3,69	3,88	2,80	4,39	2,72
	Почки (2 серии, *n* = 12) / Kidneys (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	2,61	6,29	2,08	10,37	5,67	7,91
		LQC	2,12	3,78	1,21	5,72	4,71	5,08
		MQC	2,78	2,58	2,33	6,49	3,89	4,26
		HQC	0,81	4,73	-0,03	4,29	0,96	4,58
	Сердце (2 серии, *n* = 12) / Heart (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	–1,52	7,40	2,63	8,27	6,07	7,74
		LQC	0,50	3,76	0,77	6,88	2,71	5,70
		MQC	2,16	4,75	–0,31	6,35	–0,68	5,47
		HQC	3,19	4,61	2,44	2,61	2,63	3,97
	Легкие (2 серии, *n* = 12) / Lung (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	–5,20	7,04	–7,24	8,41	–5,85	8,16
		LQC	–3,02	3,89	–2,31	6,54	–2,69	8,21
		MQC	1,71	3,37	–0,98	6,13	–0,06	5,02
		HQC	1,24	4,74	1,04	2,03	1,77	2,93
	Селезенка (2 серии, *n* = 12) / Spleen (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	0,14	9,39	3,32	10,32	2,26	9,14
		LQC	2,66	2,77	2,17	6,01	1,95	5,77
		MQC	4,65	4,17	3,80	3,29	3,10	3,50
		HQC	5,96	3,63	1,83	2,95	1,64	4,32
	Мозг (2 серии, *n* = 12) / Brain (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	5,61	6,68	8,25	7,85	7,95	7,58
		LQC	3,00	2,57	5,01	2,54	3,01	4,74
		MQC	3,16	3,01	2,66	5,20	3,86	4,86
		HQC	3,20	3,57	2,77	1,64	2,07	2,83
	Кожа (2 серии, *n* = 12) / Skin (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	–1,77	6,51	1,09	6,27	3,38	8,13
		LQC	1,30	4,13	1,40	6,33	2,13	5,51
		MQC	–0,73	2,79	–1,12	5,50	–0,36	6,53
		HQC	–0,16	4,26	–0,11	3,59	–0,62	3,80
	Мышцы (2 серии, *n* = 12) / Muscles (2 batches, *n* = 12)	LLOQ	1,07	7,87	7,23	5,67	3,80	5,16
		LQC	5,22	2,66	6,57	2,96	6,06	3,64
		MQC	3,46	4,36	4,89	4,13	4,39	5,48
		HQC	5,30	3,77	2,33	4,23	2,79	2,66
Межсерийная правильность и прецизионность (16 серии, *n* = 96) / Interday accuracy and precision (16 bathes, *n* = 96)		LLOQ	0,17	7,58	2,27	8,99	3,52	8,20
		LQC	1,90	3,88	2,09	5,71	3,00	5,70
		MQC	2,32	3,76	2,17	5,56	2,42	5,19
		HQC	2,86	4,44	1,77	3,28	1,95	3,66

Краткосрочная стабильность, стабильность аналитов после 3 циклов заморозки и разморозки в гомогенатах, а также стабильность аналитов в приготовленных пробах были доказаны на образцах печени (таблица 4). Долгосрочная стабильность R004, M1 и M2 была подтверждена в гомогенатах каждого исследуемого органа и ткани (таблица 4). Оценка воспроизводимости при повторном введении проводилась на валидационной серии образцов печени. Данная серия анализировалась спустя 36 ч после первого введения. Величина δ для R004 была в диапазоне –0,761–3,761 %, для M1 – 1,08–2,27 %, для M2 – 0,29–7,36 %. Значение RSD рассчитанных концентраций на уровнях LLOQ, LQC, MQC, HQC для R004 было менее 11,77 %, для M1 – менее 8,55 %, для M2 – менее 8,08 %. Данные результаты отвечают критериям приемлемости.

После успешной валидации разработанной методики проводился анализ испытуемых образцов органов и тканей крыс. Действующее вещество обнаружено во всех изучаемых биологических объектах (таблица 5). Тканевая биодоступность R004 уменьшается в следующем порядке (таблица 5): печень > кожа > почки > легкие > мышцы > сердце > селезенка > мозг. Высокие значения данного параметра (1,1–42,2) вызваны липофильностью данного соединения. Фармакокинетические профили R004 в органах имеют мультипиковый характер (рисунок 3), как и фармакокинетические профили данного соединения в плазме [3]. Так, первый пик нарастания концентрации наступает через 1 ч после введения, второй пик – через 4 ч, третий пик – через 8–10 ч (за исключением печени). Это связано с энтерогепатической рециркуляцией действующего вещества (таблица 5).

Таблица 4. Изучение стабильности 5-(2-бутил-5-хлоро-1H-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида и его метаболитов в гомогенатах органов

Table 4. Stability study of 5-(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 organ homogenates

Испытание Test		% отклонения от номинального значения % of deviation from nominal value					
		R004		M1		M2	
		LQC (*n* = 6)	HQC (*n* = 6)	LQC (*n* = 6)	HQC (*n* = 6)	LQC (*n* = 6)	HQC (*n* = 6)
Краткосрочная стабильность (комнатная температура, 24 ч) Short-term stability (room temperature, 24 h)		3,82	4,87	4,87	4,00	5,48	2,89
Стабильность после 3 циклов заморозки (12 ч) и разморозки (4 ч) Stability after 3 cycles of freeze (12 h) and thaw (4 h)		5,25	5,75	1,75	0,75	0,76	3,13
Стабильность в автосемплере (температура +4 °C, 48 ч) Autosampler stability (temperature +4 °C, 48 h)		2,80	5,61	3,64	2,20	5,48	3,35
Долгосрочная стабильность в морозильной камере (не выше –70 °C, 30 дней) Long-term stability at freezer (no higher than –70 °C, 30 days)	Печень Liver	2,53	2,04	5,04	1,16	3,54	2,27
	Почки Kidneys	1,94	2,61	3,62	–1,66	4,71	0,74
	Сердце Heart	0,95	0,48	0,23	–2,14	3,81	–1,04
	Легкие Lung	1,16	0,84	0,10	–0,62	–1,16	0,13
	Селезенка Spleen	2,20	0,57	5,23	0,95	0,52	0,09
	Мозг Brain	2,71	3,03	4,57	1,20	–3,22	–1,20
	Кожа Skin	5,60	3,10	5,68	1,37	0,71	2,96
	Мышцы Muscles	4,54	5,52	6,46	2,76	6,02	2,39

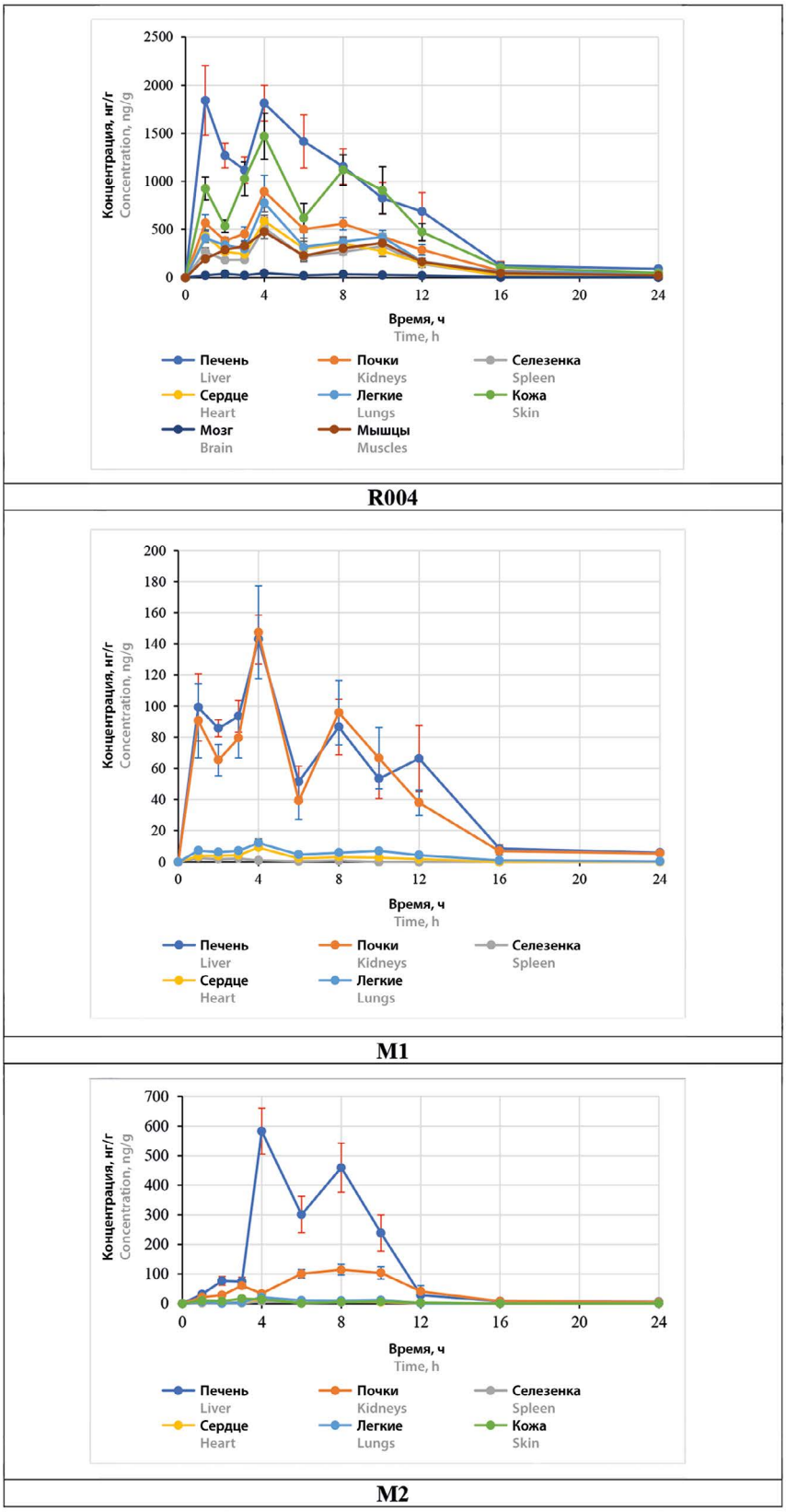


Рисунок 3. **Усредненные фармакокинетические кривые (со стандартной ошибкой среднего) 5-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида и его метаболитов в органах и тканях крысы**

Figure 3. **Averaged pharmacokinetic curves (with standard error of mean) of 5-(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 rat organs and tissues**

Таблица 5. Рассчитанные значения фармакокинетических параметров 5-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида и его метаболитов в органах и тканях крысы

Table 5. Calculated values of pharmacokinetic parameters 5-(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 rat organs and tissues

Орган Organs	Аналит Analyte	C_{max}, нг/мл C_{max}, ng/ml	T_{max}, ч T_{max}, h	AUC_{0-t}, нг · ч/мл AUC_{0-t}, ng · h/ml	$AUC_{0-\infty}$, нг · ч/мл $AUC_{0-\infty}$, ng · h/ml	MRT, ч MRT, h	F_t
Печень Liver	R004	1840,2	1	16528,0	17081,0	6,9	42,2
	M1	142,8	4	1095,7	1128,4	7,2	21,0
	M2	582,7	4	3083,1	3105,5	6,9	132,0
Почки Kidneys	R004	896,3	4	7024,1	7317,3	7,5	17,9
	M1	147,4	4	993,0	1021,2	7,1	19,0
	M2	114,4	8	961,3	983,4	8,4	41,2
Сердце Heart	R004	588,3	4	4053,2	4103,0	7,6	10,4
	M1	9,2	4	44,2	76,2	9,2	0,8
	M2	15,9	4	60,1	64,2	5,9	2,6
Легкие Lung	R004	777,5	4	5369,8	5786,7	6,3	13,7
	M1	12,3	4	93,1	95,7	7,5	1,8
	M2	21,6	4	108,1	111,0	7,1	4,6
Селезенка Spleen	R004	515,0	4	3618,3	3821,5	7,7	9,2
	M1	2,6	1	9,9	14,4	3,2	0,2
	M2	8,2	4	50,8	57,3	6,7	2,2
Кожа Skin	R004	1468,7	4	11833,0	12059,0	7,4	30,2
	M2	16,8	3	94,8	110,1	7,3	4,1
Мозг Brain	R004	48,4	4	416,6	433,7	7,6	1,1
Мышцы Muscles	R004	475,8	4	4077,5	4207,2	7,8	10,4

Метаболиты M1 и M2 обнаружены в тканях печени, почек, а также в меньших количествах в высоковаскуляризированных органах: сердце, селезенке и легких (рисунок 3, таблица 5). Следовые количества M2 идентифицированы также в коже крыс. Через гематоэнцефалический барьер метаболиты не проходят. На фармакокинетических профилях M1 наблюдается 3 пика нарастания концентрации, как и у действующего вещества (рисунок 3). Величина тканевой биодоступности M1 снижается в следующем порядке: печень > почки > легкие > сердце > селезенка. C_{max} метаболита M2 в печени достигается спустя 4 ч после введения препарата. Ее величина составляет 582,7 нг/г, что приблизительно в 4 раза выше, чем C_{max} M1. Такое накопление M2 вызвано низким уровнем ренальной экскреции M2 [2]. Тканевая биодоступность M2 изменяется в том же порядке, что и у M1 (за исключением кожи): печень > почки > легкие > кожа > сердце > селезенка. Таким образом, метаболиты проникают в изучаемые биологические объекты хуже действующего вещества. Наибольшее содержание M1 и M2 наблюдается в органах экскреции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биоаналитическая методика определения 3-(2-бутил-5-хлоро-1Н-имидазол-4-ил)-N-[4-метокси-3-(трифторметил)фенил]-4,5-дигидро-1,2-оксазол-5-карбоксамида и его метаболитов в органах и тканях была успешно валидирована и использована при изучении распределения субстанции. Действующее вещество хорошо распределяется по всем изучаемым органам и тканям. Наибольшее содержание R004 наблюдается в печени, коже и почках, наименьшее содержание – в головном мозге. Высокие концентрации метаболитов M1 и M2 обнаружены в печени и почках. В сердце, легкие и селезенку данные соединения проникают в значительно меньших количествах. В тканях кожи идентифицирован только M2. Концентрации M1 и M2 в мышцах и головном мозге находились ниже предела количественного определения методики.

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-dihydroi-

soxazol-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.

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 derivate. *Research Results in Pharmacology*. 2024;10(2):83–95. DOI: 10.18413/rrpharmacology.10.482.
3. Яичков И. И., Корсаков М. К., Вольхин Н. Н., Петухов С. С., Тюшина А. Н., Зайкова В. Е., Лазарянц О. Э. Изучение фармакокинетики нового производного 4,5-дигидроизоксазол-5-карбоксамида на крысах. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):238–250. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1876. [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. Liang D., Wu Z., Liu Y., Li C., Li X., Yang B., Xie H., Sun H. HPLC-MS/MS-Mediated Analysis of the Pharmacokinetics, Bioavailability, and Tissue Distribution of Schisandrol B in Rats. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2021;2021:8862291. DOI: 10.1155/2021/8862291.
5. Hu H., Xiao H., Bao H., Li M., Xue C., Li Y. T., Wang G., Chen S., Huang Y., Zheng L., Wang A., Li Y. J., Gong Z. P. Tissue Distribution Comparison of Six Active Ingredients from an Eucommiae Cortex Extract between Normal and Spontaneously Hypertensive Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020;2020:1–16. DOI: 10.1155/2020/2049059.
6. Körmöczi T., Szabó Í., Farkas E., Penke B., Janáky T., Ilisz I., Berkecz R. Heart-cutting two-dimensional liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry for determination of N,N-dimethyltryptamine in rat plasma and brain; Method development and application *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2020;191:113615. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113615.
7. Kusuma Kumari G., Krishnamurthy P. T., Ravi Kiran Ammu V. V. V., Vishwanath K., Narenderan S. T., Babu B., Krishnaveni N. Development and validation of a sensitive LC-MS/MS method for pioglitazone: application towards pharmacokinetic and tissue distribution study in rats. *RSC Advances*. 2021;11:11437–11443. DOI: 10.1039/d1ra01126j.
8. Liu J., Pang Y., Li W., Sun J., He Y., Guo Y., Dong J. Impact of hepatic impairment and renal failure on the pharmacokinetics of linezolid and its metabolites: contribution of hepatic metabolism and renal excretion. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2025;69(5):e0189224. DOI: 10.1128/aac.01892-24.
9. Ramöller I. K., Abbate M. T. A., Vora L. K., Hutton A. R. J., Peng K., Volpe-Zanutto F., Tekko I. A., Moffatt K., Paredes A. J., McCarthy H. O., Donnelly R. F. HPLC-MS method for simultaneous quantification of the antiretroviral agents rilpivirine and cabotegravir in rat plasma and tissues. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2022;213:114698. DOI: 10.1016/j.jpba.2022.114698.
10. Rosebooma I. C., Thijssena B., Rosinga H., Alvesb F., Mondalc D., Teunissend M. B. M., Beijnena J. H., Dorloa T. P. C. Development and validation of an HPLC-MS/MS method for the quantification of the anti-leishmanial drug miltefosine in human skin tissue. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2022;207:114402. DOI: 10.1016/j.jpba.2021.114402.
11. Sheng Y.-H., Siemiątkowska A., Kosicka-Noworzyń K., Brunetti L., Kagan L. A validated LC-MS/MS method for simultaneous quantitation of piperacillin, cefazolin, and cefoxitin in rat plasma and twelve tissues. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2024;248:116259. DOI: 10.1016/j.jpba.2024.116259.
12. Yin W., Al-Wabli R. I., Attwa M. W., Rahman A. F. M. M., Kadi A. A. Detection and characterization of simvastatin and its metabolites in rat tissues and biological fluids using MALDI high resolution mass spectrometry approach. *Scientific Reports*. 2022;12(1):4757. DOI: 10.1038/s41598-022-08804-x.

Research article / Оригинальная статья

UDC 615.076.9; 615.27

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2160

Check for updates

CC BY 4.0

Efficacy of ethylmethylhydroxypyridine succinate derivative in a model of intermittent hypoxia in comparison with the reference drug

Grigory A. Plisko[1]✉, Dmitry Yu. Ivkin[1], Sergey V. Okovitiy[1], Vera Ts. Bolotova[1], Ekaterina M. Evgenyeva[2], Nikita S. Kurmazov[1,3], Timofey A. Pyatizbyantsev[4], Margarita V. Zhuravleva[1], Maria A. Tikhaya[1], Ekaterina E. Paderina[1]

[1] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[2] Joint Stock Company "RMC "House Of Pharmacy", 3/245, Zavodskaya str., Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhski district, Leningrad region, 188663, Russia
[3] N. P. Behtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences. 9, Akademika Pavlova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[4] Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Pavlov University). 6–8, L'va Tolstogo str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Grigory A. Plisko. **E-mail:** grigoriyplisko@gmail.com

ORCID: Grigory A. Plisko – https://orcid.org/0000-0003-0869-3430;
Dmitry Yu. Ivkin – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864;
Sergey V. Okovitiy – https://orcid.org/0000-0003-4294-5531;
Vera Ts. Bolotova – https://orcid.org/0000-0001-7559-186X;
Ekaterina M. Evgenyeva – https://orcid.org/0009-0003-9212-0420;
Nikita S. Kurmazov – https://orcid.org/0000-0001-7212-6903;
Timofey A. Pyatizbyantsev – https://orcid.org/0000-0003-1837-189X;
Margarita V. Zhuravleva – https://orcid.org/0009-0006-1733-5204;
Maria A. Tikhaya – https://orcid.org/0009-0007-7107-6669;
Ekaterina E. Paderina – https://orcid.org/0009-0007-5618-3183.

Received: 29.07.2025 **Accepted:** 19.11.2025 **Published:** 21.11.2025

Abstract

Introduction. Intermittent hypoxia (IH) promotes oxygen free radical oxidation, which may precede many diseases. Decreased physical activity, ischaemic processes in organs and disturbances at the cellular level, may be a consequence of intermittent hypoxia. It is important to search for potential drugs to correct this process.

Aim. Comparative study of the efficacy of the active metabolite of ethylmethylhydroxypyridine succinate (EMHPS), ethylmethylsulfapyridine (EMSP), with a native molecule in a model of IG in mice.

Materials and methods. Test subjects were administered intraperitoneally for 14 days – EMSP was administered at a dose of 85 mg/kg, Mexidol® – at a dose of 100 mg/kg. Prolonged intermittent hypoxia was reproduced by placing animals in a membrane hypoxifier. The following conditions have been set for 14 days: 6 % – oxygen content in the hypoxic chamber, duration – 6 hours. The effect of the drug on dynamic load (grip strength test), respiratory parameters (plethysmograph parameters), behavioral and cognitive parameters (open field and elevated plus maze tests), heart rate and venous oxygen saturation were evaluated, and the potential mechanism of action was studied by real-time PCR.

Results and discussion. It was found that EMSP was effective in terms of plethysmography parameters, in particular, it helped the body adapt to chronic hypoxic effects, which resulted in significant differences in inhalation and exhalation parameters from the control group. The study of behavioral and cognitive states revealed the presence of anxiety, decreased exploratory activity and increased mobility of animals in all groups. These parameters were less pronounced for animals treated with EMSP and Mexidol® than in the control group. There was a tendency to increase the expression of a gene affecting the ubiquinol-cytochrome c-reductase complex, which is a part of mitochondrial respiration.

Conclusion. According to the results of the study, EMSP showed comparable protective properties with a native molecule EMHPS. There was also a tendency to increase the stimulation of UQCRC2 gene against the background of EMSP administration compared with EMHPS.

Keywords: intermittent hypoxia, 3-oxypyridine, ethylmethylsulfopyridine, mice, UQCRC2

© Plisko G. A., Ivkin D. Yu., Okovitiy S. V., Bolotova V. Ts., Evgenyeva E. M., Kurmazov N. S., Pyatizbyantsev T. A., Zhuravleva M. V., Tikhaia M. A., Paderina E. E., 2025
© Плиско Г. А., Ивкин Д. Ю., Оковитый С. В., Болотова В. Ц., Евгеньева Е. М., Курмазов Н. С., Пятиизбянцев Т. А., Журавлева М. В., Тихая М. А., Падерина Е. Е., 2025

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. Sergey V. Okovity – idea and planning of the experiment. Ekaterina M. Evgenyeva – modelling of intermittent hypoxia. Ekaterina M. Evgenyeva – administration of drugs. Grigory A. Plisko – data processing. Ekaterina M. Evgenyeva – performance of 'PKL' and 'OT' tests. Ekaterina M. Evgenyeva – measurement of HR, saturation and respiratory function. Nikita S. Kurmazov, Timofey A. Pyatizbyantsev – measurement of gene expression by real-time PCR. Dmitry Yu. Ivkin, Grigory A. Plisko, Vera Ts. Bolotova, Ekaterina M. Evgenyeva – preparation and revision of the manuscript. Margarita V. Zhuravleva, Maria A. Tikhaya, Ekaterina E. Paderina – translation into English.

Funding. The results of the paper were obtained using the resources of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation.

For citation: Plisko G. A., Ivkin D. Yu., Okovitiy S. V., Bolotova V. Ts., Evgenyeva E. M., Kurmazov N. S., Pyatizbyantsev T. A., Zhuravleva M. V., Tikhaia M. A., Paderina E. E. Efficacy of ethylmethylhydroxypyridine succinate derivative in a model of intermittent hypoxia in comparison with the reference drug. *Drug development & registration*. 2025;14(4):261–269. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2160

Эффективность производного этилметилгидроксипиридина сукцината на модели интермиттирующей гипоксии в сравнении с референтным препаратом

Г. А. Плиско[1]✉, Д. Ю. Ивкин[1], С. В. Оковитый[1], В. Ц. Болотова[1], Е. М. Евгеньева[2], Н. С. Курмазов[1, 3], Т. А. Пятиизбянцев[4], М. В. Журавлева[1], М. А. Тихая[1], Е. Е. Падерина[1]

[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] Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ». 188663, Россия, Ленинградская область, Всеволожский район, г. п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, корп. 245

[3] 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

[4] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

✉ **Контактное лицо:** Плиско Григорий Алексеевич. **E-mail:** grigoriyplisko@gmail.com

ORCID: Г. А. Плиско – https://orcid.org/0000-0003-0869-3430;
Д. Ю. Ивкин – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864;
С. В. Оковитый – https://orcid.org/0000-0003-4294-5531;
В. Ц. Болотова – https://orcid.org/0000-0001-7559-186X;
Е. М. Евгеньева – https://orcid.org/0009-0003-9212-0420;
Н. С. Курмазов – https://orcid.org/0000-0001-7212-6903;
Т. А. Пятиизбянцев – https://orcid.org/0000-0003-1837-189X;
М. В. Журавлева – https://orcid.org/0009-0006-1733-5204;
М. А. Тихая – https://orcid.org/0009-0007-7107-6669;
Е. Е. Падерина – https://orcid.org/0009-0007-5618-3183.

Статья поступила: 29.07.2025 **Статья принята в печать:** 19.11.2025 **Статья опубликована:** 21.11.2025

Резюме

Введение. Интермиттирующая гипоксия (ИГ) способствует свободнорадикальному окислению кислорода, что может предшествовать многим заболеваниям. Снижение физической активности, ишемические процессы в органах и нарушения на клеточном уровне, могут быть следствием прерывистой гипоксии. Актуальным является поиск потенциальных ЛС для коррекции данного процесса.

Цель. Сравнительное изучение эффективности активного метаболита этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) – этилметилсульфапиридина (ЭМСП), с нативной молекулой на модели ИГ у мышей.

Материалы и методы. Введение исследуемых объектов осуществляли внутрибрюшинно в течение 14 дней – ЭМСП вводили в дозе 85 мг/кг, Мексидол® – в дозе 100 мг/кг. Длительную интермиттирующую гипоксию воспроизводили путем помещения животных в мембранный гипоксикатор. Устанавлен следующий режим в течение 14 дней: 6 % – содержание кислорода в гипоксической камере, продолжительность – 6 часов. Оценивали влияние препарата на динамическую нагрузку (тест «сила хвата»), параметры дыхания (показатели плетизмографа), поведенческие и когнитивные показатели (тесты «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт»), частоту сердечных сокращений и насыщение венозной крови кислородом, а также изучали потенциальный механизм действия методом ПЦР realtime.

Результаты и обсуждение. Было выявлено, что ЭМСП проявлял эффективность по параметрам плетизмографии, в частности помогал адаптироваться организму к хроническому гипоксическому воздействию, что выражалось в значимых отличиях по показателям вдоха и выдоха от контрольной группы. Исследование поведенческих и когнитивных состояний выявили наличие тревожности, снижение исследовательской активности и увеличение подвижности животных во всех группах. У животных, которым вводили ЭМСП и Мексидол® данные параметры были менее выражены, чем в контрольной группе. Была отмечена тенденция к увеличению экспрессии гена, влияющего на комплекс убихинол-цитохром с-редуктазы, являющимся частью митохондриального дыхания.
Заключение. Согласно результатам исследования, ЭМСП продемонстрировал защитные свойства, сравнимые с нативной молекулой ЭМГПС. Также была выявлена тенденция к усилению стимуляции гена UQCRC2 на фоне введения ЭМСП по сравнению с ЭМГПС.

Ключевые слова: интермиттирующая гипоксия, 3-оксипирид, этилметилсульфопиридин, мыши, UQCRC2

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

Вклад авторов. С. В. Оковитый – идея и планирование эксперимента. Е. М. Евгеньева – моделирование интермиттирующей гипоксии. Е. М. Евгеньева – введение препаратов. Г. А. Плиско – обработка данных. Е. М. Евгеньева – проведение тестов «ПКЛ» и «ОТ». Е. М. Евгеньева – измерение ЧСС, сатурации и функции дыхания. Н. С. Курмазов, Т. А. Пятиизбянцев – измерение экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени. Д. Ю. Ивкин, Г. А. Плиско, В. Ц. Болотова, Е. М. Евгеньева – подготовка и редактура рукописи. М. В. Журавлева, М. А. Тихая, Е. Е. Падерина – перевод статьи на английский язык.

Финансирование. Результаты статьи получены с использованием ресурсов федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России.

Для цитирования: Плиско Г. А., Ивкин Д. Ю., Оковитый С. В., Болотова В. Ц., Евгеньева Е. М., Курмазов Н. С., Пятиизбянцев Т. А., Журавлева М. В., Тихая М. А., Падерина Е. Е. Эффективность производного этилметилгидроксипиридина сукцината на модели интермиттирующей гипоксии в сравнении с референтным препаратом. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):261–269. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2160

INTRODUCTION

Intermittent hypoxia (IH) is a pathological factor that contributes to the generation of oxygen free radicals that precede many pathological processes. One of the most frequent manifestations of IH is obstructive sleep apnea syndrome [1, 2], that can be a predictor of such diseases as: diabetes mellitus, hypertension and heart failure [3, 4]. Mostly, sleep apnea is caused by mechanical obstruction of the upper airways. Lack of oxygen leads to IH, which is terminated due to reflex respiratory movements. However, the quality of sleep is impaired, resulting in sleepiness, cognitive decline and stress-induced activation of the sympathetic nervous system [3]. The latter leads to the release of adrenaline and cortisol, which can cause decreased insulin sensitivity [5]. IH provokes neuroinflammation with subsequent behavioral and neuropsychological disorders in the central nervous system (CNS) [6].

IH is one of the pathophysiological processes of chronic cerebral ischemia, causing structural damage to neurons and CNS dysfunction [7]. Brain tissue damage in CH is most likely due to changes in the functioning of ion channels, glutamate excitotoxicity, increased production of proinflammatory cytokines, and the formation of chronic neuroinflammation [8, 9].

Mainly, IH can initiate a cascade of pathological conditions characterised by sympathetic activation, mitochondrial dysfunction, inflammation, oxidative stress, endothelial dysfunction and metabolic disorders [10].

Due to the prevalence of IH influence on various pathological processes, the study of antihypoxants and antioxidants is relevant [11]. Among substances possessing these properties are 3-oxypyridine derivatives, including: ethylmethylhydroxypyridine succinate (EMHPS), ethylmethylhydroxypyridine malate, etc. [12–14].

In this paper we studied antihypoxant properties of the metabolite of EMHPS – ethylmethylsulfapyridine (EMSP) on the model of IH in mice. In previous studies, EMSP showed antihypoxant and antioxidant properties [15, 16]. In addition, the effects on the central nervous system and dynamic load, as well as the possible mechanism of action of EMSP were evaluated.

The aim was to compare the efficacy of the active metabolite of ethylmethylhydroxypyridine succinate (EMHPS), ethylmethylsulfapyridine (EMSP), with a native molecule in a model of IG in mice.

MATERIALS AND METHODS

The screening study was conducted on a total of 18 white laboratory outbred male mice weighing 20–22 g, obtained from the laboratory animal nursery of FGUP PLJ "Rappolovo".

Animals were kept in polysulfone type IV cages with steel lattice lids with a feeding hollow and a steel feed divider. The air temperature throughout the experiment in the animal housing was 22 ± 2 °C, the light regime was 12 h of light and 12 h of darkness. The animals were provided free access to feed and water throughout the experiment. The feed for keeping laboratory animals, corresponded to ISO 34566-2019 "Complete feeds for laboratory animals". Animals were given purified and normalized by organoleptic properties water based on SanPiN (Sanitary Regulations and Standarts) 2.1.3684-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the maintenance of urban and rural settlements, water bodies, drinking water and drinking water supply, air, soil, living quarters, operation of industrial and public premises, organization and conducting of sanitary and anti-epidemic (preventive) measures".

The animals were kept in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Randomisation was performed according to premeasured saturation indices (Table 1). Three groups were formed in the study: Group No. 1 – control ($n = 6$), animals were modelled IG and intraperitoneal injected with physiological solution (NaCl 0.9 %); Group No. 2 – experimental ($n = 6$), animals were modelled IH and intraperitoneal administered the studied compound – EMSP at a dose of 85 mg/kg for 14 days; Group No. 3 – experimental ($n = 6$), animals were modelled IH and intraperitoneal administered a comparison drug – Mexidol® (active ingredient – EMHPS) at a dose of 100 mg/kg for 14 days.

Table 1. Group distribution

Group No. 1 (Control), %	Group No. 2 (EMSP), %	Group No. 3 (EMHPS), %
78.1 ± 11,4	78.0 ± 4,3	78.2 ± 4,04

The doses of EMSP and Mexidol® were taken based on the results of previous studies [15].

Long-term intermittent normobaric hypoxia was modelled by placing animals in a 75-litre membrane hypoxicator – BIO-NOVA-2004 (Russia) adapted for rodents. The following conditions were set: oxygen content in the hypoxic chamber – 6 %, duration of a single hypoxic cycle – 6 hours. The duration of daily hypoxic exposure –14 days. Oxygen content in the chamber was monitored using a PKG-4 series gas analyzer (CJSC "EXIS", Russia). The investigated substances were administered 30 min before placing the animals in the hypoxic chamber.

Before the administration of the studied compounds and modeling of IH, the animals were assessed for dynamic load, as well as respiratory parameters, behavior parameters, heart rate (HR) and venous oxygen saturation (SpO_2) were measured. These parameters were also measured after the end of administration of the study compounds. The clinical condition of the animals was checked daily and body weight was measured weekly. After euthanasia in animals of all groups, the expression of mitochondrial complex genes in the liver was determined by real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) and blood biochemical examination was performed.

Dynamic load was measured in the "grip strength" test. The study was performed using the Grip Strength Meter system manufactured by TSE Systems (Germany), which is suitable for conducting experiments on small rodents. Muscle grip strength of the forelegs was measured by recording the force required for the animal to unclench its fingers (gram – power) in three consecutive determinations. The measurement was performed on both forelegs separately and simultaneously.

To assess respiratory function, animals were placed one at a time in a single-chamber barometric thoracic plethysmograph (EMKA Technologies, France) ventilated with a continuous flow of air at 2 L/min (EMKA Technologies, France) in which they were allowed to move freely. A differential pressure sensor was connected to the chamber and the pressure signals were amplified, digitized and sampled at a rate of 100 Hz using validated and dedicated software (IOX version 1.7.0, EMKA Technologies, France). Before each measurement, calibration was performed according to the manufacturer's recommendations by injecting 20 ml of room temperature air into the chamber. The following parameters were analyzed (ANALYST version 1.49, EMKA Technologies, France): inspiratory duration (Ti), expiratory duration (Te), maximal inspiratory flow rate (PIF), maximal expiratory flow rate (PEF), inspiratory volume (TV), expiratory volume (EV), relaxation time (RT), minute volume (MV), respiratory movement rate (RR) (f), end-inspiratory pause (EIP), end-exhalation pause (EEP), estimated pause (Penh), mid-expiratory flow rate corresponding to 50 % of the exhaled volume (EF50).

The behavioral assessment was performed using the Open Field Test (OFT) and the Elevated Plus Maze (EPM).

The OFT setup consisted of a circular platform with a diameter of 63 cm, containing 13 holes in the floor and divided into 19 equal sections with a designated central zone. Each animal was placed in the center of the platform, facing away from the experimenter. During a three-minute observation period, the following parameters were recorded using video tracking: the number of crossed sectors, the number of explored sectors, rearings, burrow pokeings, grooming episodes, total distance traveled, velocity and the percentage of time spent in motion.

The EPM apparatus contains two open arms and two enclosed arms of equal dimensions, elevated 75 cm above the floor. During testing, each animal was placed in the central platform facing an open arm. The 5-minute test session was followed by returning the animal to its home cage. The following parameters were recorded: time spent in open and closed arms, number of crossed squares, number of rearing, head-dipping behavior and grooming episodes. Following each trial, the maze surfaces were thoroughly cleaned with Lysaxin spray to eliminate olfactory cues.

Heart rate (HR) and venous oxygen saturation (SpO_2) were monitored using a pulse oximeter developed at Saint Petersburg Electrotechnical University «LETI» (V. I. Ulyanov). Animals were temporarily restrained while a clip sensor was attached to the tail. The sensor has two light sources: 660 nm (red) and 940 nm (infrared). The photodetector registers the light level after partial absorption of the flow by tissues and blood components and the microprocessor analyzes the obtained results and determines SpO_2 and HR.

The animals were euthanized by decapitation. Due to the influence of other euthanasia methods (a CO_2 box with carbon dioxide air replacement or the administration of high doses of narcotic drugs) on the postmortem study results.

Mitochondrial gene expression in liver tissue was analyzed using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). Following euthanasia, liver samples were collected for total RNA extraction using the "Extract-RNA" (JSC "Evrogen", Russia). The RNA concentration in the final solution was measured immediately after extraction using a "NanoPhotometer N50" spectrophotometer (Implen GmbH, Germany). Next, complementary DNA (cDNA) was synthesized from the RNA template using the "MMLV RT kit" (JSC "Evrogen", Russia). Finally, a reaction was performed to synthesize complementary DNA strands from the cDNA template at primer annealing sites. Fluorescence of the product was provided by the fluorescent dye SYBR Green (JSC "Evrogen", Russia). Each sample was measured in duplicate alongside no-template controls. Amplification data was analyzed using the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method to determine fold changes in gene expression between experimental and control samples. Melting curve analysis was conducted to identify nonspecific amplification products. Samples showing multiple peaks were excluded from further analysis. Target genes included: NDUFS1 – encodes the largest subunit of Complex I responsible for electron transfer from NADH to the respiratory chain; UQCRC2 – encodes a mitochondrial protein that forms part of Complex III, essential for complex assembly and stabilization; COX1 – encodes a subunit of Complex IV involved in aerobic metabolism (electron transfer in oxidative phosphorylation); SDHA – encodes a protein component of SDH complex located on the inner mitochondrial membrane, participating in both the TCA cycle and respiratory chain.

Statistical analysis was performed using STATISTICA v10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Intergroup comparisons were analyzed using the Kruskal-Wallis test, while intragroup baseline assessments were performed using pairwise t-tests. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. Results are presented as mean (M) ± standard error of the mean (SEM).

RESULTS AND DISCUSSION

No animal mortality occurred in any group throughout the study duration. Body weight measurements and biochemical parameters showed no significant intergroup or intragroup differences.

According to the table 2, a decrease in grip strength was noted in all groups, which is consistent with the data obtained in the study of the effect of chronic intermittent hypoxia on neuromuscular joints [17]. However, the Control group demonstrated a more pronounced tendency toward reduction ($p \leq 0.07$) compared to the EMSP group ($p \leq 0.3$). And in the EMGPS group, a statistically significant difference between the final values and the background values was revealed.

Table 2. Grip Strength Test

Group	Baseline, N	Final, N
Control	98,2 ± 11,5	86,8 ± 7,0
EMSP	95,2 ± 16,0	84,5 ± 18,1
EMHPS	92,6 ± 9,3	77,7 ± 3,6*

Note. * $p \leq 0,05$, Student›s t-test (Baseline vs. Final); N – Newton.

It can be concluded that the investigated compound EMSP helps to more effectively prevent a decrease in grip strength against the background of chronic IH.

The control group, there was a significant increase in Ti, EM, and UM values, as well as a decrease in f and an increase in AP compared to the background values. It is important to note, although not statistically significant, a 35 % increase in Te compared to the background data. A change in these parameters shows the presence of compensatory and pathological changes against the background of IG, which indicates successful modeling of pathology (Table 3).

Amid the introduction of EMSP, a change in respiratory parameters was also observed after the end of the IG simulation. There was a significant decrease in PEF, *f*, and EF50 values compared to the background values. A significant change in the background readings of only these parameters may indicate a less pronounced lesion of the respiratory system of animals against the background of the introduction of EMS than in the control group. The values of Ti, EV, and PEF had a significant difference from the control group, which also indicates less pronounced pathological processes against the background of IH, as well as a possible predominant effect on the inspiratory mechanisms of EMF.

Table 3. Plethysmography parameters

Group	Control		EMPS		EMHPS	
	Baseline	Final	Baseline	Final	Baseline	Final
Ti (s)	58,5 ± 6,9	75,9 ± 13,1[B]	62,9 ± 6,1	64,6 ± 4,3[A]	65,9 ± 9,8	74,2 ± 5,7
Te (s)	177,9 ± 58,1	240,3 ± 125,6	207,5 ± 86,0	219,8 ± 27,3	240,4 ± 74,9	180,4 ± 51,9
PIF (mL/s)	3,7 ± 0,3	3,9 ± 0,2	3,7 ± 0,4	3,9 ± 0,16	3,6 ± 0,2	3,7 ± 0,2
PEF (mL/s)	3,4 ± 0,3	3,3 ± 0,3	3,5 ± 0,2	3,0 ± 0,1[A,B]	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2
TV (mL)	0,13 ± 0,02	0,17 ± 0,02[B]	0,14 ± 0,04	0,15 ± 0,01	3,1 ± 0,2[B]	3,1 ± 0,2[B]
EV (mL)	0,12 ± 0,02	0,17 ± 0,02[B]	0,14 ± 0,04	0,14 ± 0,01[A]	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,01
RT	257,3 ± 189,9	244,9 ± 234,4	193,2 ± 195,2	146,9 ± 11,9	267,5 ± 203,0	146,1 ± 59,8
MV (mL)	39,7 ± 10,3	48,2 ± 5,9	46,4 ± 7,40	42,0 ± 5,3	38,0 ± 9,1	41,8 ± 0,9
t between 2 breaths (s)	329,4 ± 150,5	353,6 ± 179,0	287,2 ± 91,5	319,3 ± 33,7	372,7 ± 106,8	345,6 ± 12,7
f (bpm)	335,5 ± 44,3	280,4 ± 41,7[B]	342,6 ± 30,2	285,2 ± 11,0[B]	305,0 ± 47,7	287,3 ± 3,4
EIP	1,5 ± 0,4	2,0 ± 0,5[B]	1,7 ± 0,3	1,9 ± 0,5	2,0 ± 0,9	2,1 ± 0,5
EEP	12,7 ± 3,7	12,2 ± 1,6	12,2 ± 2,2	11,6 ± 1,6	12,1 ± 1,6	10,9 ± 1,6
Penh	0,54 ± 0,1	0,40 ± 0,1	0,52 ± 0,1	0,40 ± 0,05	0,42 ± 0,2	0,42 ± 0,2
EF50 (mL/s)	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,1 ± 0,1[B]	2,4 ± 0,3	2,2 ± 0,3

Note. A – $p \leq 0,05$, Kruskal-Wallis test (EMPS vs. Control; EMHPS vs. Control); B – $p \leq 0,05$, Student's t-test (Baseline vs. Final); *t* – time.

The reference compound EMGPS during the pathology showed no significant differences from the indicators in the control group. In comparison with the background values, only a decrease in PEF was observed, as in the EMF group.

Based on the data obtained, it can be concluded that the studied compound EMSP contributed to the normalization of respiration compared with the control group against the background of IG. EMSP and EMGPS showed comparable effectiveness in terms of plethysmography parameters against the background of IG. The positive effect of the studied EMSP and reference EMGPS on respiratory parameters in IH corresponds to the data given in the article by N. N. Andreeva. The article contains both experimental and clinical results showing that EMHPS increases the body's resistance to oxygen deficiency and reduces the risk of developing post-ischemic disorders [18].

In the control group under IH, a significant decrease in the time spent in the open arm (35 %) and on the central platform (59 %) was observed compared to baseline values. Additionally, a more than twofold reduction (55 %) in the number of entries into the open arm and a significant decrease in the number of times the animals peeked from the closed arm were recorded. All these parameters, as well as a significant increase in grooming behaviors, indicate anxiety in the animals following the IH modeling (Table 4).

In the EMSP group, a decrease in time spent in the open arm (78 %) and an increase in time spent in the closed arm (67 %) were also observed, suggesting anxiety in the animals. Anxiety was further indicated by a fourfold increase in the time of the first entry into the open arm (400 %) and a significant decrease in peeking out from it. Moreover, a significant increase in grooming behavior was noted. However, it is worth mentioning the more than twofold increase (134 %) in time spent on the central platform and a 77 % reduction in defecation compared to baseline data. These results suggest that the animals experienced anxiety under pathology modeling, but compared to the control group, anxiety was less pronounced in the EMSP group.

In the groups with the introduction of EMSP and EMGPS, the presence of anxiety in animals was also observed. This resulted in a decrease in the time spent by animals in the open arm by 78 and 44 %, respectively, as well as an increased time spent in the closed arm by 67 and 27 %, respectively, compared with the background values. However, it is worth noting that these differences had no statistical significance. The presence of anxiety in animals can be determined by a significant increase in the number of grooming behaviors in the EMSP group. At the same time, an increase in the time spent on the central platform was also noted in the EMSP group, which corresponds to the data obtained in the study by T. A. Voronina [19]. When comparing the data in the experimental groups with the data in the control group, it can be noted that the introduction of EMSP and EMGPS contributed to an increase in the time spent in the open arm. The paper of N. V. Avdeeva also revealed an increase in the time spent by animals in the open arm against the background of the introduction of EMGPS [20].

In the control group, the OFT showed a decrease in exploratory activity. The number of sectors explored and peeks into burrows were significantly lower than baseline values. An increase in motor activity was also observed, with significant differences in movement and

Table 4. Effects of prolonged intermittent hypoxia on laboratory animal behavior in the EPM Test

Group	Control		EMSP		EMHPS	
	Baseline	Final	Baseline	Final	Baseline	Final
Time spent on open arms (s)	25,0 ± 23,4	9,0 ± 11,6	91,5 ± 78,1	20,2 ± 18,3	28,0 ± 32,9	18,5 ± 19,4
Time spent on closed arms (s)	139,5 ± 33,3	163,8 ± 24,8	83,8 ± 72,2	140,2 ± 27,9	129,5 ± 31,7	165,2 ± 26,3
Time spent on central platform (s)	20,5 ± 12,1	12,2 ± 14,1	9,7 ± 9,5	22,7 ± 13,5	26,7 ± 9,0	1,8 ± 3,3[B]
Latency for first open arm entry (s)	88,3 ± 79,8	103,3 ± 89,8	20,0 ± 31,1	81,7 ± 83,1	59,5 ± 70,3	94,0 ± 116,0
Number of open arm entries (arb. units)	2,2 ± 1,8	1,0 ± 1,3	2,0 ± 1,5	1,7 ± 1,9	2,7 ± 2,6	1,5 ± 1,6
Number of closed arm entries (arb. units)	4,8 ± 2,9	3,2 ± 2,7	3,7 ± 3,9	4,5 ± 3,6	5,2 ± 1,6	1,8 ± 1,7[B]
Head dips from closed arms (arb. units)	8,3 ± 1,5	4,8 ± 3,3[B]	3,7 ± 3,0	4,7 ± 3,5	7,2 ± 3,2	4,0 ± 2,2
Head dips from open arms (arb. units)	9,2 ± 5,9	3,0 ± 3,6	10,8 ± 5,2	2,8 ± 1,9[B]	10,8 ± 6,1	2,5 ± 3,3
Grooming (arb. units)	0,8 ± 1,2	2,5 ± 1,1[B]	0,8 ± 0,8	2,3 ± 0,8[B]	0,8 ± 0,8	1,7 ± 1,0
Rearing with wall support (arb. units)	8,8 ± 5,5	5,0 ± 4,7	7,8 ± 7,1	7,2 ± 3,9	8,8 ± 5,2	4,3 ± 2,7
Fecal boli count (arb. units)	0,3 ± 0,5	0,8 ± 1,2	1,3 ± 1,2	0,3 ± 0,5	0	1,8 ± 1,7[B]

Note. B – $p \leq 0,05$, Student's t-test (Baseline vs. Final).

rest parameters compared to baseline values. Additionally, grooming behavior increased by 113 %, compared to baseline data, indicating anxiety under pathological conditions (Table 5).

In the EMSP group, the number of sectors explored was also significantly reduced compared to baseline values. The number of peeks into burrows did not show a significant difference compared to baseline values, indicating a less pronounced reduction in exploratory activity compared to the control group. The introduction of EMSP increased animal mobility, as reflected in significant differences in speed, movement, and rest parameters from baseline values.

The EMGPS compound did not show significant differences but exhibited a tendency toward reduced exploratory activity, with a 20 % decrease in sectors explored (compared to 26 % in EMSP and 38 % in the control group) and a 43 % reduction in burrow peeks (compared to 15 % in EMSP and 71 % in the control group) compared to baseline values. A trend toward increased motor activity was observed, with movement percentage increased by 24 % and rest decreased by 23 %, though these changes were not statistically significant.

The data obtained in the OFT correlate with the previously described anxiolytic effect of EMHPS in the paper of T. A. Voronina [12]. In particular, both studied compounds did not have a sedative effect and did not reduce research activity in comparison with the control group.

Table 5. The effect of prolonged intermittent hypoxia on laboratory animals' behavior in the OFT

Group	Control		EMSP		EMGPS	
	Baseline	Final	Baseline	Final	Baseline	Final
Crossed sectors (u.a.)	190,0 ± 57,8	185,3 ± 96,1	198,5 ± 45,3	187,0 ± 56,7	218,7 ± 70,8	195,5 ± 36,2
Explored sectors (u.a.)	28,5 ± 4,4	17,8 ± 6,9[B]	29,8 ± 2,9	22,2 ± 4,9[B]	27,5 ± 7,6	22,2 ± 7,2
Rearing without support (u.a.)	1,2 ± 2,9	2,5 ± 4,2	1,2 ± 1,8	1,3 ± 1,2	0	2,0 ± 2,5
Rearing with support (u.a.)	6,7 ± 7,1	8,3 ± 7,6	11,3 ± 3,9	11,2 ± 6,0	8,7 ± 6,8	9,8 ± 6,9
Holeboard head-dips (u.a.)	7,8 ± 4,4	2,3 ± 1,2[B]	6,8 ± 3,5	5,8 ± 3,4	7,0 ± 3,2	4,0 ± 1,8
Grooming (u.a.)	1,5 ± 0,8	3,2 ± 1,7	1,5 ± 0,8	1,8 ± 0,8	1,2 ± 0,9	1,8 ± 1,2
Distance traveled (m)	12,8 ± 6,2	15,9 ± 7,6	15,2 ± 4,1	19,8 ± 3,9	16,8 ± 8,9	20,9 ± 4,9
Speed (m/s)	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,03	0,2 ± 0,03	0,2 ± 0,02[B]	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,01
Movement (%)	33,8 ± 8,6	62,1 ± 16,5[B]	41,5 ± 8,9	53,4 ± 9,1[B]	41,7 ± 13,4	52,0 ± 12,9
Rest (%)	64,2 ± 8,4	35,5 ± 16,6[B]	56,3 ± 8,9	44,0 ± 9,2[B]	57,7 ± 14,6	45,5 ± 13,0

Note. B – $p \leq 0.05$, difference according to Student's t-test from baseline values.

Table 6. The effect of IH on heart rate and SpO_2 in the test animals

Group	Control		EMSP		EMGPS	
	Baseline	Final	Baseline	Final	Baseline	Final
HR, bpm	511,3 ± 55,2	463,3 ± 44,6	469,3 ± 40,6	535,0 ± 70,9	495,2 ± 54,0	492,3 ± 32,8
SpO_2, %	78,1 ± 11,4	74,4 ± 7,9	78,0 ± 4,3	77,8 ± 4,4	78,2 ± 4,0	80,1 ± 3,4

Note. HR – heart rate; SpO_2 – oxygen saturation level.

As shown in Table 6, the SpO_2 levels did not differ between groups or within groups. HR also showed no differences, but a trend toward changes was observed in the control and EMSP groups. In the control group, a 10 % decrease in HR from baseline was noted. In the EMSP group, a 14 % increase in HR compared to baseline was observed, indicating a possible effect of EMSP on HR under IH conditions. The reference compound EMGPS did not affect HR.

The ability to increase HR under IH conditions is an advantage of the EMSP compound. Since hypoxic states cause oxygen deficiency in the blood, an increase in HR can contribute to more rapid oxygen delivery to organs due to increased blood flow.

No statistically significant differences were found in gene expression analysis. The gene UQCRC2, examined in the EMSP group, showed the most significant difference when compared to the control group ($p \leq 0.1$). In the EMGPS group, this value was less significant ($p \leq 0.5$).

Table 7 shows a clear expression of the UQCRC2 gene in the EMSP and EMGPS groups, with the expression being more pronounced in the EMSP group. An increase in the UQCRC2 gene expression indicates that the investigated compound influences the ubiquinol-cytochrome c-reductase complex (complex III), part of the mitochondrial respiratory chain. Furthermore, since the protein encoded by this gene is necessary for the assembly and stabilization of complex III, EMSP under pathological conditions contributes to more efficient protection and stable functioning of the mitochondrial respiratory chain. Despite the absence of significant differences, the tendency to increase the expression of the UQCRC2 gene in the EMSP and EMGPS groups corresponds to the described mechanism of the antihypoxic effect of EMGPS described by T. A. Voronina [12].

Table 7. The effect of the tested drugs on gene expression

Groups	Control	EMSP	EMGPS
Gene NDUFS1	1,3 ± 0,8	0,9 ± 0,5	0,9 ± 0,6
Gene UQCRC2	1,1 ± 0,6	2,5 ± 2,1	1,8 ± 0,9
Gene COX1	1,7 ± 2,0	1,0 ± 0,7	1,0 ± 0,8
Gene SDHA	1,2 ± 0,9	1,0 ± 0,9	0,9 ± 0,4

The selected genes are integral components of the electron transport chain in mitochondrial respiration. The SDHA gene encodes subunit A of the succinate dehydrogenase complex, expressed in most tissues, involved in metabolism, and participates in electron transfer from succinate to coenzyme Q [21]. The UQCRC2 gene encodes a protein found in mitochondria, part of the ubiquinol-cytochrome c reductase complex (also known as complex III), and essential for the assembly and stabilization of the mitochondrial respiratory chain [22]. The NDUFS1 gene encodes a protein part of complex I with NADH dehydrogenase and oxidoreductase activity, transferring electrons from NADH into the respiratory chain [23]. The COX1 gene (cyclooxygenase-1) is a key enzyme in the inflammatory pathway, converting arachidonic acid to prostanoids, which have different effects depending on the effector mechanism in each cell [24].

CONCLUSION

In the grip strength test, the reduction in this parameter in the EMSP group was much less shown compared to the EMGPS or control groups.

Plethysmography data revealed that EMSP normalized the measured parameters under hypoxia, compared to the control group, and showed higher effectiveness than the reference compound.

The EPM and OFT showed that EMSP and the reference EMGPS reduced anxiety and increased exploratory activity compared to the control group. EMSP outperformed EMGPS in some parameters.

Gene expression analysis revealed a trend towards increased stimulation of the UQCRC2 gene in the EMSP group. Expression in the EMSP group was higher than in the control and EMGPS groups.

The investigated EMSP compound showed protective properties under IH, comparable to the reference drug.

REFERENCES

1. Kim A. E., Shustov E. B., Tsygan V. N., Belykh M. A., Okovityy S. V., Selizarova N. O., Napalkova S. M., Katkova E. B., Korablev R. V. Metabolic effects of long-term exposure to wave-like oxygen fasting of moderate severity. *Russian Biomedical Research*. 2023;8(2):4–11. DOI: 10.56871/RBR.2023.46.59.001.
2. Badran M., Gozal D. Intermittent Hypoxia as a Model of Obstructive Sleep Apnea. *Sleep Medicine Clinics*. 2025;20(1):93–102. DOI: 10.1016/j.jsmc.2024.10.009.
3. Burchakov D. I., Mayorov A. Yu. Intermittent hypoxia due to sleep apnea syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2017;117(10):16–21. (In Russ.) DOI: 10.17116/jnevro201711710116-21.

4. Soukhova G. K., Nozdrachev A. D. Neonatal intermittent hypoxia and age-related changes in control of cardiovascular function. *Biological Communications*. 2008;4:132–136. (In Russ.)
5. Misnikova I. V. Sleep apnea in endocrine disorders. *Almanac of Clinical Medicine.* 2016;44(4):493–500. (In Russ.) DOI: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-493-500.
6. Gong L.-J., Wang X.-Y., Gu W.-Y., Wu X. Pinocembrin ameliorates intermittent hypoxia-induced neuroinflammation through BNIP3-dependent mitophagy in a murine model of sleep apnea. *Journal of Neuroinflammation*. 2020;17(1):337. DOI: 10.1186/s12974-020-02014-w.
7. Punina A. A., Gribova N. P. Nocturnal intermittent hypoxia role in the development of cognitive disorders in patients with chronic cerebral ischemia. *RMJ*. 2024;4:18–22. (In Russ.)
8. Lavie L. Oxidative stress in obstructive sleep apnea and intermittent hypoxia – Revisited – The bad ugly and good: implications to the heart and brain. *Sleep Medicine Reviews*. 2015;20:27–45. DOI: 10.1016/j.smrv.2014.07.003.
9. Liu X., Ma Y., Ouyang R., Zeng Z., Zhan Z., Lu H., Cui Y., Dai Z., Luo L., He C., Li H., Zong D., Chen Y. The relationship between inflammation and neurocognitive dysfunction in obstructive sleep apnea syndrome. *Journal of Neuroinflammation*. 2020;17(1):229. DOI: 10.1186/s12974-020-01905-2.
10. Uchiyama T., Ota H., Ohbayashi C., Takasawa S. Effects of Intermittent Hypoxia on Cytokine Expression Involved in Insulin Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(23):12898. DOI: 10.3390/ijms222312898.
11. Jędrejko K., Catlin O., Stewart T., Muszyńska B. Mexidol, Cytoflavin, and succinic acid derivatives as antihypoxic, anti-ischemic metabolic modulators, and ergogenic aids in athletes and consideration of their potential as performance enhancing drugs. *Drug Testing and Analysis*. 2024;16(12):1436–1467. DOI: 10.1002/dta.3655.
12. Voronina T. A., Litvinova S. A., Gladysheva N. A., Shulyndin A. V. The known and new ideas about the mechanism of action and the spectrum of effects of Mexidol. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatr.* 2025;125(5):22–30. DOI: 10.17116/jnevro202512505122.
13. Voznyuk I. A., Kolomentsev S. V., Morozova E. M. The impact of therapy with Mexidol on neurological deficit and functional outcome in patients with ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2023;123(12 vyp. 2):49–60. DOI: 10.17116/jnevro202312312249.
14. Smirnova K. V., Gildikov D. I. Comparative efficacy of antioxidant drugs in an in vitro experiment. *Russian Veterinary Journal*. 2021;2:37–40.
15. Ivkin D. Yu., Sukhanov D. S., Plisko G. A., Ivkina A. S., Krasnova M. V., Titovich I. A., Semivelichenko E. D., Stepanova I. L., Il'nickij V. P., Karpov A. A., Okovityi S. V., Karshin A. V. Antihypoxic activity of various ethylmethylhydroxypyridine salts. *Molecular medicine*. 2020;18(4):36–41. (In Russ.) DOI: 10.29296/24999490-2020-04-05.
16. Plisko G. A. Nogaeva U. V., Semivelichenko E. D., Ivkin D. Yu., Titovich I. A., Flisyuk E. V., Demakova N. V., Ivkina A. S. Comparative efficacy of ethylmethylhydroxypyridine succinate derivatives in acute CCl_4 intoxication. *Laboratory Animals for Science*. 2021;2:3–9. (In Russ.) DOI: 10.29296/2618723X-2021-02-01.
17. Bannow L. I., Bonaterra G. A., Bertoune M., Maus S., Schulz R., Weissmann N., Kraut S., Kinscherf R., Hildebrandt W. Effect of chronic intermittent hypoxia (CIH) on neuromuscular junctions and mitochondria in slow- and fast-twitch skeletal muscles of mice—the role of iNOS. *Skeletal Muscle*. 2022;12:6. DOI: 10.1186/s13395-022-00288-7.
18. Andreeva N. N. Experimental and clinical aspects of the use of mexidol in hypoxia. *Medical almanac*. 2009;4:193–197. (In Russ.)
19. Ivanova E. A., Vasilchuk A. G., Matyushkin A. I., Voronina T. A. Effect of multiple-dose regimens of cyclooxygenase inhibitors and their combinations with mexidol on behavior in mature rats. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2023;(1):33–40. (In Russ.) DOI: 10.37489/2587-7836-2023-1-33-40.
20. Avdeeva N. V. A study of neuroprotective properties of the MGLUR4 receptor agonist – ZC64-0001 in comparison with Mexidol. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(2):219–226. (In Russ.) DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-2-0-6.
21. Bezawork-Geleta A., Rohlena J., Dong L., Pacak K., Neuzil J. Mitochondrial complex II: at the crossroads. *Trends in Biochemical Sciences*. 2017;42(4):312–325. DOI: 10.1016/j.tibs.2017.01.003.
22. Wang D.-W., Su F., Zhang T., Yang T.-C., Wang H.-Q., Yang L.-J., Zhou F.-F., Feng M.-H. The *miR-370*/UQCRC2 axis facilitates tumorigenesis by regulating epithelial-mesenchymal transition in Gastric Cancer. *Journal of Cancer*. 2020;11(17):5042–5055. DOI: 10.7150/jca.45553.
23. Bu L., Zhang L., Wang X., Du G., Wu R., Liu W. Association between NDUFS1 from urinary extracellular vesicles and decreased differential renal function in children with ureteropelvic junction obstruction. *BMC Nephrology*. 2024;25(1):158. DOI: 10.1186/s12882-024-03592-0.
24. Weidner L. D., Kannan P., Mitsios N., Kang S. J., Hall M. D., Theodore W. H., Innis R. B., Mulder J. The expression of inflammatory markers and their potential influence on efflux transporters in drug-resistant mesial temporal lobe epilepsy tissue. *Epilepsia*. 2018;59(8):1507–1517. DOI: 10.1111/epi.14505.

Оригинальная статья / Research article

УДК 612.461.2; 612.463.1

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2227

Check for updates

CC BY 4.0

Роль производных малоновой кислоты в модуляции метаболических путей в почках при хронической сердечной недостаточности

А. Ю. Гришина[1]✉, Д. Ю. Ивкин[1], А. А. Карпов[1, 2], А. И. Большухина[1], А. Р. Муслимов[1], А. С. Иванов[1], О. В. Буюклинская[1]

[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 учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России). 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

✉ **Контактное лицо:** Гришина Анна Юрьевна. **E-mail:** grishina.anna@pharminnotech.com

ORCID: А. Ю. Гришина – https://orcid.org/0000-0003-2448-513X;
Д. Ю. Ивкин – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864;
А. А. Карпов – https://orcid.org/0000-0003-0114-5896;
А. И. Большухина – https://orcid.org/0009-0008-1150-3590;
А. Р. Муслимов – https://orcid.org/0000-0001-5736-2764;
А. С. Иванов – https://orcid.org/0009-0008-7766-9286;
О. В. Буюклинская – https://orcid.org/0000-0002-4453-1079.

Статья поступила: 10.11.2025 **Статья принята в печать:** 21.11.2025 **Статья опубликована:** 21.11.2025

Резюме

Введение. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) часто приводит к прогрессирующей дисфункции почек, однако стратегии фармакологической защиты, направленные на коррекцию метаболических и окислительных нарушений в почечной ткани, остаются недостаточно разработанными. В связи с этим представляется актуальным изучение влияния новых соединений, таких как производные малоновой кислоты, в том числе 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино]бензойная кислота (этмабен), на экспрессию генов, кодирующих ключевые ферменты метаболических и антиоксидантных путей в почках при ХСН. Ранее для этмабена было выявлено более выраженное нефропротективное действие, нежели для другого малоната – малобена.

Цель. Оценить влияние 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино]бензойной кислоты на экспрессию генов, регулирующих ферментативные пути в почках крыс с экспериментальной ХСН.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 аутбредных белых самцах крыс (300–350 г), содержавшихся в стандартных условиях (12-часовой световой режим, температура 22 ± 2 °C, влажность 50–60 %, доступ к корму и воде *ad libitum*). Животные были разделены на три группы. Группа 1 (Контроль–) состояла из здоровых животных ($n = 10$), которые получали очищенную воду (1 мл/кг/сутки, внутрижелудочно). Группа 2 (ХСН–) включала животных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН, $n = 10$), получавших с 30-го дня после операции очищенную воду (1 мл/кг/сутки, внутрижелудочно). Группа 3 (ХСН+) состояла из животных с ХСН ($n = 10$), которым с 30-го дня после операции внутрижелудочно вводили этмабен в дозе 60 мг/кг/сутки. Модель ХСН воспроизводили лигированием левой коронарной артерии. Успешность модели подтверждали эхокардиографически (фракция выброса <40 %) на 30-й день после моделирования. Прооперированных животных рандомизировали методом случайного выбора. Этмабен или воду вводили ежедневно в течение 30 дней, начиная с 30-го дня после операции. На 61-й день животных эвтаназировали, ткани почек гомогенизировали в реактиве «Лира» (ООО «Биолабмикс», Россия). РНК экстрагировали с использованием хлороформа, изопропанола и NaOAc, очищали с помощью LiCl. Концентрацию РНК определяли на Nanophotometer N60, качество – гель-электрофорезом. Обратную транскрипцию проводили из 1 мкг РНК (MMLV-RT-Kit, Eurogen). ПЦР в реальном времени выполняли на QuantStudio 5 с SYBR Green (Eurogen), анализируя гены Gpx1, Nrf2, Nox1, Glud1, Hes1, mTOR, Txrnd1, HIF1a, Cpt1b, B2M (референс). Статистическую обработку проводили в R-Studio (версия 4.3.3) с использованием пакета RQdeltaCT. Применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA,

© Гришина А. Ю., Ивкин Д. Ю., Карпов А. А., Большухина А. И., Муслимов А. Р., Иванов А. С., Буюклинская О. В., 2025
© Grishina A. Yu., Ivkin D. Yu., Karpov A. A., Bolshukhina A. I., Muslimov A. R., Ivanov A. S., Buyuklinskaya O. V., 2025

тест Краскера – Уоллиса, апостериорные тесты Тьюки и Данна, а также анализ отношения шансов и логистическую регрессию. Для анализа экспрессии генов использовали метод 2^{-ddCt} с нормализацией относительно референсного гена B2M.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что ХСН приводит к значительной активации транскрипционного фактора Nrf2, однако уровень экспрессии его целевого гена GPx1 оставался неизменным как при ХСН, так и при лечении этмабеном, что указывает на нарушение функционирования данного сигнального пути. Применение 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил) амино]бензойной кислоты вызывало статистически значимое увеличение экспрессии гена Cpt1b ($p < 0,05$), что свидетельствует о смещении клеточного метаболизма в сторону β-окисления жирных кислот. Кроме того, зафиксированы достоверное подавление экспрессии прооксидантного фермента Nox1 и активация гена тиоредоксинредуктазы-1 (Txnrd1) ($p < 0,05$) в группах, получавших терапию. Сигнальный путь Notch активировался под воздействием этмабена, что проявлялось в повышении экспрессии гена Hes1 ($p < 0,05$), тогда как значимого влияния на экспрессию гена mTOR обнаружено не было.

Заключение. Этмабен функционирует как метаболический модулятор и редокс-регулятор. Его действие не связано с прямой антиоксидантной активностью, а обусловлено активацией адаптивных механизмов: уменьшением потребности в антиоксидантной защите за счет подавления источников реактивных кислородных форм (Nox1), активацией ключевого регулятора антиоксидантного ответа (Nrf2), а также изменением энергетического метаболизма через индукцию Cpt1b и Glud1.

Ключевые слова: экспрессия генов, кардиоренальный синдром, Nrf2, Glud1, Gpx, сукцинатдегидрогеназа, HIF1α

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

Вклад авторов. А. Ю. Гришина – проведение эксперимента, визуализация данных, подготовка рукописи. Д. Ю. Ивкин – концептуализация исследования, проведение эксперимента, моделирование ХСН, редактирование и доработка рукописи. А. А. Карпов – проведение эксперимента, моделирование ХСН. А. Р. Муслимов – концептуализация исследования (идея эксперимента), интерпретация данных. А. С. Иванов – проведение ПЦР-анализа, подбор праймеров, анализ и статистическая обработка данных. О. В. Буюклинская – редактирование рукописи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием ресурсов ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Гришина А. Ю., Ивкин Д. Ю., Карпов А. А., Большухина А. И., Муслимов А. Р., Иванов А. С., Буюклинская О. В. Роль производных малоновой кислоты в модуляции метаболических путей в почках при хронической сердечной недостаточности. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):270–279. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2227

The role of malonic acid derivate in the modulation of metabolic pathways in the kidneys during chronic heart failure

Anna Yu. Grishina[1]✉, Dmitry Yu. Ivkin[1], Andrey A. Karpov[1, 2], Arina I. Bolshukhina[1], Albert R. Muslimov[1], Artem S. Ivanov[1], Olga V. Buyuklinskaya[1]

[1] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia
[2] Almazov National Medical Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Akkuratova str., Saint-Petersburg, 197341, Russia

✉ **Corresponding author:** Anna Yu. Grishina. **E-mail:** grishina.anna@pharminnotech.com

ORCID: Anna Yu. Grishina – https://orcid.org/0000-0003-2448-513X;
Dmitry Yu. Ivkin – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864;
Andrey A. Karpov – https://orcid.org/0000-0003-0114-5896;
Arina I. Bolshukhina – https://orcid.org/0009-0008-1150-3590;
Albert R. Muslimov – https://orcid.org/0000-0001-5736-2764;
Artem S. Ivanov – https://orcid.org/0009-0008-7766-9286;
Olga V. Buyuklinskaya – https://orcid.org/0000-0002-4453-1079.

Received: 10.11.2025 **Accepted:** 21.11.2025 **Published:** 21.11.2025

Abstract

Introduction. Chronic heart failure (CHF) often leads to progressive renal dysfunction; however, pharmacological protection strategies aimed at correcting metabolic and oxidative disturbances in renal tissue remain underdeveloped. In this regard, it seems relevant to study the effect of new compounds, such as malonic acid derivatives, including 4-[(3-ethoxy-3-oxopropanoyl) amino]benzoic acid (etmaben), on the expression of genes encoding key enzymes of metabolic and antioxidant pathways in the kidneys in CHF. Previously, a more pronounced nephroprotective effect was detected for etmaben than for another malonate, maloben.

Aim. To evaluate the effect of 4-[(3-ethoxy-3-oxopropanoyl)amino]benzoic acid on the expression of genes regulating enzymatic pathways in the kidneys of rats with experimental CHF.
Материалы и методы. The study was conducted on 30 outbred white male rats (300–350 g) housed under standard conditions (12-hour light/dark cycle, temperature 22 ± 2 °C, humidity 50–60 %, with ad libitum access to food and water). The animals were divided into three groups. Group 1 (Control–) consisted of healthy animals ($n = 10$) that received purified water (1 mL/kg/day, intragastrically). Group 2 (CHF–) included animals with chronic heart failure (CHF, $n = 10$) that were administered purified water (1 mL/kg/day, intragastrically) starting from day 30 after the surgery. Group 3 (CHF+) was composed of animals with CHF ($n = 10$) that received etmaben (60 mg/kg/day, intragastrically) starting from day 30 after the surgery. CHF was modeled by ligation of the left coronary artery. Successful model induction was confirmed echocardiographically (ejection fraction <40 %). Operated animals were randomized using a random selection method. Etmaben or water was administered daily for 30 days, starting from day 30 after surgery. On day 61, the animals were euthanized, and kidney tissues were homogenized in Lira reagent (LLC "Biolabmix", Russia). RNA was extracted using chloroform, isopropanol, and NaOAc, and purified with LiCl. RNA concentration was measured on a Nanophotometer N60, and quality was assessed by gel electrophoresis. Reverse transcription was performed from 1 μg of RNA (MMLV-RT-Kit, Eurogen). Real-time PCR was run on a QuantStudio 5 with SYBR Green (Eurogen), analyzing the genes Gpx1, Nrf2, Nox1, Glud1, Hes1, mTOR, Txnrd1, Hif1a, Cpt1b, and B2M (reference). Statistical analysis was performed in R-Studio (version 4.3.3) using the RQdeltaCT package. One-way ANOVA, the Kruskal – Wallis test, post-hoc Tukey and Dunn tests, as well as odds ratio analysis and logistic regression were applied. Gene expression analysis was performed using the 2^{-ddCt} method with normalization to the reference gene B2M.
Results and discussion. It was found that CHF led to significant activation of the transcription factor Nrf2; however, the expression level of its target gene, GPx1, remained unchanged both in CHF and after etmaben treatment, indicating impaired functioning of this signaling pathway. Administration of 4-[(3-ethoxy-3-oxopropanoyl)amino]benzoic acid caused a statistically significant increase in the expression of the Cpt1b gene ($p < 0.05$), suggesting a shift in cellular metabolism towards fatty acid β-oxidation. Furthermore, significant suppression of the pro-oxidant enzyme Nox1 and activation of the thioredoxin reductase 1 (Txnrd1) gene ($p < 0.05$) were recorded in the treatment groups. The Notch signaling pathway was activated by etmaben, as evidenced by increased expression of the Hes1 gene ($p < 0.05$), while no significant effect on the expression of the mTOR gene was detected.
Conclusion. Etmaben functions as a metabolic modulator and redox regulator. Its action is not associated with direct antioxidant activity but is due to the activation of adaptive mechanisms: reducing the demand for antioxidant defense by suppressing sources of reactive oxygen species (Nox1), activating a key regulator of the antioxidant response (Nrf2), and altering energy metabolism through the induction of Cpt1b and Glud1.

Keywords: gene expression, cardiorenal syndrome, Nrf2, Glud1, Gpx, succinate dehydrogenase, HIF1α

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

Contribution of the authors. Anna Yu. Grishina – conducting the experiment, data visualization, manuscript preparation. Dmitry Yu. Ivkin – conceptualization, conducting the experiment, CHF modeling, manuscript editing and revision. Andrey A. Karpov –conducting the experiment, CHF modeling. Albert R. Muslimov – conceptualization (id ea of the experiment), data interpretation. Arina I. Bolshukhina, Artem S. Ivanov – performing PCR analysis, primer selection, data analysis and statistical processing. Olga V. Buyuklinskaya – manuscript editing.

Funding. The results of the work were obtained using the resources of the Analytical Center of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education St. Petersburg Chemical Federal University of the Ministry of Health of the Russian Federation under Agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021, with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation.

For citation: Grishina A. Yu., Ivkin D. Yu., Karpov A. A., Bolshukhina A. I., Muslimov A. R., Ivanov A. S., Buyuklinskaya O. V. The role of malonic acid derivate in the modulation of metabolic pathways in the kidneys during chronic heart failure. *Drug development & registration*. 2025;14(4):270–279. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2227

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является системным патологическим состоянием, часто осложняющимся развитием почечной дисфункции в рамках кардиоренального синдрома. В основе этого осложнения лежат комплексные нарушения гемодинамики, нейрогормональной регуляции и метаболизма почечной ткани [1].

На ранних стадиях ХСН имеет место увеличение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) за счет компенсаторных механизмов организма, направленных на поддержание объема циркулирующей крови (ОЦК) и артериального давления в условиях снижен-

ного сердечного выброса. В частности, активируются ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС) и симпатическая нервная система (СНС), способствующие вазоконстрикции, задержке натрия и воды, а также увеличению ОЦК. Однако по мере прогрессирования сердечной недостаточности данные механизмы теряют эффективность, что ведет к снижению СКФ [2].

Расстройства гемодинамики являются ключевыми в патогенезе развития почечной дисфункции при ХСН. Наблюдается уменьшение сердечного выброса, приводящее к снижению почечного перфузионного давления и СКФ, в то время как повышение венозного давления способствует развитию почечного застоя и гиперемии сосудистого русла [3].

Гиперактивация РААС и СНС вызывает вазоконстрикцию афферентных и эфферентных артериол почечных клубочков, что усугубляет гипоперфузию паренхимы и способствует задержке натрия и воды в организме. Эти механизмы создают патологический цикл, усиливающий как прогрессирование сердечной недостаточности, так и развитие почечной дисфункции [2]. Важную роль в этом процессе играет метаболический стресс, связанный с нарушением энергетического баланса в клетках почек, которые обладают высоким уровнем метаболизма и зависимы от аэробного производства АТФ [4]. Нарушение доставки кислорода и субстратов приводит к митохондриальной дисфункции, оксидативному стрессу и метаболическому ремоделированию, что в конечном итоге способствует прогрессированию болезни [5, 6].

Перспективным направлением фармакотерапии является поиск соединений, способных модулировать метаболические пути и снижать оксидативный стресс в почечной ткани. 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино]бензойная кислота (этмабен), производное малоновой кислоты, является ингибитором сукцинатдегидрогеназы (СДГ) – ключевого фермента II комплекса дыхательной цепи митохондрий и цикла Кребса [7]. Известно, что производные малоновой кислоты обладают широким спектром биологической активности, включающим кардиопротективный эффект [8, 9].

В связи с этим возникает вопрос о возможности экстраполяции полученных результатов на другие производные малоновой кислоты, имеющие схожую химическую структуру и потенциально аналогичные механизмы действия. Одним из таких соединений является малобен, также производное малоновой кислоты, обладающее высокой растворимостью в воде, что, возможно, может обеспечить улучшенные фармакокинетические характеристики. Исходя из этого, можно предположить, что общая химическая структура консервативна и определяет типовые молекулярные мишени, включая СДГ, что ведет к схожей модификации экспрессии генов, участвующих в метаболическом перепрограммировании и антиоксидантной защите.

Целью настоящего исследования стала оценка влияния этмабена на экспрессию генов, кодирующих ферменты, связанные с метаболическими и антиоксидантными процессами в почках крыс с моделью ХСН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 30 крысах самцах (300–350 г). Животные содержались в стандартных условиях (12-часовой световой режим, температура 22 ± 2 °C, влажность 50–60 %, доступ к корму и воде *ad libitum*). Исследования были проведены в соответствии с принципами гуманного обращения с лабораторными животными и одобрены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (протокол заседания № Rat-03 от 10.10.2024).

ХСН моделировали путем торакотомии и лигирования левой коронарной артерии под ингаляционным изофлурановым наркозом [1]. Через 30 дней после операции для верификации ХСН проводили эхокардиографическое исследование (MyLabTouchSL 3116, Essaot; Италия) для верификации систолической дисфункции левого желудочка (ЛЖ). В качестве ключевого параметра оценки использовали фракцию выброса ЛЖ, рассчитанную по методу Teicholz. В последующий анализ включали животных со снижением фракции выброса ЛЖ до значений менее 40 %. Успешно прооперированные животные были рандомизированы на 2 группы по 10 животных (группы 2 и 3 соответственно).

Дизайн экспериментальных групп

Животные были рандомизированы на 3 группы.

1. Группа 1 (здоровые + вода, $n = 10$): животные, получавшие очищенную воду внутрижелудочно в объеме 1 мл/кг/сутки.
2. Группа 2 (ХСН + вода, $n = 10$): животные с ХСН, получавшие очищенную воду внутрижелудочно в объеме 1 мл/кг/сутки.
3. Группа 3 (ХСН + этмабен, $n = 10$): животные с ХСН, получавшие этмабен в дозе 60 мг/кг/сутки.

Выбор доз обоснован ранее проведенными исследованиями, продемонстрировавшими эффективность данной дозы при ХСН [10]. Препарат или вода вводились ежедневно в течение 30 дней, начиная с 30-го дня после операции. На 61-й день животных выводили из эксперимента. Почки извлекали, фрагменты коркового вещества немедленно замораживали и хранили при –80 °C для последующего молекулярно-биологического анализа.

Молекулярно-биологический анализ

Тотальную РНК выделяли из гомогенизированной почечной ткани с использованием реактива «Лира» («Биолабмикс», Россия). Для экстракции РНК гомогенизаты были смешаны с хлороформом в соотношении 1:5, после чего проводилось центрифугирование при 10 000 RCF при температуре 4 °C в течение

10 мин. Полученный водный супернатант был отобран и смешан с изопропанолом в соотношении 1:1, а также с ацетатом натрия до достижения конечной концентрации соли 0,3 М. Полученная смесь вновь центрифугировалась при 10 000 RCF при комнатной температуре в течение 10 мин. После центрифугирования супернатант удаляли, а осадок промывали 80%-м раствором этанола. Затем осадок снова центрифугировали 10 мин, супернатант удаляли, а осадок РНК растворяли в 50 мкл стерильной дистиллированной воды.

Для удаления возможных примесей геномной ДНК из каждого образца была выполнена обработка аликвоты раствора РНК инкубацией с термолабильной ДНКазой (ООО «Биолабмикс», Россия) при температуре 37 °С в течение 1 ч. После завершения инкубационной стадии был выполнен этап окончательной очистки РНК посредством осаждения с использованием 7,5 М раствора лития хлорида. Очищенную РНК ресуспендировали в стерильной воде до концентрации 100 нг/мкл. Концентрация нуклеиновых кислот определялась с помощью нанофотометрического анализа на приборе Implen NanoPhotometer N60. Контроль качества и целостности РНК осуществлялся методом денатурирующего гель-электрофореза в агарозе (55 В, 2 ч) с добавлением формальдегида до конечной концентрации 0,4 М.

Для проведения обратной транскрипции из каждой пробы отбирали аликвоту раствора РНК с суммарной массой 1 мкг. Обратную транскрипцию осуществляли с использованием набора MMLV-RT-Kit (Eurogen) согласно протоколу производителя. Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (qPCR) проводилась на термоциклере QuantStudio 5 (Applied Biosystems) с применением набора 5x qPCR-HS SYBR (Eurogen). Каждая исследуемая проба анализировалась в двух технических репликах.

Анализировали экспрессию следующих генов: глутатионпероксидазы-1 (Gpx1), ядерного фактора эритроида 2 – родственного фактора 2 (Nrf2), НАДФН-оксидазы-1 (Nox1), глутаматдегидрогеназы (Glud1), карнитинпальмитоилтрансферазы-1B (Cpt1b), мишени рапамицина млекопитающих (mTOR), гена-преобразователя Hes1, тиоредоксинредуктазы-1 (Txrnd1), фактора, индуцируемого гипоксией, 1-альфа (HIF1a). Предварительным референсным геном был выбран B2M (β-2-микроглобулин). Для окончательного установления референсного гена на тотальную панель генов был проведен анализ стабильности экспрессии с применением алгоритмов GeNorm и NormFinder.

Дизайн исследования приведен на рисунке 1.

Статистический анализ

Статистическую обработку проводили в среде R (v.4.3.3) с использованием пакетов rstatix, ggplot2 и RQdeltaCT. Проверку нормальности распределения осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для межгруппового сравнения использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим тестом Тьюки для параметрических данных и критерий Краскела – Уоллиса с тестом Данна для непараметрических данных. Для анализа корреляционных взаимосвязей применяли метод Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (Me [Q25; Q75]).

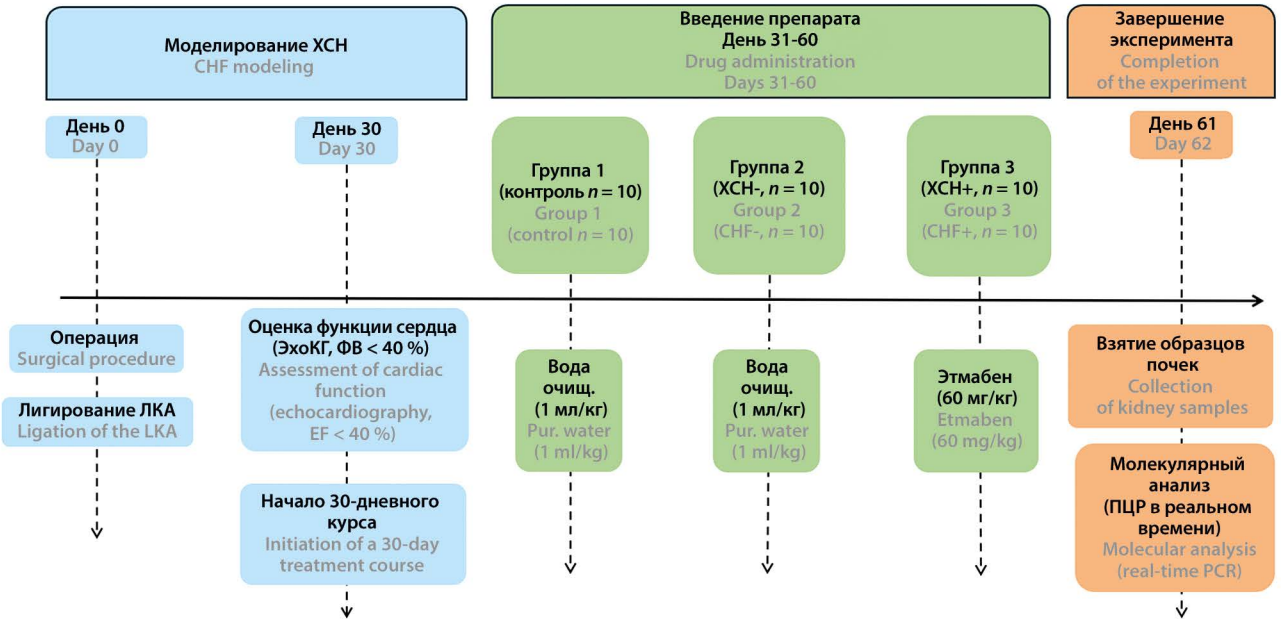


Рисунок 1. Дизайн исследования

Figure 1. Study design

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам эхокардиографического исследования фракция укорочения у животных, получавших этмабен в течение 1 месяца, значимо увеличивалась относительно группы контроля.

Перед анализом экспрессии генов-мишеней был проведен поиск референсного гена с применением алгоритмов GeNorm и NormFinder на тотальную панель генов, по результатам анализа референсным геном был выбран Nox4: B2M исключен из анализа.

Для интерпретации полученных данных и определения статистически значимых различий между группами был выполнен анализ с использованием метода 2^{-ddCt}, который включает нормализацию экспрессии исследуемого гена относительно референсного гена. В данном методе рассчитывается значение ddCt по формуле: ddCt = ΔCt (исследуемой группы) – ΔCt (контроля), где ΔCt = Ct (ген интереса) – Ct (реф).

Для удобства визуализации результатов диапазон значений, полученных при расчете ddCt, был преобразован в обратный (–ddCt) для отражения высокой и низкой экспрессии относительно вектора ординаты графика.

Курсовое введение этмабена в дозе 60 мг/кг/сутки в течение 30 дней оказало выраженное и разнонаправленное влияние на экспрессию генов в ткани почек, которое принципиально различалось между здоровыми животными и животными с моделью ХСН.

Влияние на экспрессию генов

Глутатионпероксидаза-1 (GPx1). Глутатионпероксидаза-1 (GPx1) повсеместно экспрессируется во всех тканях и обнаруживается в цитозоле и митохондриях. GPx1 является одним из многих клеточных антиоксидантных ферментов наряду с другими GPx, пероксиредоксинами и каталазами, которые восстанавливают перекись водорода. На клеточном уровне, благодаря окислению клеточного глутатиона (GSH) и восстановлению клеточной перекиси водорода, GPx1 влияет на тиоловое окислительно-восстановительное состояние и поддерживает баланс между необходимыми и вредными уровнями клеточных оксидантов [10]. Избыток GPx1 может изменять клеточную функцию, ограничивая основные уровни перекиси водорода для создания восстановительного стресса, состояния с измененным окислительно-восстановительным балансом.

В рамках проведенного исследования было установлено, что моделирование хронической сердечной недостаточности (ХСН) не вызывало статистически значимых изменений в уровне экспрессии гена Gpx1 в почечной ткани (группа 2) по сравнению с группой интактных животных. Важно отметить, что последующее введение этмабена также не оказало какого-либо модулирующего воздействия на экспрессию данного гена у крыс 3-й группы. Эти данные убедительно свидетельствуют об отсутствии влияния изучаемого соединения на данный конкретный компонент антиоксидантной системы в условиях экспериментальной патологии.

Ядерный фактор эритроида 2 – родственного фактора 2 (Nfe2l2, или Nrf2). Центральным регулятором клеточного антиоксидантного ответа выступает ядерный фактор эритроида 2 – родственного фактора 2. В условиях окислительного стресса активация Nrf2 инициирует изменение метаболизма и экспрессии генов, направленное на восстановление окислительно-восстановительного гомеостаза. Данный транскрипционный фактор координирует активацию широкого спектра генов, кодирующих белки антиоксидантной защиты, играя роль главного координатора адаптационного ответа [11]. В отличие от стабильной экспрессии Gpx1 уровень экспрессии Nrf2 продемонстрировал достоверное увеличение в группе животных с ХСН относительно контрольной группы. Ключевым результатом является отсутствие статистически значимой разницы в экспрессии Nrf2 между группами 2 и 3. Это наблюдение позволяет заключить, что применение препарата не потенцирует экспрессию данного транскрипционного фактора сверх уровня, индуцированного патологическим процессом.

Полученные результаты дают основания предполагать, что к моменту начала терапевтического вмешательства (30-е сутки после моделирования ХСН) в почечной ткани уже сформировалось нарушение сигнального пути Nrf2-GPx1. Повышение уровня Nrf2 на фоне ХСН представляет собой компенсаторную реакцию в ответ на развивающийся окислительный стресс (рисунок 2) [11]. Однако, несмотря на активацию этого главного регулятора, транскрипция его гена-мишени Gpx1 не усиливалась. Объяснением этого феномена может служить двойственное действие самого этмабена, связанное с его способностью ингибировать сукцинатдегидрогеназу (СДГ) и вызывать накопление сукцината. Важно отметить, что сукцинат способен выступать в роли конкурентного ингибитора α-кетоглутарат-зависимых диоксигеназ, что потенциально ведет к подавлению транскрипции генов-мишеней Nrf2, включая Gpx1 [12, 13]. Таким образом, этмабен, с одной стороны, создает мощный стимул для активации Nrf2 через генерацию АФК, но с другой – может опосредовать блокаду транскрипции его генов-мишеней.

Влияние на экспрессию генов метаболизма

Анализ экспрессии генов, кодирующих ключевые метаболические ферменты, выявил выраженное влияние этмабена на энергетический обмен.

Ген глутаматдегидрогеназа-1 (Glud1). При моделировании ХСН наблюдалась тенденция к повы-

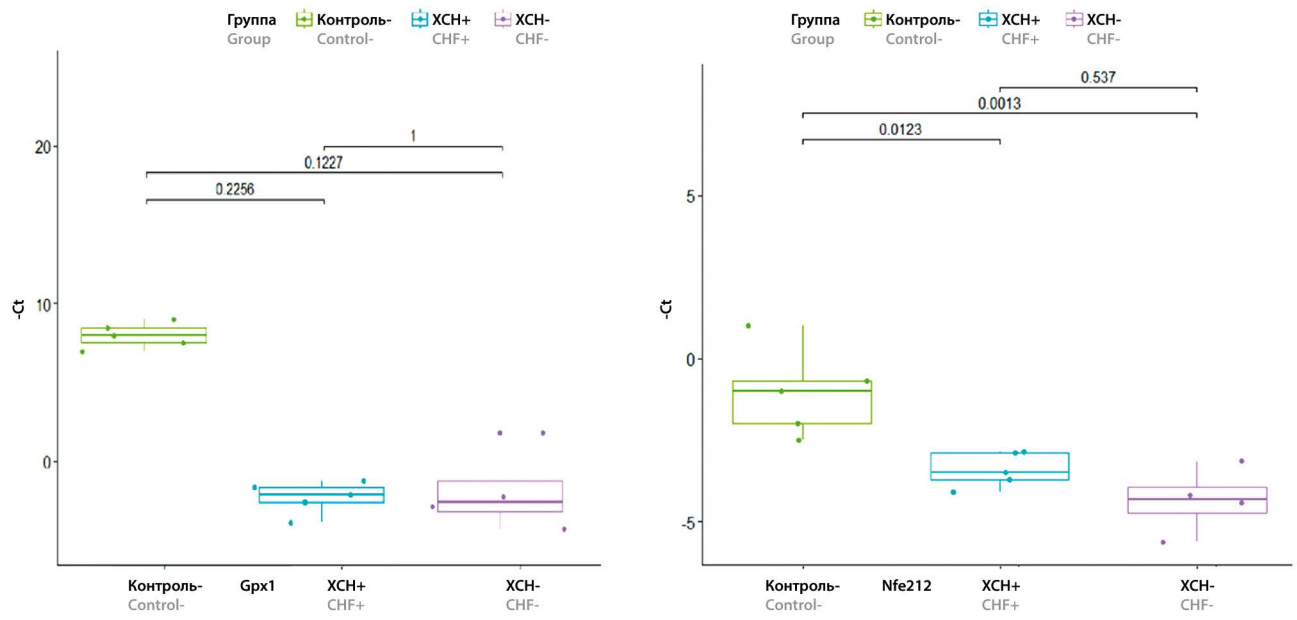


Рисунок 2. Гены, ассоциированные с окислительным стрессом (Gpx1, Nfe2l2)

Figure 2. Genes associated with oxidative stress (Gpx1, Nfe2l2)

шению экспрессии гена Glud1. Отмечено отсутствие различий между группой нелеченых животных с ХСН и группой, получавшей терапию, что свидетельствует о том, что этмабен не оказывает дополнительного воздействия на экспрессию Glud1 к уже существующей адаптации к ХСН. Повышение экспрессии Glud1 рассматривается как реакция клеточного метаболизма, направленная на пополнение пула метаболитов цикла трикарбоновых кислот (цикла Кребса), в частности α-кетоглутарата, в условиях блокады комплекса II [10].

Ген карнитинпальмитоилтрансфераза-1B (Cpt1b). Экспрессия гена Cpt1b, катализирующего начальный этап β-окисления жирных кислот, продемонстрировала значительные изменения. Введение этмабена животным с ХСН способствовало статистически значимому ($p < 0,01$) повышению экспрессии Cpt1b по сравнению с контрольной группой (группа 1). При этом разница между здоровыми и больными животными отсутствовала.

Блокада цикла Кребса создает энергетический кризис, на который клетка отвечает переключением на более эффективный путь получения АТФ – β-окисление жирных кислот (рисунок 3). Это переключение является компенсаторным механизмом при митохондриальной дисфункции [14] и свидетельствует о том, что этмабен приводит к перестройке метаболизма клетки в условиях метаболического стресса.

Применение этмабена привело к дальнейшему метаболическому репрограммированию, которое, однако, не смогло превысить уже существующий уровень адаптации.

Влияние на экспрессию генов регуляции клеточных процессов

Терапия этмабеном оказала избирательное влияние на сигнальные пути, регулирующие клеточный гомеостаз.

Ген Hairy and Enhancer of Split 1 (Hes1). Один из главных эффекторных генов сигнального пути Notch. Данный путь играет большую роль в поддержании клеток-предшественников и подавлении их дифференцировки, регуляции процессов пролиферации, апоптоза и регенерации в ответ на повреждение. ХСН как хронический стрессовый фактор может умеренно активировать сигнальные пути выживания и репарации, к которым относится и Notch [15]. Самый низкий уровень экспрессии наблюдался в группе контроля (группа 1). Достоверное повышение экспрессии Hes1 было зафиксировано в группе животных с ХСН, получавших терапию (группа 3; $p = 0,03$ по сравнению с группой 1).

Мишень рапамицина млекопитающих (ген mTOR). Ген mTOR является центральным регулятором клеточного роста, синтеза белка, аутофагии и метаболизма. Анализ экспрессии гена mTOR не выявил статистически значимых изменений ни в одной из экспериментальных групп. Отмечена тенденция к активации mTOR на фоне применения этмабена при ХСН, однако для подтверждения этого эффекта требуются дальнейшие исследования на большей выборке. Можно предположить, что этмабен запускает метаболическое ремоделирование (активация Cpt1b, Glud1) и меняет профиль пролиферации (активация Hes1) в обход канонического mTOR-сигнального пути (рисунок 4) [16].

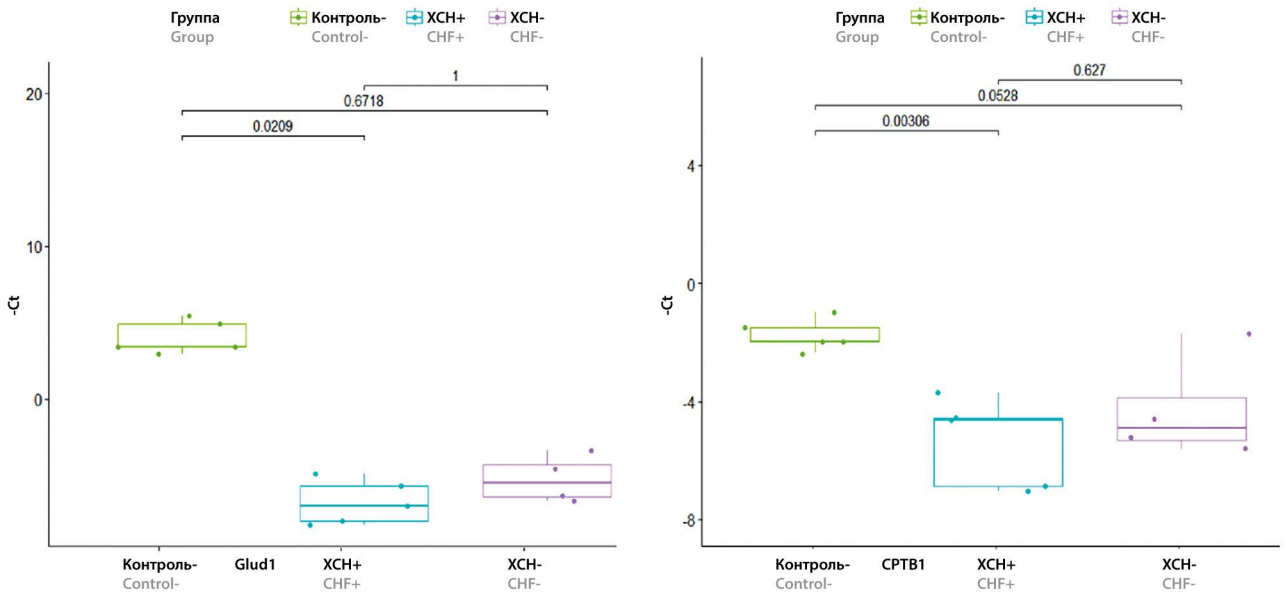


Рисунок 3. **Гены, ассоциированные с энергетическими процессами (Glud1, CPTB1)**

Figure 3. **Genes associated with energy processes (Glud1, CPTB1)**

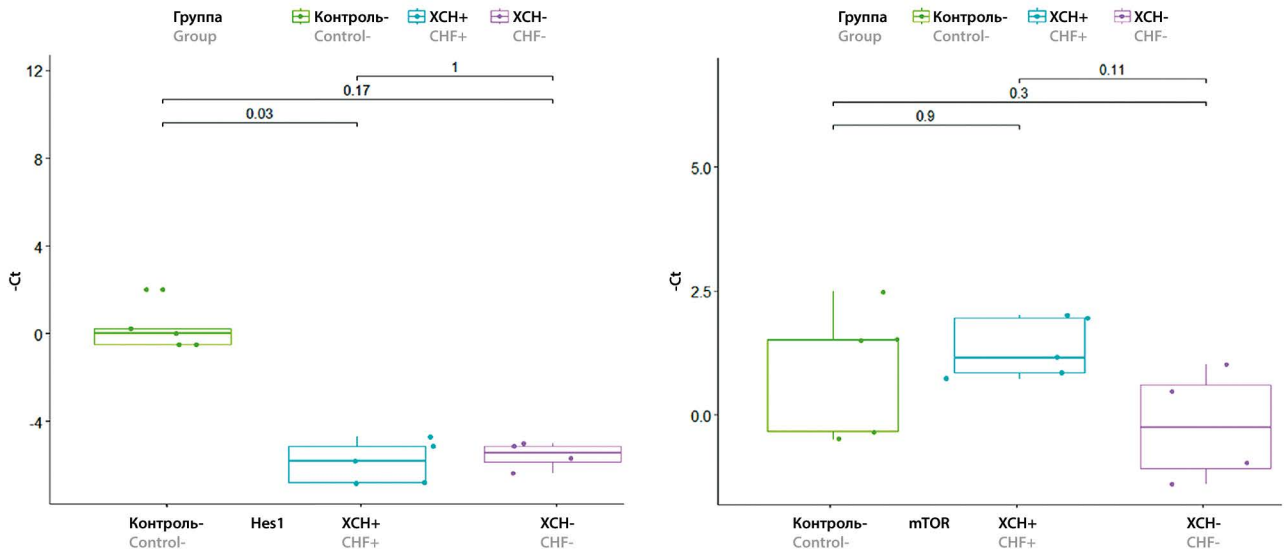


Рисунок 4. **Гены, ассоциированные с метаболизмом и пролиферацией (Hes1, mTOR)**

Figure 4. **Genes associated with metabolism and proliferation (Hes1, mTOR)**

Влияние на другие гены

Фактор, индуцируемый гипоксией, 1-альфа (ген HIF1a). HIF1a активирует гены, связанные с ангиогенезом, гликолизом и выживанием в условиях гипоксии. Анализ экспрессии гена HIF1a не выявил статистически значимых изменений ни в одной из экспериментальных групп. Не было достигнуто статистической значимости при сравнении группы контроля (1) и группы животных с ХСН без лечения (2), что указывает на отсутствие достоверного влияния самого заболевания на экспрессию данного гена.

К 60-му дню модель ХСН, по-видимому, не сопровождается выраженной тканевой гипоксией в почках, достаточной для активации HIF1a. Альтернативным объяснением может служить полная адаптация организма к хронической гипоксии с формированием нового устойчивого гомеостатического состояния [17]. Совокупность результатов (активация Nrf2 при стабильном HIF1a) позволяет утверждать, что

при ХСН в почках развивается состояние, при котором нарушена утилизация кислорода и энергетических субстратов на фоне его адекватного поступления. Полученные данные позволяют предположить, что фармакологическое действие этмабена может быть направлено именно на коррекцию указанного метаболического дефекта, а не на улучшение оксигенации тканей.

Ген НАДФН-оксидаза-1 (Nox1). NADPH-оксидаза-1, являющаяся одним из ключевых ферментов, генерирующих АФК в качестве сигнальных молекул, при хронической гиперэкспрессии превращается в значительный источник оксидативного стресса [18]. Проведенный анализ экспрессии гена Nox1 выявил статистически значимое снижение его уровня в группе животных с ХСН (группа 2) по сравнению с интактным контролем (группа 1; $p = 0{,}028$). Наиболее высокая экспрессия гена отмечалась в контрольной группе.

Полученные данные могут свидетельствовать о развитии компенсаторных адаптационных механизмов в условиях длительно существующей патологии. К 60-му дню эксперимента первоначальная активация NOX-системы, характерная для ранних стадий ХСН, сменилась ее супрессией, что может быть обусловлено снижением метаболической и сигнальной активности клеток в условиях хронического патологического процесса.

Ген тиоредоксинредуктаза-1 (Txnrd1). Тиоредоксинредуктаза-1 (TXNRD1) – ключевой фермент тиоредоксиновой системы, которая наряду с глутатионовой системой составляет основу клеточной антиоксидантной защиты [19]. Фермент катализирует восстановление окисленной формы тиоредоксина, который участвует в нейтрализации АФК и восстановлении окисленных белков. Проведенное исследование выявило статистически значимое повышение уровня экспрессии гена TXNRD1 в группе животных с ХСН (группа 2) по сравнению с интактным контролем (группа 1; $p = 0{,}042$). Терапия этмабеном способствовала повышению уровня экспрессии TXNRD1 по сравнению с контрольной группой. Наименьшие показатели экспрессии отмечались в контрольной группе. Полученные данные свидетельствуют о развитии компенсаторных механизмов антиоксидантной защиты в условиях хронического окислительного стресса. На фоне дисфункции глутатионовой системы (о чем свидетельствует отсутствие активации GPx1 при повышенном уровне Nrf2) происходит активация альтернативного пути детоксикации – тиоредоксиновой системы (рисунок 5) [20].

Таким образом, основной механизм действия этмабена реализуется за счет его способности ингибировать сукцинатдегидрогеназу. Однако в отличие от классических антиоксидантов этмабен реализует стратегию непрямого контроля окислительного стресса через метаболическое репрограммирование [21].

Ключевой механизм подавления АФК заключается в комбинированном воздействии на их генерацию: ингибировании митохондриального источника (через блокаду СДГ) и снижении экспрессии внемитохондриального (Nox1).

Таким образом, этмабен снижает окислительную нагрузку, не напрямую стимулируя антиоксидантную систему, а уменьшая ее функциональную необходимость. Это инициирует каскад адаптивных реакций: активацию транскрипционного фактора Nrf2/Nrf2, репрограммирование метаболических путей (индукция Cpt1b, Glud1), усиление синтеза ферментов антиоксидантной защиты (Txnrd1) и модуляцию сигнальных каскадов пролиферации (Hes1).

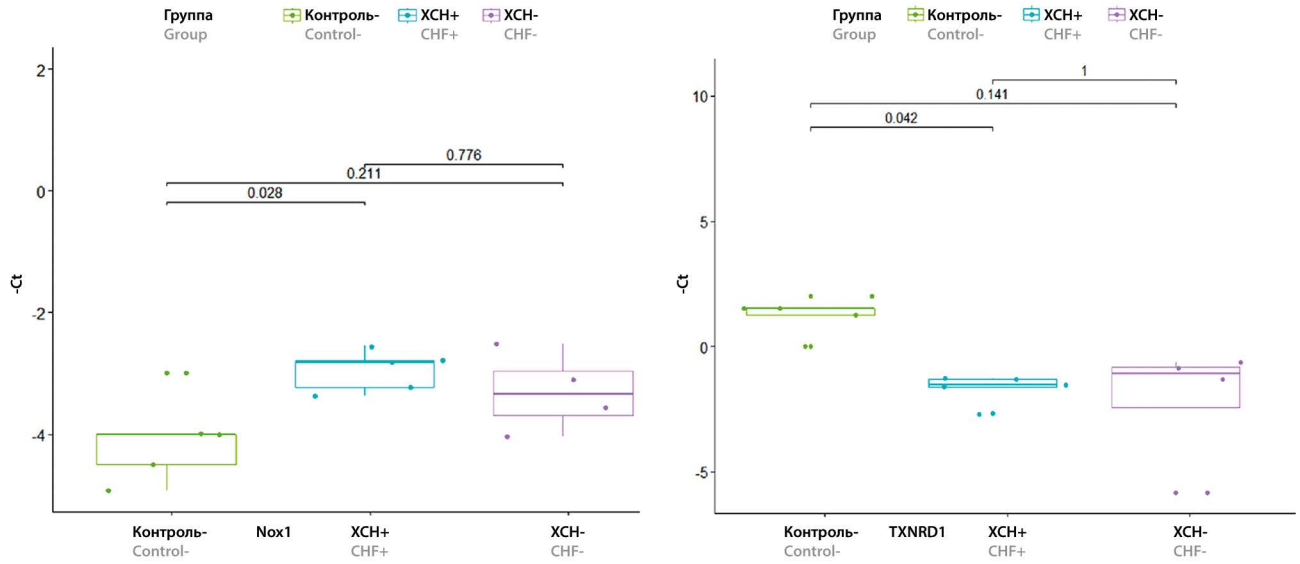


Рисунок 5. Гены, ассоциированные с окислительным стрессом (Nox1, TXNRD1)

Figure 5. Genes associated with oxidative stress (Nox1, TXNRD1)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В контексте кардиоренальных взаимоотношений при ХСН 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино]бензойную кислоту можно охарактеризовать как многофакторный метаболический и редокс-регулятор. Полученные данные обосновывают дальнейшее изучение соединения как потенциального средства для терапии заболеваний, ассоциированных с нарушением энергетического обмена и оксидативным стрессом. С учетом полученных результатов возникает обоснованная гипотеза о том, что эффекты этмабена, проявляющиеся в виде метаболического перепрограммирования, активации β-окисления жирных кислот и стимуляции альтернативных антиоксидантных систем, могут быть экстраполированы и на другие производные малоновой кислоты, в частности на малобен.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Zoccali C., Mallamaci F., Halimi J.-M., Rossignol P., Sarafidis P., De Caterina R., Giugliano R., Zannad F. From Cardiorenal Syndrome to Chronic Cardiovascular and Kidney Disorder: A Conceptual Transition. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2024;19(6):813–820. DOI: 10.2215/CJN.0000000000000361.
2. Maisons V., Hamzaoui M., Hanoy M., Pezel T., Guerrot D., Nezam D. Syndrome cardio-rénal : quoi de neuf en 2023? *Néphrologie & Thérapeutique*. 2023;19(2):121–138. DOI: 10.1684/ndt.2023.15.
3. Mullens W., Abrahams Z., Francis G. S., Sokos G., Taylor D. O., Starling R. C., Young J. B., Tang W. H. W. Importance of venous congestion for worsening of renal function in advanced decompensated heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009;53(7):589–596. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.05.068.
4. Bhargava P., Schnellmann R. G. Mitochondrial energetics in the kidney. *Nature Reviews Nephrology*. 2017;13(10):629–646. DOI: 10.1038/nrneph.2017.107.
5. Emma F., Montini G., Parikh S. M., Salviati L. Mitochondrial dysfunction in inherited renal disease and acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*. 2016;12(5):267–280. DOI: 10.1038/nrneph.2015.214.
6. Zhan M., Brooks C., Liu F., Sun L., Dong Z. Mitochondrial dynamics: regulatory mechanisms and emerging role in renal pathophysiology. *Kidney International*. 2013;83(4):568–581. DOI: 10.1038/ki.2012.441.
7. Huang H., Li G., He Y., Chen J., Yan J., Zhang Q., Li L., Cai X. Cellular succinate metabolism and signaling in inflammation: implications for therapeutic intervention. *Frontiers in Immunology*. 2024;15:1404441. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1404441.
8. Abe J., Vujic A., Prag H. A., Murphy M. P., Krieg T. Malonate given at reperfusion prevents post-myocardial infarction heart failure by decreasing ischemia/reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology*. 2024;119(4):691–697. DOI: 10.1007/s00395-024-01063-z.
9. Ивкин Д. Ю., Зеленцова А. Б., Краснова М. В., Карпов А. А., Пажельцев В. В., Напалкова С. М., Терминко И. И., Титович И. А., Оковитый С. В. Сравнительная эффективность фармакотерапии хронической сердечной недостаточности в эксперименте. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(1):349–357. DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1998. [Ivkin D. Yu., Zelentsova A. B., Krasnova M. V., Karpov A. A., Pazheltsev V. V., Napalkova S. M., Terninko I. I., Titovich I. A., Okovitiy S. V. Comparative efficacy study of experimental chronic heart failure. *Drug development & registration*. 2025;14(1):349–357. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2025-14-1-1998.]
10. Handy D. E., Loscalzo J. The role of glutathione peroxidase-1 in health and disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2022;188:146–161. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.06.004.
11. Kasai S., Shimizu S., Tatara Y., Mimura J., Itoh K. Regulation of Nrf2 by Mitochondrial Reactive Oxygen Species in Physiology and Pathology. *Biomolecules*. 2020;10(2):320. DOI: 10.3390/biom10020320.
12. Mills E. L., Pierce K. A., Jedrychowski M. P., Garrity R., Winther S., Vidoni S., Yoneshiro T., Spinelli J. B., Lu G. Z., Kazak L., Banks A. S., Haigis M. C., Kajimura S., Murphy M. P., Gygi S. P., Clish C. B., Chouchani E. T. Accumulation of succinate controls activation of adipose tissue thermogenesis. *Nature*. 2018;560(7716):102–106. DOI: 10.1038/s41586-018-0353-2.
13. Xiao M., Yang H., Xu W., Ma S., Lin H., Zhu H., Liu L., Liu Y., Yang C., Xu Y., Zhao S., Ye D., Xiong Y., Guan K.-L. Inhibition of α-KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Genes & Development*. 2012;26(12):1326–1338. DOI: 10.1101/gad.191056.112.
14. Panov A. V., Mayorov V. I., Dikalov S. I. Role of Fatty Acids β-Oxidation in the Metabolic Interactions Between Organs. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(23):12740. DOI: 10.3390/ijms252312740.
15. Rusanescu G., Weissleder R., Aikawa E. Notch signaling in cardiovascular disease and calcification. *Current Cardiology Reviews*. 2008;4(3):148–156. DOI: 10.2174/157340308785160552.
16. Liu G. Y., Sabatini D. M. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2020;21(4):183–203. DOI: 10.1038/s41580-019-0199-y.
17. Semenza G. L. Hypoxia-inducible factor 1 and cardiovascular disease. *Annual Review of Physiology*. 2014;76:39–56. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021113-170322.
18. Cipriano A., Viviano M., Feoli A., Milite C., Sarno G., Castellano S., Sbardella G. NADPH Oxidases: From Molecular Mechanisms to Current Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2023;66(17):11632–11655. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.3c00770.
19. Lu J., Holmgren A. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014;66:75–87. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036.
20. Tonelli C., Chio I. I. C., Tuveson D. A. Transcriptional Regulation by Nrf2. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2018;29(17):1727–1745. DOI: 10.1089/ars.2017.7342.
21. Chouchani E. T., Pell V. R., James A. M., Work L. M., Saeb-Parsy K., Frezza C., Krieg T., Murphy M. P. A Unifying Mechanism for Mitochondrial Superoxide Production during Ischemia-Reperfusion Injury. *Cell Metabolism*. 2016;23(2):254–263. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.009.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.03

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2228

Check for updates

CC BY 4.0

Изучение фармакокинетики препарата «Малобен» при однократном и многократном дозировании у добровольцев

П. К. Карнакова[1, 2]✉, Т. Н. Комаров[1, 2], Н. С. Багаева[1], Д. Ю. Ивкин[2], О. А. Арчакова[1], И. Е. Шохин[1, 2], И. А. Наркевич[2]

[1] Общество с ограниченной ответственностью «Центр фармацевтической аналитики» (ООО «ЦФА»). 117638, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

[2] 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

✉ **Контактное лицо:** Карнакова Полина Константиновна. **E-mail:** p.karnakova@cpha.ru

ORCID: П. К. Карнакова – https://orcid.org/0000-0002-7518-0777;
Т. Н. Комаров – https://orcid.org/0000-0001-8354-7877;
Н. С. Багаева – https://orcid.org/0000-0001-7496-8186;
Д. Ю. Ивкин – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864;
О. А. Арчакова – https://orcid.org/0000-0001-6621-1060;
И. Е. Шохин – https://orcid.org/0000-0002-1185-8630;
И. А. Наркевич – https://orcid.org/0000-0002-5483-6626.

Статья поступила: 10.11.2025 **Статья принята в печать:** 27.11.2025 **Статья опубликована:** 28.11.2025

Резюме

Введение. Малобен – новый лекарственный препарат для лечения заболеваний печени с не изученной ранее фармакокинетикой у человека.

Цель. Определение фармакокинетических параметров препарата «Малобен», таблетки (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России), при однократном и многократном применении у здоровых добровольцев в рамках клинического исследования (КИ) I фазы.

Материалы и методы. КИ I фазы проводилось в два этапа. В первом этапе участвовали 24 добровольца, разделенных на 3 когорты по 8 человек: добровольцы когорты 1 получали по 60 мг малобена однократно, когорты 2 – по 120 мг однократно, когорты 3 – по 180 мг однократно. Во втором этапе участвовали добровольцы, завершившие участие в предыдущем этапе: добровольцы когорты 4 получали суточную дозу 60 мг, когорты 5 – суточную дозу 120 мг, когорты 6 – суточную дозу 180 мг. Для определения концентраций малобена в плазме крови добровольцев использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). На основании полученных в ходе аналитического этапа концентраций малобена в плазме крови добровольцев после однократного и многократного перорального приема малобена были изучены его фармакокинетические параметры.

Результаты и обсуждение. Фармакокинетические параметры малобена оценивались в 6 когортах по 8 добровольцев. Средние значения C_{max} составили 18,09 ± 8,06, 41,36 ± 5,63 и 51,81 ± 11,05 нг/мл при однократном дозировании в когортах 1–3 и 37,93 ± 20,98, 70,83 ± 37,37 и 78,98 ± 37,03 нг/мл при многократном дозировании в когортах 4–6. Средние значения $AUC_{(0-t)}$ составили 348,59 ± 200,65, 938,32 ± 344,95 и 1177,13 ± 221,81 нг · ч/л при однократном дозировании в когортах 1–3 и 3142,22 ± 2091,08, 5714,73 ± 2482,56 и 7799,02 ± 3829,67 нг · ч/л при многократном дозировании в когортах 4–6. Средние значения $AUC_{(0-\infty)}$ составили 623,05 ± 390,08, 1171,68 ± 471,89 и 1666,93 ± 596,25 нг · ч/л при однократном дозировании в когортах 1–3 и 3228,41 ± 2141,08, 5789,32 ± 2539,34 и 8970,72 ± 5143,42 нг · ч/л при многократном дозировании в когортах 4–6. Установлена пропорциональная зависимость фармакокинетических параметров C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ от величины дозы (линейность ФК) при однократном дозировании, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ – при многократном дозировании.

Заключение. Впервые была изучена ФК малобена при различных режимах дозирования у добровольцев, а также изучены закономерности изменения фармакокинетических параметров.

Ключевые слова: производное малоновой кислоты, 4,4′-(пропандиамидо)дибензоат натрия, НАЖБП, плазма крови, дозовая пропорциональность, фармакокинетика

© Карнакова П. К., Комаров Т. Н., Багаева Н. С., Ивкин Д. Ю., Арчакова О. А., Шохин И. Е., Наркевич И. А., 2025
© Karnakova P. K., Komarov T. N., Bagaeva N. S., Ivkin D. Yu., Archakova O. A., Shohin I. E., Narkevich I. A., 2025

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

Вклад авторов. П. К. Карнакова занималась проведением аналитического этапа исследования, интерпретацией результатов статистической части, подготовкой иллюстративного материала и текста статьи. Т. Н. Комаров, О. А. Арчакова участвовали в проведении аналитического этапа исследования. Н. С. Багаева проводила расчет фармакокинетических параметров и описательной статистики. Д. Ю. Ивкин выполнял консультативную работу. И. Е. Шохин, И. А. Наркевич отвечали за организационную часть исследования. Все авторы участвовали в обсуждении полученных результатов в форме научной дискуссии.

Для цитирования: Карнакова П. К., Комаров Т. Н., Багаева Н. С., Ивкин Д. Ю., Арчакова О. А., Шохин И. Е., Наркевич И. А. Изучение фармакокинетики препарата «Малобен» при однократном и многократном дозировании у добровольцев. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):280–294. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2228

Pharmacokinetic study of Maloben after single and multiple doses in healthy volunteers

Polina K. Karnakova[1, 2]✉, Timofey N. Komarov[1, 2], Natalia S. Bagaeva[1], Dmitry Yu. Ivkin[2], Olga A. Archakova[1], Igor E. Shohin[1, 2], Igor A. Narkevich[2]

[1] Limited Liability Company "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"). 8, Simferopolsky bulvar, Moscow, 117246, Russia
[2] Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Professora Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Polina K. Karnakova. **E-mail:** p.karnakova@cpha.ru

ORCID: Polina K. Karnakova – https://orcid.org/0000-0002-7518-0777;
Timofey N. Komarov – https://orcid.org/0000-0001-8354-7877;
Natalia S. Bagaeva – https://orcid.org/0000-0001-7496-8186;
Dmitry Yu. Ivkin – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864;
Olga A. Archakova – https://orcid.org/0000-0001-6621-1060;
Igor E. Shohin – https://orcid.org/0000-0002-1185-8630;
Igor A. Narkevich – https://orcid.org/0000-0002-5483-6626.

Received: 10.11.2025 **Accepted:** 27.11.2025 **Published:** 28.11.2025

Abstract

Introduction. Maloben is a new drug for the treatment of liver diseases with previously unstudied pharmacokinetics in humans.

Aim. To determine the pharmacokinetic (PK) parameters of Maloben tablets (SPCPU, Russia) after single and multiple administrations in healthy volunteers as part of a phase I clinical trial.

Materials and methods. The phase I clinical trial was conducted in two stages. Stage I involved 24 volunteers divided into 3 cohorts of 8 volunteers each: cohort 1 received a single 60 mg dose of maloben, cohort 2 a single 120 mg dose, and cohort 3 a single 180 mg dose. Stage II included healthy volunteers who completed the previous stage: cohort 4 received a daily dose of 60 mg, cohort 5 a daily dose of 120 mg, and cohort 6 a daily dose of 180 mg. To determine maloben concentrations in plasma, high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection (HPLC-MS/MS) was used. Based on plasma concentrations obtained during the analytical phase after single and multiple oral administrations, pharmacokinetic parameters of maloben were evaluated.

Results and discussion. Pharmacokinetic parameters of maloben were evaluated in 6 cohorts of 8 volunteers each. Mean C_{max} values were 18.09 ± 8.06, 41.36 ± 5.63, and 51.81 ± 11.05 ng/mL after single dosing in cohorts 1–3, and 37.93 ± 20.98, 70.83 ± 37.37, and 78.98 ± 37.03 ng/mL after multiple dosing in cohorts 4–6. Mean $AUC_{(0-t)}$ values were 348.59 ± 200.65, 938.32 ± 344.95, and 1177.13 ± 221.81 ng · h/L after single dosing in cohorts 1–3, and 3142.22 ± 2091.08, 5714.73 ± 2482.56, and 7799.02 ± 3829.67 ng · h/L after multiple dosing in cohorts 4–6. Mean $AUC_{(0-\infty)}$ values were 623.05 ± 390.08, 1171.68 ± 471.89, and 1666.93 ± 596.25 ng · h/L after single dosing in cohorts 1–3, and 3228.41 ± 2141.08, 5789.32 ± 2539.34, and 8970.72 ± 5143.42 ng · h/L after multiple dosing in cohorts 4–6. Dose proportionality (linear PK) was established for PK parameters C_{max}, $AUC_{(0-t)}$, and $AUC_{(0-\infty)}$ after single dosing, and for $AUC_{(0-t)}$ and $AUC_{(0-\infty)}$ after multiple dosing.

Conclusion. For the first time, the pharmacokinetics of maloben under various dosing regimens in volunteers were investigated, as well as the assessment of changes in PK parameters.

Keywords: malonic acid derivative, sodium 4,4'-(propanediamido)dibenzoate, NAFLD, human plasma, dose proportionality, pharmacokinetic parameters

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. Polina K. Karnakova conducted the analytical phase, interpreted the results, prepared illustrations, and wrote the manuscript. Timofey N. Komarov, Olga A. Archakova participated in the analytical part of the study. Natalia S. Bagaeva performed pharmacokinetic calculations and descriptive statistics. Dmitry Yu. Ivkin provided consulting support.

Igor E. Shohin, Igor A. Narkevich were responsible for the organizational aspects of the study. All authors participated in the discussion of the obtained results.

For citation: Karnakova P. K., Komarov T. N., Bagaeva N. S., Ivkin D. Yu., Archakova O. A., Shohin I. E., Narkevich I. A. Pharmacokinetic study of Maloben after single and multiple doses in healthy volunteers. *Drug development & registration*. 2025;14(4):280–294. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2228

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) представляет собой одно из наиболее распространенных заболеваний печени, ассоциированных с метаболическим синдромом (МС) [1–3]. НАЖБП включает широкий спектр патологий: от жирового стеатоза до неалкогольного стеатогепатита, который при отсутствии терапии может прогрессировать до фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы [4–6]. НАЖБП носит системный характер и имеет двунаправленную связь с другими компонентами МС, такими как ожирение, артериальная гипертензия, нарушения углеводного и липидного обменов [7, 8].

Согласно данным эпидемиологический исследований, распространенность НАЖБП в мире составляет 23–32 % и имеет тенденцию к росту [9–12]. Наибольшая заболеваемость наблюдается среди пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) и ожирением [13, 14]. В частности, наличие СД2 может увеличивать риск прогрессирования НАЖБП до более тяжелых форм [15]. Кроме того, НАЖБП также повышает риск смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), которые являются одной из основных причин летального исхода среди пациентов с диагнозом НАЖБП [11, 15–17]. Взаимосвязь НАЖБП с другими компонентами МС усиливает их патологическое воздействие, создавая замкнутый круг, в котором одно нарушение инициирует и усиливает другое [7, 8].

Для эффективного лечения НАЖБП необходим комплексный подход, нацеленный на устранение всех звеньев патологического механизма [18]. Для этой цели патогенетически обоснованным является применение терапии, направленной на нормализацию метаболических нарушений, снижение массы тела, а также уменьшение проявлений стеатоза и стеатогепатита с целью предотвращения развития фиброза печени [18, 20]. Применение метаболических средств, обладающих антистеатозным и гиполипидемическими эффектами, рассматривается как перспективное направление лечения НАЖБП. Такие препараты способствуют восстановлению липидного профиля, устранению последствий висцерального ожирения, снижению рисков ССЗ и СД2, а также предотвращению дальнейшего прогрессирования НАЖБП [20].

Малобен (4,4’-(пропандиамидо)дибензоат натрия) является перспективным средством для лечения заболеваний печени, в том числе НАЖБП [20–25]. На базе СПХФУ были проведены доклинические исследования фармацевтической субстанции малобена и готовой лекарственной формы «Малобен» (таблетки, 60 мг): была изучена безопасность (острая и хроническая токсичность, генотоксичность, репродуктивная токсичность, канцерогенность и наличие местнораздражающего действия), а также фармакологическая активность малобена [20–30]. Было установлено наличие плейотропных фармакологических эффектов и широкого спектра биологической активности [21, 23, 24, 26, 30, 31]. Основным фармакологическим действием малобена является антиоксидантное и антиапоптотическое действие [21, 24, 27]. Антиоксидантное действие оказывается за счет взаимодействия с анионными радикалами в печени, благодаря чему снижается оксидативный стресс в патогенезе развития стеатоза печени [21, 26, 27]. Малобен продемонстрировал снижение выраженности апоптотических изменений в гепатоцитах и наличие стимулирующего влияния на пролиферативную активность гепатоцитов [20, 24, 26]. К другим действиям малобена относят гиполипидемическое, гипогликемизирующее и гликогеностатическое действие за счет снижения содержания гликогена в печени и скелетных мышцах [20, 21, 24–26, 29–31]. Результаты доклинических исследований стали основанием для проведения клинического исследования I фазы препарата «Малобен» у здоровых добровольцев [20, 21, 23, 24, 26].

Целью настоящей работы было изучение фармакокинетических параметров (ФК-параметров) различных доз малобена (60, 120 и 180 мг) при однократном и многократном приеме препарата «Малобен», таблетки (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России), у здоровых добровольцев в рамках клинического исследования I фазы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинический, аналитический и статистический этапы исследования фармакокинетики (ФК) препарата «Малобен» проводились в рамках I фазы КИ

«Открытое нерандомизированное клиническое исследование по оценке безопасности, переносимости и фармакокинетических параметров различных доз препарата «Малобен», таблетки (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России), у здоровых добровольцев». Исследование одобрено Министерством здравоохранения Российской Федерации, РКИ № 717 от 23.12.2022, протокол № CPHU-4DN-01-2022[1]. В рамках данного исследования проводилась оценка ФК-параметров при однократном и многократном приеме различных доз препарата «Малобен». При изучении многократного режима дозирования прием препарата осуществлялся в течение 7 дней.

Участники исследования

В исследование были включены 24 добровольца (мужчины и женщины) в возрасте от 18 до 65 лет, имеющие верифицированный диагноз «здоров», соответствующие всем остальным критериям включения и не соответствующие ни одному критерию исключения. Все добровольцы дали информированное согласие на участие в исследовании.

Дизайн исследования

Было проведено открытое нерандомизированное двухэтапное когортное клиническое исследование по оценке ФК-параметров различных доз препарата «Малобен, таблетки, 60 мг» (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России) у здоровых добровольцев. Исследование проводилось в два этапа:

- I этап: оценка безопасности, переносимости и ФК-параметров после однократного применения исследуемого препарата (ИП);
- II этап: оценка безопасности, переносимости и ФК-параметров после многократного применения ИП.

I этап исследования
(однократное применение)

В исследовании на данном этапе участвовали 24 добровольца, разделенных на 3 когорты по 8 человек. Для снижения рисков при приеме нового препарата с не изученной для человека безопасностью каждая из трех когорт была разделена на две равные подкогорты. Первые 4 добровольца (добровольцы 1–4), зачисленные в когорту, составляли первую подкогорту, а вторые 4 (добровольцы 5–8) – вторую подкогорту каждой когорты. Вторая подкогорта в каждой когорте включалась в исследование и получала ИП только через 2 суток после получения препарата добровольцами из первой подкогорты. Исследование было начато с наименьшей дозы ИП, в каждой следующей когорте проходила эскалация дозы. Применение препарата в каждой следующей когорте начиналось только после оценки безопасности недельного периода наблюдения после приема препарата у последнего добровольца предыдущей когорты и принятия решения о возможности эскалации дозы. Добровольцы когорты 1 получали по 60 мг малобена однократно, когорты 2 – по 120 мг однократно, когорты 3 – по 180 мг однократно. Каждый доброволец принимал ИП однократно в соответствующей когорте дозе утром натощак, запивая водой.

II этап исследования
(многократное применение)

На II этапе исследования изучались дозы, одобренные на предыдущем этапе исследования. В данном этапе исследования участвовали добровольцы, завершившие участие в первом этапе и не имеющие критериев исключения. Использовался тот же принцип разделения добровольцев на когорты и подкогорты. Добровольцы когорты 4 получали суточную дозу 60 мг (1 таблетка 60 мг один раз в сутки), когорты 5 – суточную дозу 120 мг (1 таблетка 60 мг два раза в сутки с интервалом 6 ч), когорты 6 – суточную дозу 180 мг (1 таблетка 60 мг три раза в сутки с интервалом 4 ч). Прием препарата осуществлялся в течение 7 дней. Переход к изучению препарата в следующей когорте осуществлялся по алгоритму, аналогичному I этапу исследования. Все добровольцы воздерживались от пищи не менее чем за 10 ч до первого приема ИП.

Клинический этап исследования

На первом этапе исследования добровольцам устанавливался кубитальный гепаринизированный катетер не более чем на 13 ч. После установки катетера за 5–10 мин до приема ИП отбиралась исходная (0 ч) проба крови. Далее отбирались пробы через 20 мин, 30 мин; 1 ч; 1 ч 30 мин; 2 ч; 2 ч 30 мин; 3 ч; 3 ч 30 мин; 4 ч; 6 ч; 8 ч; 12 ч; 16 ч; 24 ч; 36 ч; 48 ч; 72 ч после приема ИП.

На втором этапе исследования за 5–10 мин до первого приема препарата у добровольцев путем венепункции отбирается исходная (0 ч) проба крови, в день 7 перед последним приемом препарата устанавливался кубитальный гепаринизированный катетер, но не более чем на 13 ч. Дальнейший отбор проб крови для изучения ФК проводится через 20 мин, 30 мин; 1 ч; 1 ч 30 мин; 2 ч; 2 ч 30 мин; 3 ч; 3 ч 30 мин; 4 ч; 6 ч; 8 ч; 12 ч; 16 ч; 24 ч; 36 ч; 48 ч; 72 ч после последнего приема ИП.

В каждую точку отбора у добровольца отбиралось по 6 мл крови в промаркированные пробирки с антикоагулянтом K_3ЭДТА. Не более чем через 30 мин после отбора пробы крови плазму отделя-

[1] Открытое нерандомизированное клиническое исследование по оценке безопасности, переносимости и фармакокинетических параметров различных доз препарата «Малобен», таблетки (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России), у здоровых добровольцев. Доступно по: https://grlsbase.ru/clinicaltrails/clintrail/12833. Ссылка активна на: 30.10.2025.

ли центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4 °С. Полученную плазму разделяли на 2 аликвоты (образцы для основного анализа и архивные образцы), перенося плазму в предварительно промаркированные пробирки типа «эппендорф». Все образцы замораживали в вертикальном положении и хранили в клиническом центре при температуре не выше –20 °С. Временной интервал между отбором проб и заморозкой не превышал 60 мин. Образцы хранились в лаборатории при температуре –42,5 ± 7,5 °С.

Аналитический этап исследования

Для определения концентраций малобена в плазме крови добровольцев использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Была разработана биоаналитическая методика, проведена ее полная валидация в соответствии с требованиями действующих на территории Евразийского экономического союза правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов (утверждены решением № 85 Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г.)[1], а также с учетом рекомендаций FDA[2] и EMA[3].

Разделение проводили на колонке Phenomenex Luna C18(2) (50 × 2 мм, 5 мкм). Был выбран режим градиентного элюирования при постоянной скорости потока. Подвижная фаза состояла из 0,1%-го водного раствора муравьиной кислоты и 0,1%-го раствора муравьиной кислоты в ацетонитриле. Подготовку образцов к анализу осуществляли путем осаждения ацетонитрилом. Ионизация веществ проводилась электроспреем. При детектировании регистрировались следующие переходы: 341,15 → 162,20 m/z; 136,10 m/z; 118,05 m/z – для малобена, 285,15 → 198,05 m/z – для внутреннего стандарта прометазина. Методика обладала линейностью в диапазоне 0,75–150,00 нг/мл. Нижний предел количественного определения (НПКО) методики составил менее 5 % от ожидаемого среднего значения максимальной концентрации малобена в плазме крови.

Статистический этап исследования

На основании полученных в ходе аналитического этапа концентраций малобена в плазме крови добровольцев после однократного и многократного перорального приема ИП были изучены его ФК-параметры.

Индивидуальные профили изменения значений концентраций малобена в плазме крови человека во времени, зарегистрированные после однократного и многократного приема ИП, характеризовались:

C_{max} – максимальной концентрацией малобена в плазме крови;

t_{max} – временем достижения максимальной концентрации малобена в плазме крови;

$AUC_{(0-t)}$ – площадью под кривой «концентрация – время» с момента приема ИП до последней определяемой концентрации во временной точке *t*;

$AUC_{(0-\infty)}$ – площадью под кривой «концентрация – время» с момента приема ИП до бесконечности.

Дополнительно были рассчитаны следующие ФК-параметры:

$t_{1/2}$ – период полувыведения лекарственного вещества;

k_{el} – константа скорости терминальной элиминации лекарственного вещества;

MRT (Mean Residence Time) – среднее время удерживания лекарственного вещества в плазме;

V_d – кажущийся объем распределения;

Cl – общий клиренс.

Для каждого из вышеперечисленных показателей были рассчитаны значения описательной статистики, включающие максимальные и минимальные значения, среднее арифметическое, среднее геометрическое, стандартное отклонение для среднего, медиану.

Дополнительно проводилась оценка пропорциональности ФК-параметров C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ и дозы с использованием степенной модели [32, 33]:

$$Y = \alpha \cdot Dose^{\beta},$$

где Y – ФК-параметр; α – константа; β – коэффициент дозовой пропорциональности.

После логарифмического преобразования модель приводилась к линейному виду:

$$\ln(Y) = \ln(\alpha) + \beta \cdot \ln(Dose) + \varepsilon,$$

где ε – случайная ошибка.

Параметр β интерпретировался как показатель дозовой пропорциональности: значение $\beta = 1$ соответствует линейной зависимости между дозой и ФК-параметром. Дозовая пропорциональность считалась подтвержденной, если 90 % доверительный интервал (ДИ) для β лежал в пределах критической области, рассчитанной как:

[1] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 (ред. от 12.04.2024) «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 30.10.2025.

[2] Bioanalytical Method Validation. Guidance for Industry. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evolution and Research (CDER). Available at: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/bioanalytical-method-validation-guidance-industry/ Accessed: 30.10.2025.

[3] Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for medicinal products for human use. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/bioanalytical-method-validation/ Accessed: 30.10.2025.

$$\left[1+\frac{\ln(Q_L)}{\ln(R)};\ \ 1+\frac{\ln(Q_U)}{\ln(R)}\right],$$

где R – отношение наибольшей и наименьшей изучаемых доз ($R = 3$); Q_L – нижняя граница ($Q_L = 0{,}5$); Q_U – верхняя граница ($Q_U = 2{,}0$) [33].

Расчет ФК-параметров проводился с помощью пакета Microsoft Excel с расширением для проведения фармакокинетического анализа Boomer (Department of Pharmacokinetics and Drug Metabolism, Allergan, Irvine, CA 92606, США), статистическая обработка результатов и построение графиков – с помощью программного обеспечения The R Project for Statistical Computing, версия 4.4.2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакокинетические параметры малобена оценивались в 6 когортах по 8 добровольцев. Каждой когорте соответствовала индивидуальная доза ИП. При определении концентраций малобена не было пропущенных образцов. У всех добровольцев концентрации в точках до приема препарата не превышали значение НПКО. ФК-параметры малобена после приема ИП в когортах 1–6 представлены в сводной таблице 1.

Усредненные фармакокинетические профили малобена в линейной и полулогарифмической шкалах после однократного приема ИП в дозах 60, 120 и 180 мг в когортах 1–3 представлены на рисунке 1. Усредненные фармакокинетические профили малобена в линейной и полулогарифмической шкалах (относительно последнего приема ИП) после приема ИП в течение 7 дней в суточных дозах 60, 120 и 180 мг в когортах 4–6 представлены на рисунке 2.

Фармакокинетические кривые во всех когортах имеют схожий вид. Отмечается наличие двух фаз элиминации малобена.

На рисунке 3 представлены индивидуальные значения основных ФК-параметров с соответствующими средними арифметическими значениями и стандартными отклонениями и аппроксимацией степенной функцией для когорт 1–3 (однократное дозирование) и когорт 4–6 (многократное дозирование). На рисунке 4 представлены индивидуальные значения дополнительных ФК-параметров с соответствующими средними арифметическими значениями и стандартными отклонениями для когорт 1–3 (однократное дозирование) и когорт 4–6 (многократное дозирование).

С увеличением дозы от 60 до 180 мг при однократном приеме ИП наблюдалось увеличение как значения C_{max}, так и общей экспозиции ($AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$). Медианные значения t_{max} сокращались с увеличением дозы в когортах 1–3. Значения $t_{1/2}$, Cl, MRT и V_d варьировались между когортами без выраженной дозозависимости. Среднее значение Cl при однократном приеме ИП оставалось на уровне 117,95–160,67 л/ч. Средние значения V_d при однократном приеме ИП изменялись в пределах от 3469,10 до 7041,79 л, что значительно превышает общий объем циркулирующей крови и свидетельствует об обширном распределении малобена в периферических тканях.

После многократного приема ИП в течение 7 дней в суточных дозах от 60 до 180 мг также отмечалось увеличение значений C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$. Время достижения C_{max} существенно не различалось между дозами в когортах 4–6. В параметрах $t_{1/2}$, MRT, Cl и V_d закономерностей, связанных с увеличением суточной дозы, не выявлено. Средние значения V_d после многократного приема ИП находились в диапазоне от 442,07 до 996,54 л. Средний клиренс составил 23,71–28,54 л/ч, указывая на более медленное выведение препарата из плазмы при многократном дозировании. Среднее значение MRT возросло по сравнению с однократным дозированием, отражая накопление препарата при многократном применении.

В таблице 2 приведены результаты оценки дозовой пропорциональности основных ФК-параметров после однократного и многократного дозирования. При однократном приеме ИП значения коэффициента β для C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$, рассчитанные с помощью степенной модели после логарифмического преобразования, составили 1,055 (90 % ДИ: 0,807–1,303), 1,261 (90 % ДИ: 0,935–1,586) и 1,061 (90 % ДИ: 0,647–1,475) соответственно. При многократном приеме значения коэффициента β для C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ – 0,691 (90 % ДИ: 0,292–1,089), 0,849 (95 % ДИ: 0,447–1,251) и 0,908 (95 % ДИ: 0,485–1,330). При однократном приеме ИП 90 % ДИ коэффициента β параметров C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ находились в интервалах дозовой пропорциональности, то есть в исследуемом диапазоне доз установлена дозовая пропорциональность основных ФК-параметров. При многократном приеме ИП 90 % ДИ коэффициента β параметров $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ находились в интервалах дозовой пропорциональности, то есть в исследуемом диапазоне доз установлена дозовая пропорциональность ФК-параметров $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$.

Ранее на этапе доклинических исследований было проведено исследование ФК малобена у лабораторных животных. В рамках доклинических исследований была изучена ФК малобена при внутрижелудочном и внутривенном введении кроликам породы советская шиншилла и аутбредным крысам. У кроликов исследовались дозы 2,7; 13,5 и 27 мг/кг при внутривенном и внутрижелудочном введении. У крыс изучались следующие дозы: 5 мг/кг при внутривенном введении, 5, 25, 50 мг/кг при внутрижелудочном введении. Рассчитанное значение биодоступности малобена при внутрижелудочном введении составило около 13 %. Также была изучена линейность ФК и установлена дозовая пропорциональность [23], что подтверждается в рамках данного исследования.

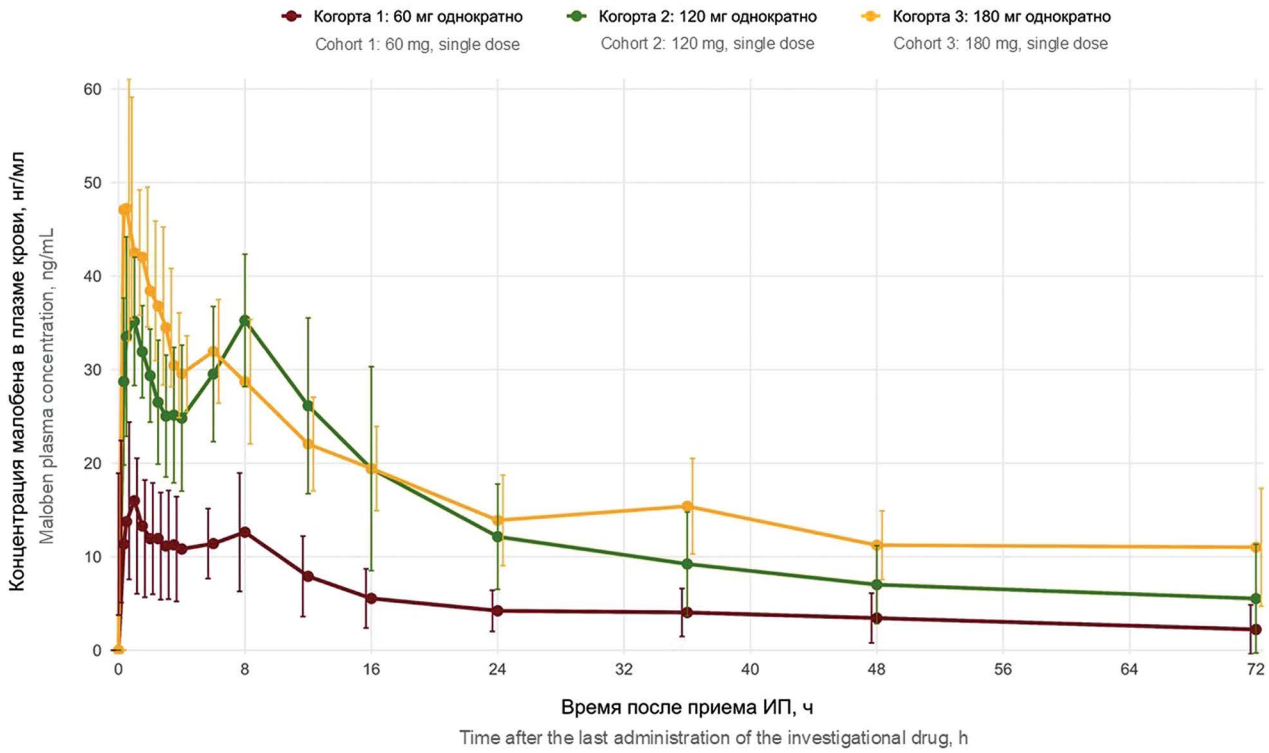
Таблица 1. **Сводная таблица фармакокинетических параметров малобена после приема препарата «Малобен» в когортах 1–6**

Table 1. **Summary of the pharmacokinetic parameters of maloben after oral administration of Maloben in cohorts 1–6**

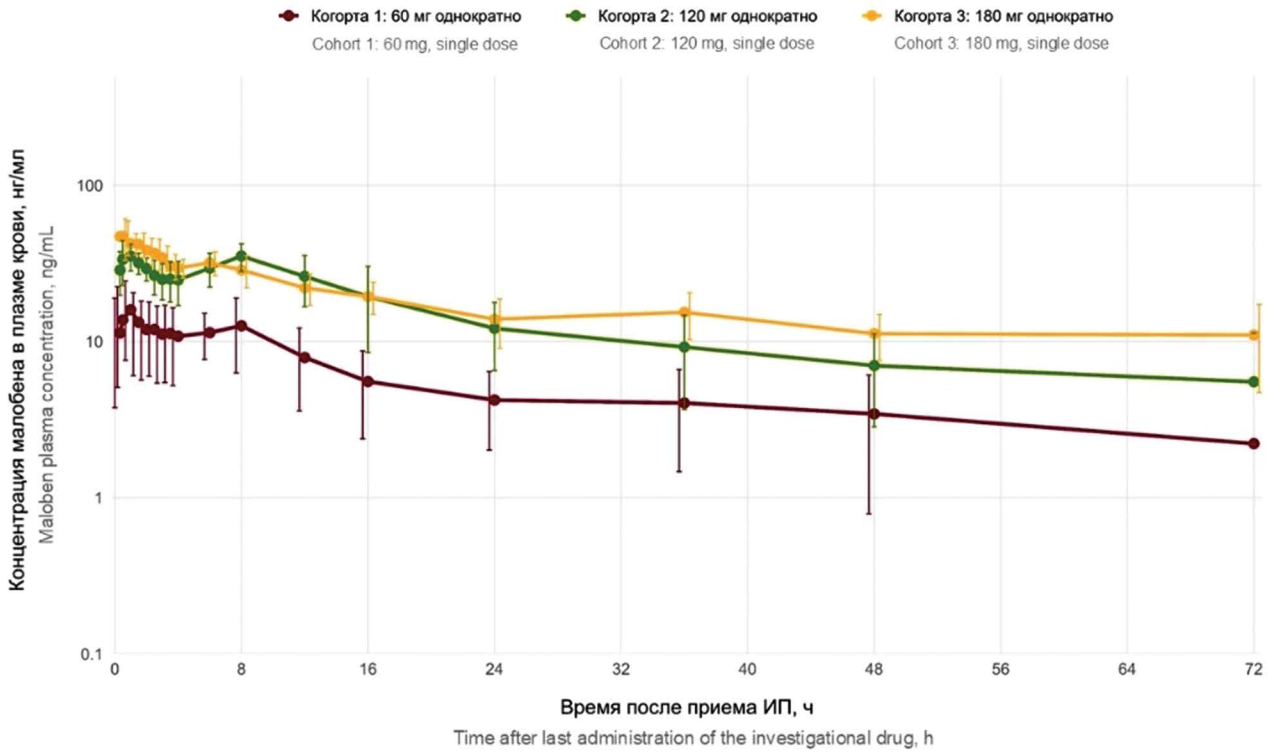
Фармакокинетический параметр Pharmacokinetic parameter	Однократный прием Single dose			Многократный прием Multiple dose		
	60 мг, когорта 1 60 mg, cohort 1	120 мг, когорта 2 120 mg, cohort 2	180 мг, когорта 3 180 mg, cohort 3	суточная доза 60 мг, когорта 4 60 mg daily, cohort 4	суточная доза 120 мг, когорта 5 120 mg daily, cohort 5	суточная доза 180 мг, когорта 6 180 mg daily, cohort 6
C_{max}, нг/мл C_{max}, ng/mL	18,09±8,06 [8]	41,36 ± 5,63 [8]	51,81 ± 11,05 [8]	37,93 ± 20,98 [8]	70,83 ± 37,37 [8]	78,98 ± 37,03 [8]
t_{max}, ч t_{max}, h	6 (0,5–8) [8]	0,75 (0,33–16) [8]	0,5 (0,33–8) [8]	0,75 (0,33–8) [8]	2 (0,33–8) [8]	0,5 (0,33–16) [8]
$AUC_{(0-t)}$, нг · ч/л $AUC_{(0-t)}$, ng · h/L	348,59 ± 200,65 [8]	938,32 ± 344,95 [8]	1177,13 ± 221,81 [8]	3142,22 ± 2091,08 [8]	5714,73 ± 2482,56 [8]	7799,02 ± 3829,67 [8]
$AUC_{(0-\infty)}$, нг · ч/л $AUC_{(0-\infty)}$, ng · h/L	623,05 ± 390,08 [8]	1171,68 ± 471,89 [8]	1666,93 ± 596,25 [8]	3228,41 ± 2141,08 [8]	5789,32 ± 2539,34 [8]	8970,72 ± 5143,42 [8]
k_{el}, $ч^{-1}$ k_{el}, h^{-1}	0,028 ± 0,026 [8]	0,038 ± 0,017 [8]	0,035 ± 0,020 [8]	0,052 ± 0,028 [8]	0,057 ± 0,018 [8]	0,032 ± 0,025[8]
$t_{1/2}$, ч $t_{1/2}$, h	47,38 ± 33,50 [8]	22,26 ± 12,33 [8]	26,92 ± 17,53 [8]	16,61 ± 7,33 [8]	13,09 ± 3,89 [8]	33,68 ± 20,79 [8]
MRT, ч MRT, h	68,16 ± 42,00 [8]	36,75 ± 24,89 [8]	50,71 ± 20,35 [8]	151,87 ± 4,39 [8]	150,59 ± 2,70 [8]	165,53 ± 14,99 [8]
V_d, л V_d, L	7041,79 ± 4033,42 [8]	3469,10 ± 1339,08 [8]	4012,01 ± 1408,07 [8]	535,60 ± 301,80 [8]	442,07 ± 190,62 [8]	996,54 ± 378,55 [8]
Cl, л/ч Cl, L/h	160,67 ± 146,40 [8]	120,98 ± 55,73 [8]	117,95 ± 32,56 [8]	23,71 ± 10,66 [8]	25,74 ± 14,53 [8]	28,54 ± 20,07 [8]

Примечание. Для всех параметров, кроме t_{max}, приведены значения Mean ± SD [*n*] (Mean – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, *n* – размер выборки). Для параметра t_{max} приведены значения Median (Min – Max) [*n*] (Median – медиана, Max – максимальное значение, Min – минимальное значение, *n* – размер выборки).

Note. For all parameters, except t_{max}, values are presented as Mean ± SD [*n*] (Mean – arithmetic mean, SD – standard deviation, *n* – sample size). For t_{max} values are presented as Median (Min – Max) [*n*] are given (Max – maximum value, Min – minimum value, *n* – sample size).



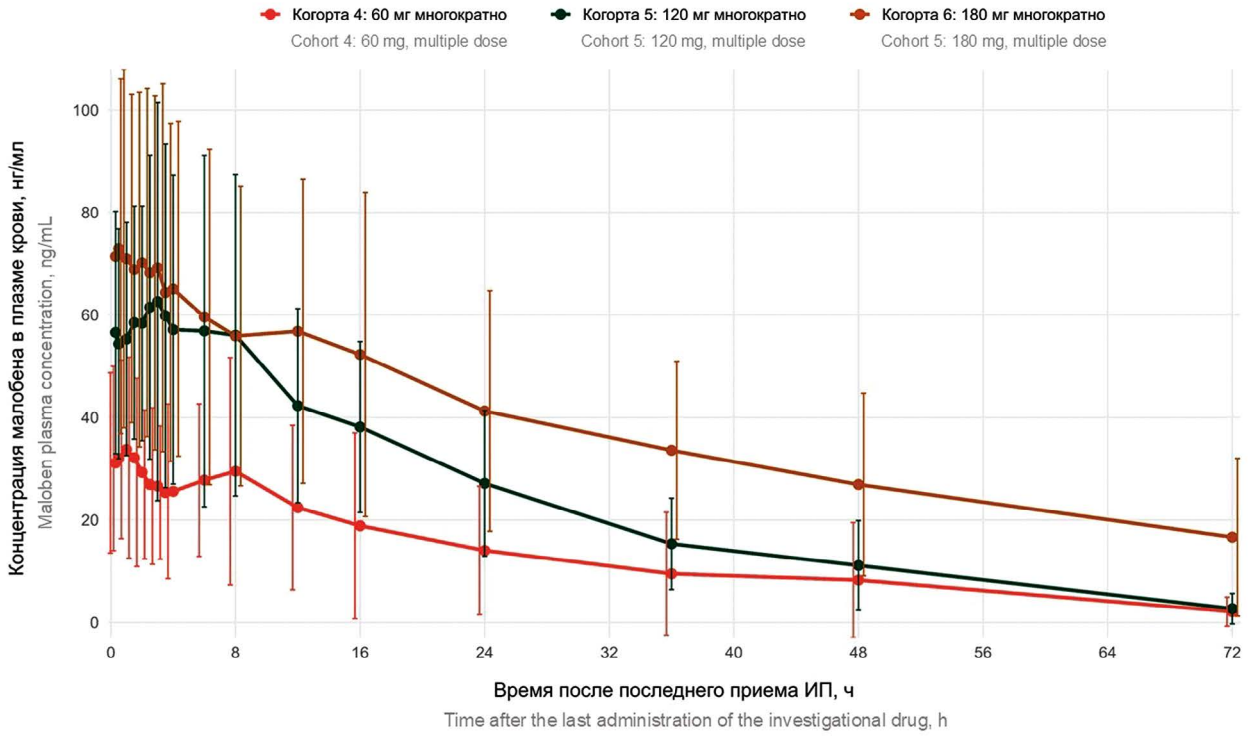
А
A



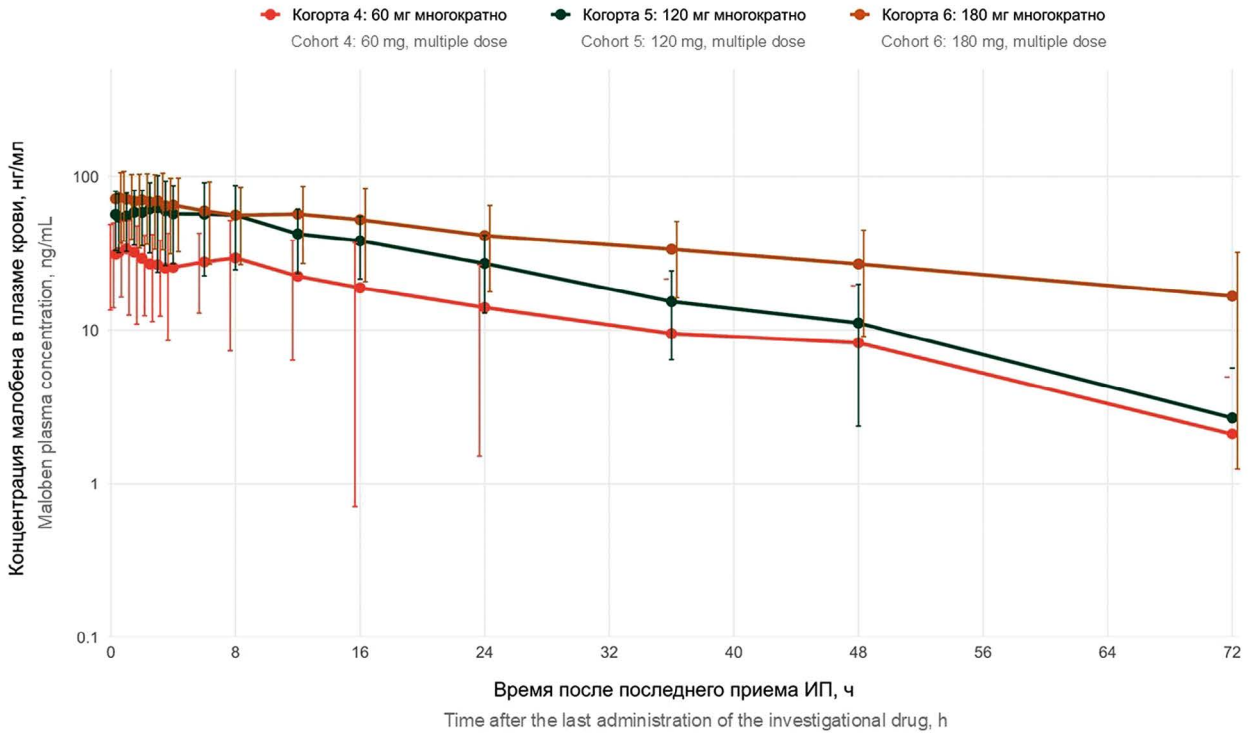
Б
B

Рисунок 1. Усредненные фармакокинетические профили малобена в линейной (А) и в полулогарифмической (Б) шкалах после однократного приема препарата «Малобен»

Figure 1. Average pharmacokinetic profiles of maloben in linear scale (A) and in semi-log scale (B) after single oral administration of Maloben



А
А



Б
В

Рисунок 2. Усредненные фармакокинетические профили малобена в линейной (А) и в полулогарифмической (Б) шкалах после многократного приема препарата «Малобен» в течение 7 дней

Figure 2. Average pharmacokinetic profiles of maloben in linear scale (A) and in semi-log scale (B) following multiple oral administration of Maloben over 7 days

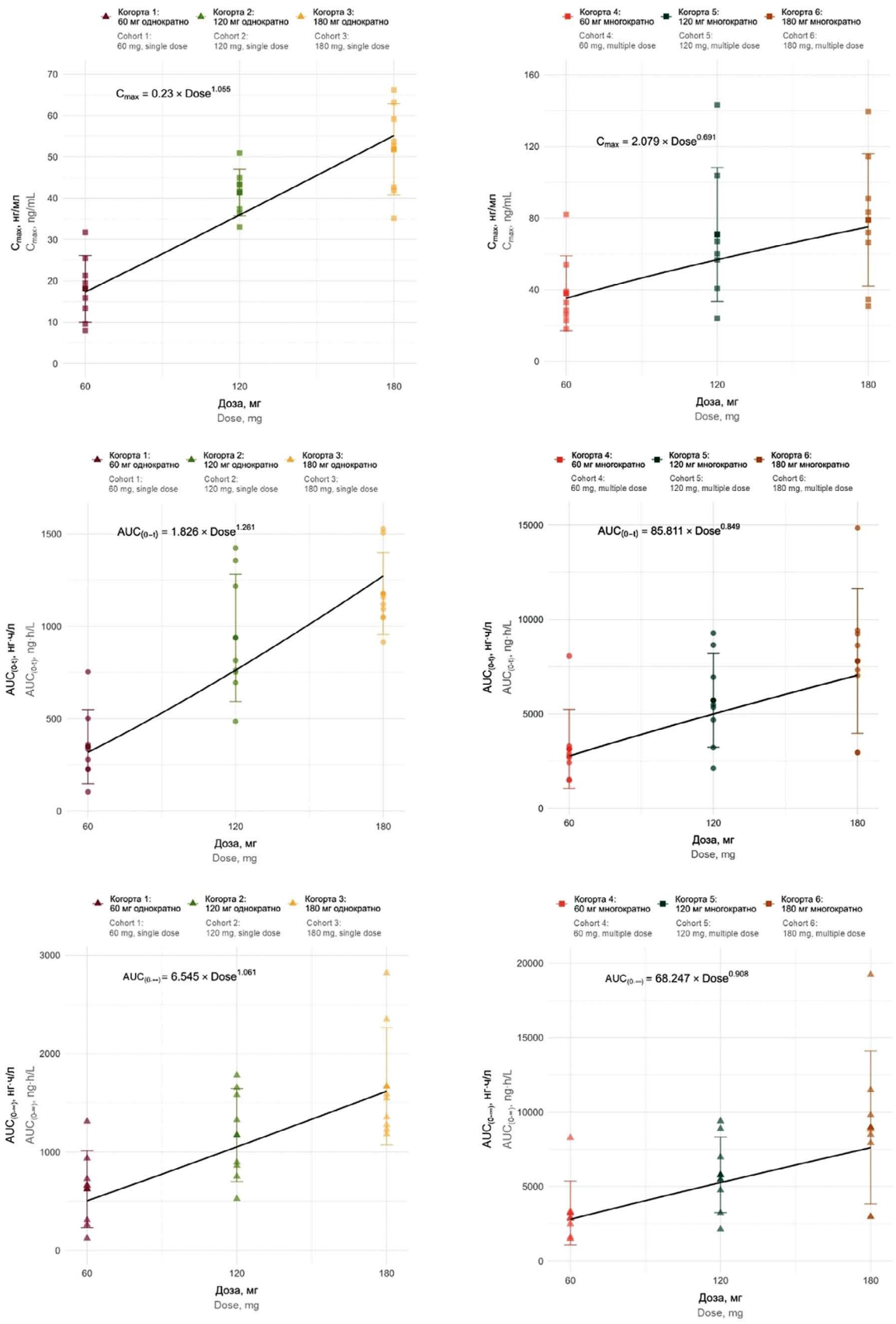


Рисунок 3. **Индивидуальные значения фармакокинетических параметров C_{max}, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-\infty)}$ со средними арифметическими значениями и стандартными отклонениями в когортах 1–6**

Figure 3. **Individual values of pharmacokinetic parameters C_{max}, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-\infty)}$ with Mean ± SD in cohorts 1–6**

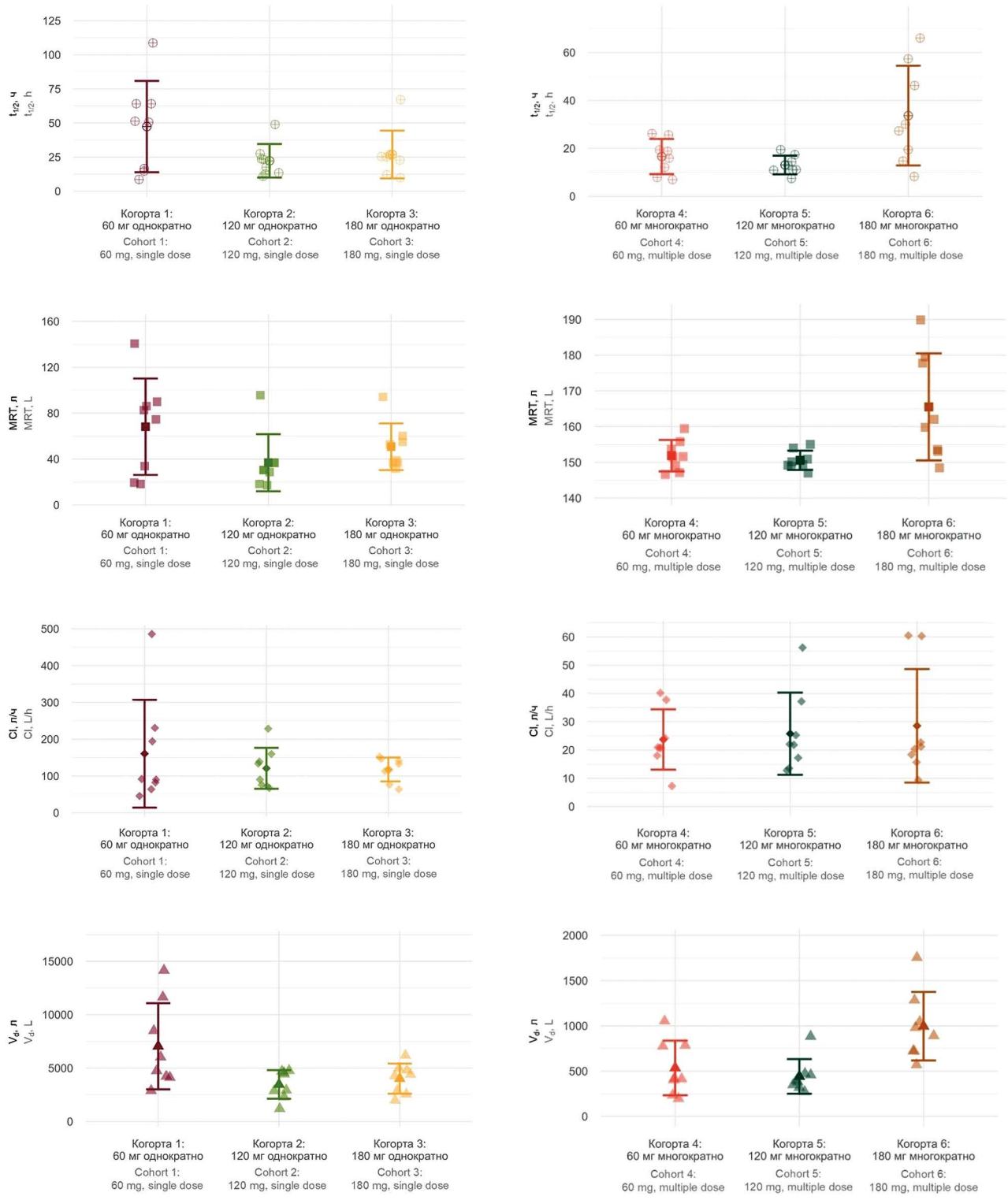


Рисунок 4. **Индивидуальные значения фармакокинетических параметров $t_{1/2}$, MRT, Cl, V_d со средними арифметическими значениями и стандартными отклонениями в когортах 1–6**

Figure 4. **Individual values of pharmacokinetic parameters $t_{1/2}$, MRT, Cl, V_d with Mean ± SD in cohorts 1–6**

Таблица 2. Оценка дозовой пропорциональности малобена на основе степенной модели

Table 2. Assessment of dose proportionality of maloben based on the power model

Режим дозирования Dosing regimen	**Фармакокинетический параметр** Pharmacokinetic parameter	**β (Mean ± SE)**	**90 % ДИ** 90 % CI	**Границы признания дозовой пропорциональности** Acceptance range of dose proportionality
Однократное дозирование (когорты 1–3) Single dosing (cohorts 1–3)	C_{max}	1,055 ± 0,145	0,807–1,303	[0,369; 1,631]
	$AUC_{(0-t)}$	1,261 ± 0,190	0,935–1,586	
	$AUC_{(0-\infty)}$	1,061 ± 0,241	0,647–1,475	
Многократное дозирование (когорты 4–6) Multiple dosing (cohorts 4–6)	C_{max}	0,691 ± 0,232	0,292–1,089	
	$AUC_{(0-t)}$	0,849 ± 0,234	0,447–1,251	
	$AUC_{(0-\infty)}$	0,908 ± 0,246	0,485–1,330	

Примечание. β – коэффициент дозовой пропорциональности; Mean – среднее арифметическое; SE – стандартная ошибка; CI – доверительный интервал. Границы признания дозовой пропорциональности рассчитаны по формуле:

$$\left[1+\frac{\ln(Q_L)}{\ln(R)};1+\frac{\ln(Q_U)}{\ln(R)}\right],$$

где R – отношение наибольшей и наименьшей изучаемых доз ($R = 3$); Q_L – нижняя граница ($Q_L = 0{,}5$); Q_U – верхняя граница ($Q_U = 2{,}0$) [33].

Note. β – dose proportionality coefficient; Mean –arithmetic mean, SE – standard error, CI – confident interval. The acceptance range of dose proportionality was calculated as

$$\left[1+\frac{\ln(Q_L)}{\ln(R)};1+\frac{\ln(Q_U)}{\ln(R)}\right],$$

where R – ratio of the highest to lowest administered doses ($R = 3$); Q_L – the lower critical limit ($Q_L = 0{,}5$); Q_U – the upper critical limit ($Q_U = 2{,}0$) [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были определены концентрации малобена в плазме крови методом ВЭЖХ-МС/МС и впервые изучена ФК малобена при различных режимах дозирования у добровольцев. Была установлена пропорциональная зависимость ФК-параметров C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ от величины дозы (линейность ФК) при однократном дозировании, $AUC_{(0-t)}$ и $AUC_{(0-\infty)}$ – при многократном дозировании в диапазоне изучаемых доз 60–180 мг. Полученные результаты позволяют перейти к следующему этапу КИ препарата малобена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cheemerla S., Balakrishnan M. Global epidemiology of chronic liver disease. *Clinical Liver Disease*. 2021;17(5):365–370. DOI: 10.1002/cld.1061.
2. 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.
3. Radu F., Potcovaru C. G., Salmen T., Filip P. V., Pop C., Fierbințeanu-Braticievici C. The link between NAFLD and metabolic syndrome. *Diagnostics*. 2023;13(4):614. DOI: 10.3390/diagnostics13040614.
4. Tokushige K., Ikejima K., Ono M., Eguchi Y., Kamada Y., Itoh Y., Akuta N., Yoneda M., Iwasa M., Yoneda M., Otsuka M. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis 2020. *Journal of Gastroenterology*. 2021;56(11):951–963. DOI: 10.1007/s00535-021-01796-x.
5. Tincopa M. A., Loomba R. Non-invasive diagnosis and monitoring of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2023;8(7):660–670. DOI: 10.1016/S2468-1253(23)00066-3.
6. Petrelli F., Manara M., Colombo S., De Santi G., Ghidini M., Mariani M., Iaculli A., Rausa E., Rampulla V., Arru M., Viti M. Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis: HCC and Steatosis or Steatohepatitis. *Neoplasia*. 2022;30:100809. DOI: 10.1016/j.neo.2022.100809.
7. Канорский С. Г. Неалкогольная жировая болезнь печени: современные подходы к диагностике и лечению. Южно-Российский журнал терапевтической практики. 2021;2(3):18–29. DOI: 10.21886/2712-8156-2021-2-3-18-29.
8. Lim S., Kim J. W., Targher G. Links between metabolic syndrome and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2021;32(7):500–514. DOI: 10.1016/j.tem.2021.04.008.

9. Powell E. E., Wong V. W., Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *The Lancet*. 2021;397(10290):2212–2224. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32511-3.
10. Moon A. M., Singal A. G., Tapper E. B. Contemporary epidemiology of chronic liver disease and cirrhosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2020;18(12):2650–2666. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.060.
11. Paternostro R., Trauner M. Current treatment of non- alcoholic fatty liver disease. *Journal of Internal Medicine*. 2022;292(2):190–204. DOI: 10.1111/joim.13531.
12. Teng M. L., Ng C. H., Huang D. Q., Chan K. E., Tan D. J., Lim W. H., Yang J. D., Tan E., Muthiah M. D. Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical and Molecular Hepatology*. 2022;29(Suppl):S32. DOI: 10.3350/cmh.2022.0365.
13. Киселева Е. В., Демидова Т. Ю. Неалкогольная жировая болезнь печени и сахарный диабет 2 типа: проблема сопряженности и этапности развития. *Ожирение и метаболизм*. 2021;18(3):313–319. DOI: 10.14341/omet12758.
14. Targher G., Corey K. E., Byrne C. D., Roden M. The complex link between NAFLD and type 2 diabetes mellitus – mechanisms and treatments. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2021;18:599–612. DOI: 10.1038/s41575-021-00448-y.
15. Петунина Н. А., Тельнова М. Э., Гончарова Е. В., Мартиросян Н. С., Кузина И. А. Неалкогольная жировая болезнь печени и сахарный диабет 2-го типа: общие подходы к выбору терапии. *Терапевтический архив*. 2022;94(10):1155–1162. DOI: 10.26442/00403660.2022.10.201921.
16. Targher G., Byrne C. D., Tilg H. NAFLD and increased risk of cardiovascular disease: clinical associations, pathophysiological mechanisms and pharmacological implications. *Gut*. 2020;69(9):1691–1705. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-320622.
17. Targher G., Corey K. E., Byrne C. D. NAFLD, and cardiovascular and cardiac diseases: Factors influencing risk, prediction and treatment. *Diabetes & Metabolism*. 2021;47(2):101215. DOI: 10.1016/j.diabet.2020.101215.
18. Буракова Л. Н., Николенко М. В., Школьникова М. Н., Рожнов Е. Д., Плотников Д. А. Влияние фактора питания на развитие метаболического синдрома. *Ползуновский вестник*. 2024;(3)82–89. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.03.012.
19. Mitrovic B., Gluvic Z. M., Obradovic M., Radunovic M., Rizzo M., Banach M., Isenovic E.R. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: where do we stand today? *Archives of Medical Science*. 2022;19(4):884. DOI: 10.5114/aoms/150639.
20. Белых М. А. Влияние 4, 4›-(пропандиамидо) дибензоата натрия на проявления экспериментального неалкогольного стеатогепатита. *Биомедицина*. 2021;17(3):95–99. DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-95-99.
21. Оковитый С. В., Ивкин Д. Ю., Анисимова Н. А., Белых М. А., Спасенкова О. М., Кириллова Н. В., Яковлев И. П., Чернов Н. М. Антистеатозное средство. Патент РФ на изобретение № RU 2702003 C1. 18.03.2019. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2702003C1/ru. Ссылка активна на 15.11.2024.
22. Юсковец В. Н., Чернов Н. М., Яковлев И. П., Наркевич И. А. Способ получения 4,4′-(пропандиамидо)дибензоата натрия. Патент РФ на изобретение № RU 2624729 C1. 21.06.2016. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2624729C1/ru Ссылка активна на 15.11.2024.
23. Елецкая Е. И., Семивеличенко Е. Д., Сипкина Н. Ю. Исследование фармакокинетических параметров 4,4′-(пропандиамидо)дибензоата натрия (Малобен). В сб.: Сборник материалов I Всероссийской научной конференции «От молекулы до лекарственного препарата». 27 октября 2023. СПб.: СПХФУ; 2023. С. 12–16.
24. Бажанова Е. Д., Оковитый С. В., Белых М. А. Влияние 4,4′-(пропандиамидо) дибензоата натрия и метформина на динамику апоптоза и пролиферации гепатоцитов у мышей с сахарным диабетом и ожирением. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018;81(5):17–20. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-5-17-20.
25. Белых М. А., Булыгина А. А., Виноградова В. А. Влияние нового производного малоновой кислоты на массу жировой ткани мышей C57BL/6 при экспериментальном стеатозе. В сб.: Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации». 8–9 ноября 2017. СПб.: СПХФА; 2017. С. 112–116.
26. Ивкин Д. Ю., Гришина А. Ю. Основные фармакологические и токсикологические характеристики малобена. В сб.: II Всероссийской научной конференции "От молекулы до лекарственного препарата». 23 сентября 2024. СПб.: СПХФУ; 2024. С. 36–38.
27. Ли А. О., Спасенкова О. М., Кириллова Н. В., Анисимова Н. А. Влияние экспериментального вещества малобена на перекисное окисление липидов и активность ферментов антиоксидантной защиты при экспериментальной гипергликемии. В сб.: Материалов международной конференции,посвященной 60-летию фармацевтического факультета «Современные достижения фармацевтической науки и практики». 31 октября 2019. Витебск: Витеб. гос. мед. ун-т; 2019. С. 19–21.
28. Генералова Ю. Э., Тернинко И. И., Зеленцова А. Б. Сквозная стандартизация оригинальных лекарственных средств при определении родственных примесей. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):209–216. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1573.
29. Ежова А. О. Изучение гипогликемической активности 4,4′-(пропандиамидо)дибензоата натрия на модели адреналиновой гипергликемии. В сб.: Итоги конкурсной программы научных работ XIII Всероссийской научной конференции школьников, студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». 1–11 марта 2023. СПб.: СПХФУ; 2023. С. 89–93.
30. Кириллова Н. В., Спасенкова О. М., Ли А. О. Влияние малобена на содержание общих липидов и гликогена в печени и мышцах при экспериментальном стеатозе печени. В сб.: Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине». 3 декабря 2020. СПб.: СЗГМУ им. И. И. Мечникова; 2020. С. 91–93.
31. Анисимова Н. А., Ежова А. О. Изучение гипогликемизирующей активности комбинаций малобена с синтетическими противодиабетическими препаратами на стрептозоциновой модели сахарного диабета. *Биомедицина*. 2024;20(S3):151–155. DOI: 10.33647/2713-0428-20-3E-151-155.

32. Smith B. P., Vandenhende F. R., DeSante K. A., Farid N. A., Welch P. A., Callaghan J. T., Forgue S. T. Confidence interval criteria for assessment of dose proportionality. *Pharmaceutical Research*. 2000;17(10):1278–1283. DOI: 10.1023/a:1026451721686.
33. Hummel J., McKendrick S., Brindley C., French R. Exploratory assessment of dose proportionality: review of current approaches and proposal for a practical criterion. *Pharmaceutical Statistics*. 2009;8(1):38–49. DOI: 10.1002/pst.326.

REFERENCES

1. Cheemerla S., Balakrishnan M. Global epidemiology of chronic liver disease. *Clinical Liver Disease*. 2021;17(5):365–370. DOI: 10.1002/cld.1061.
2. 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.
3. Radu F., Potcovaru C. G., Salmen T., Filip P. V., Pop C., Fierbinţeanu-Braticievici C. The link between NAFLD and metabolic syndrome. *Diagnostics*. 2023;13(4):614. DOI: 10.3390/diagnostics13040614.
4. Tokushige K., Ikejima K., Ono M., Eguchi Y., Kamada Y., Itoh Y., Akuta N., Yoneda M., Iwasa M., Yoneda M., Otsuka M. Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis 2020. *Journal of Gastroenterology*. 2021;56(11):951–963. DOI: 10.1007/s00535-021-01796-x.
5. Tincopa M. A., Loomba R. Non-invasive diagnosis and monitoring of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2023;8(7):660–670. DOI: 10.1016/S2468-1253(23)00066-3.
6. Petrelli F., Manara M., Colombo S., De Santi G., Ghidini M., Mariani M., Iaculli A., Rausa E., Rampulla V., Arru M., Viti M. Hepatocellular carcinoma in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis: HCC and Steatosis or Steatohepatitis. *Neoplasia*. 2022;30:100809. DOI: 10.1016/j.neo.2022.100809.
7. Kanorskiy S. G. Non-alcoholic fatty liver disease: current approaches to diagnosis and treatment. *Yuzhno-Rossiyskiy zhurnal terapevticheskoy praktiki*. 2021;2(3):18–29. (In Russ.) DOI: 10.21886/2712-8156-2021-2-3-18-29.
8. Lim S., Kim J. W., Targher G. Links between metabolic syndrome and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2021;32(7):500–514. DOI: 10.1016/j.tem.2021.04.008.
9. Powell E. E., Wong V. W., Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *The Lancet*. 2021;397(10290):2212–2224. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32511-3.
10. Moon A. M., Singal A. G., Tapper E. B. Contemporary epidemiology of chronic liver disease and cirrhosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2020;18(12):2650–2666. DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.060.
11. Paternostro R., Trauner M. Current treatment of non- alcoholic fatty liver disease. *Journal of Internal Medicine*. 2022;292(2):190–204. DOI: 10.1111/joim.13531.
12. Teng M. L., Ng C. H., Huang D. Q., Chan K. E., Tan D. J., Lim W. H., Yang J. D., Tan E., Muthiah M. D. Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical and Molecular Hepatology*. 2022;29(Suppl):S32. DOI: 10.3350/cmh.2022.0365.
13. Kiseleva E. V., Demidova T. Yu. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: the problem of conjugation and stages of development. *Ozhirenie i metabolizm*. 2021;18(3):313–319. (In Russ.) DOI: 10.14341/omet12758.
14. Targher G., Corey K. E., Byrne C. D., Roden M. The complex link between NAFLD and type 2 diabetes mellitus – mechanisms and treatments. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2021;18:599–612. DOI: 10.1038/s41575-021-00448-y.
15. Petunina N. A., Tel'nova M. E., Goncharova E. V., Martirosyan N. S., Kuzina I. A. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: general approaches to the choice of therapy. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2022;94(10):1155–1162. (In Russ.) DOI: 10.26442/00403660.2022.10.201921.
16. Targher G., Byrne C. D., Tilg H. NAFLD and increased risk of cardiovascular disease: clinical associations, pathophysiological mechanisms and pharmacological implications. *Gut*. 2020;69(9):1691–1705. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-320622.
17. Targher G., Corey K. E., Byrne C. D. NAFLD, and cardiovascular and cardiac diseases: Factors influencing risk, prediction and treatment. *Diabetes & Metabolism*. 2021;47(2):101215. DOI: 10.1016/j.diabet.2020.101215.
18. Burakova L. N., Nikolenko M. V., Shkolnikova M. N., Plotnikov D. A. Influence of nutrition factor on development of metabolic syndrome. *Polzunovskiy vestnik*. 2024;(3):82–89. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2024.03.012.
19. Mitrovic B., Gluvic Z. M., Obradovic M., Radunovic M., Rizzo M., Banach M., Isenovic E.R. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: where do we stand today? *Archives of Medical Science*. 2022;19(4):884. DOI: 10.5114/aoms/150639.
20. Belykh M. A. Influence of sodium 4,4'-(propanediamido) dibenzoate on the manifestations of experimental nonalcoholic steatohepatitis. *Biomeditsina*. 2021;17(3):95–99. (In Russ.) DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-95-99.
21. Okovityi S. V., Ivkin D. Yu., Anisimova N. A., Belykh M. A., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Yakovlev I. P., Chernov N. M. Antisteatosis agent. Patent RUS № 2702003 C1. 18.03.2019. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2702003C1/ru. Accessed: 15.11.2024. (In Russ.)
22. Yuskovets V. N., Chernov N. M., Yakovlev I. P., Narkevich I. A. Method for producing sodium 4,4'-(propanediamido)dibenzoate. Patent RUS № 2624729 C1. 21.06.2016. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2624729C1/ru Accessed: 15.11.2024. (In Russ.)
23. Eletskaya E. I., Semivelichenko E. D., Sipkina N. Yu. Study of pharmacokinetic parameters of sodium 4,4′-(propanediamido)dibenzoate (Maloben). In: Collection of materials of the I All-Russian scientific conference "From molecule to drug". 27 October 2023. St. Petersburg: SPKhFU; 2023. P. 12–16. (In Russ.)
24. Bazhanova E. D., Okovityi S. V., Belykh M. A. Effect of sodium 4,4'-(propanediamido)dibenzoate and metformin on the dynamics of apoptosis and proliferation of hepatocytes in mice with diabetes and obesity. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2018;81(5):17–20. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-5-17-20.
25. Belykh M. A., Bulygina A. A., Vinogradova V. A. Effect of a new malonic acid derivative on adipose tissue mass in C57BL/6 mice with experimental steatosis. In: Collection of materials of the V All-Russian scientific and practical

conference with international participation «Innovations in the health of the nation». 8–9 November 2017. St. Petersburg: SPKhFA; 2017. P. 112–116. (In Russ.)
26. Ivkin D. Yu., Grishina A. Yu. Main pharmacological and toxicological characteristics of Maloben. In: II All-Russian scientific conference "From molecule to drug". 23 September 2024. St. Petersburg: SPKhFU; 2024. P. 36–38. (In Russ.)
27. Li A. O., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Anisimova N. A. Effect of the experimental substance Maloben on lipid peroxidation and activity of antioxidant defense enzymes in experimental hyperglycemia. In: Proceedings of the international conference dedicated to the 60th anniversary of the Faculty of Pharmacy "Modern Achievements of Pharmaceutical Science and Practice". 31 October 2019. Vitebsk: Vitebsk State Medical University; 2019. P. 19–21. (In Russ.)
28. Generalova Yu. E., Terninko I. I., Zelentsova A. B. End-to-end standardization of original drugs in the determination of related impurities. *Drug development & registration*. 2023;12(4):209–216. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1573.
29. Ezhova A. O. Study of the hypoglycemic activity of sodium 4,4'-(propanediamido)dibenzoate in the model of adrenaline hyperglycemia. In: Results of the competition program of scientific works of the XIII All-Russian scientific conference of schoolchildren, students and postgraduates with international participation «Young pharmacy – potential of the future». 1–11 March 2023. SPb.: SPHFU; 2023. P. 89–93. (In Russ.)
30. Kirillova N. V., Spasenkova O. M., Li A. O. Effect of Maloben on the content of total lipids and glycogen in the liver and muscles in experimental liver steatosis. In: All-Russian scientific and practical conference with international participation "Modern achievements of chemical and biological sciences in preventive and clinical medicine". 3 December 2020. SPb.: I. I. Mechnikov North-Western State Medical University; 2020. P. 91–93. (In Russ.)
31. Anisimova N. A., Ezhova A. O. Study of the hypoglycemic activity of combinations of Maloben with synthetic antidiabetic drugs in a streptozotocin model of diabetes mellitus. *Biomeditsina*. 2024;20(S3):151–155. (In Russ.) DOI: 10.33647/2713-0428-20-3E-151-155.
32. Smith B. P., Vandenhende F. R., DeSante K. A., Farid N. A., Welch P. A., Callaghan J. T., Forgue S. T. Confidence interval criteria for assessment of dose proportionality. *Pharmaceutical Research*. 2000;17(10):1278–1283. DOI: 10.1023/a:1026451721686.
33. Hummel J., McKendrick S., Brindley C., French R. Exploratory assessment of dose proportionality: review of current approaches and proposal for a practical criterion. *Pharmaceutical Statistics*. 2009;8(1):38–49. DOI: 10.1002/pst.326.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.12

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2166

Check for updates

CC BY 4.0

Реализация принципов надлежащей исследовательской практики на примере системы менеджмента качества университета

И. С. Гиба✉, А. Е. Пронских, М. В. Минтель, А. А. Чувашов

Научно-технологический университет «Сириус». 354340, Россия, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., д. 1

✉ **Контактное лицо:** Гиба Иван Сергеевич. **E-mail:** giba.is@talantiuspeh.ru

ORCID: И. С. Гиба – https://orcid.org/0000-0002-0152-9841;
А. Е. Пронских – https://orcid.org/0009-0006-2361-0583;
М. В. Минтель – https://orcid.org/0009-0009-9106-0116;
А. А. Чувашов – https://orcid.org/0009-0006-5528-150X.

Статья поступила: 14.08.2025 **Статья принята в печать:** 14.11.2025 **Статья опубликована:** 14.11.2025

Резюме

Введение. Обеспечение качества исследовательских работ является ключевым фактором научных открытий, а также появления на рынке инновационных высокомаржинальных продуктов. В связи с особенностью научно-исследовательской деятельности единые правила по организации и проведению исследований, удовлетворяющие потребностям как научных групп, так и бизнеса, заинтересованного в коммерциализации разработок, в том числе разработок, связанных с лекарственными средствами, в данный момент отсутствуют, а индивидуальные подходы только формируются. Совокупность сложившихся подходов и концепций, согласно существующей системе надлежащих практик (GxP), получила название «Надлежащая исследовательская практика», или GRP.

Цель. Обобщение существующих мировых трендов в области надлежащей исследовательской практики и описание реализации принципов GRP на примере системы менеджмента качества лабораторного комплекса Университета «Сириус».

Материалы и методы. Методы реализации принципов GRP в лабораторном комплексе базируются на требованиях ISO 9001 и рекомендациях ICH в таких областях, как управление документами и записями, управление персоналом и обучением, управление аудитами и инспекциями, управление рисками, анализ и оценка результативности и эффективности деятельности.

Результаты и обсуждение. Проанализированы текущие принципы GRP, сформированные в рамках национальных научных сообществ, отдельных университетов и государственных программ. На базе лабораторного комплекса Университета «Сириус» рассмотрены возможности и примеры комплексной имплементации GRP в такие области системы менеджмента качества, как управление документами и записями, управление персоналом и обучением, управление аудитами и инспекциями, управление рисками, проведение периодического анализа и оценки результативности и эффективности деятельности.

Заключение. Описанный в статье подход к проведению научно-исследовательских работ, основанный на комплексной имплементации GRP, является инструментом обеспечения качества исследований, необходимым как для сугубо научной деятельности, так и для успешного научно-прикладного взаимодействия между академической средой и фармацевтическими компаниями с целью ускорения вывода на рынок новых лекарственных средств и удовлетворения запроса пациентов.

Ключевые слова: надлежащая исследовательская практика, Good Research Practice (GRP), целостность данных (data integrity), ALCOA+, ISO 9001, система менеджмента качества, Good Documentation Practices (GDP)

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

Вклад авторов. И. С. Гиба – разработка концепции, анализ данных литературы и нормативных документов, написание текста рукописи. А. Е. Пронских и М. В. Минтель – написание текста рукописи. А. А. Чувашов – формулирование выводов, утверждение окончательной версии статьи для публикации.

© Гиба И. С., Пронских А. Е., Минтель М. В., Чувашов А. А., 2025
© Giba I. S., Pronskikh A. E., Mintel M. V., Chuvashov A. A., 2025

Для цитирования: Гиба И. С., Пронских А. Е., Минтель М. В., Чувашов А. А. Реализация принципов надлежащей исследовательской практики на примере системы менеджмента качества университета. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):295–306. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2166

Implementation of the good research practice principles using the example of the university quality management system

Ivan S. Giba✉, Aleksandra E. Pronskikh, Marina V. Mintel, Anton A. Chuvashov

Sirius University of Science and Technology. 1, Olimpiyskiy prospect, 354340, Russia, federal territory "Sirius", Krasnodar region, 354340, Russia

✉ **Corresponding author:** Ivan S. Giba. **E-mail:** giba.is@talantiuspeh.ru

ORCID: Ivan S. Giba – https://orcid.org/0000-0002-0152-9841;
Aleksandra E. Pronskikh – https://orcid.org/0009-0006-2361-0583;
Marina V. Mintel – https://orcid.org/0009-0009-9106-0116;
Anton A. Chuvashov – https://orcid.org/0009-0006-5528-150X.

Received: 14.08.2025 **Accepted:** 14.11.2025 **Published:** 14.11.2025

Abstract

Introduction. The quality assurance of research work is a key factor in scientific discoveries, as well as the emergence of innovative high-margin products on the market. Due to the specific nature of the scientific research field, there are currently no uniform rules for organizing and conducting research that meet the needs of both scientific groups and businesses interested in the commercialization of developments, including drug developments, and individual approaches are only being formed. The set of established approaches and concepts, according to the existing system of good practices (GxP), is called "Good Research Practice" or GRP.

Aim. Generalization of existing global trends in the field of Good Research Practice and description of the implementation of GRP principles using the example of the quality management system of the Sirius University Laboratory Facility.

Materials and methods. The methods of GRP principles implementation in the Laboratory Complex are based on the requirements of ISO 9001 and ICH recommendations in such areas as document and record management, personnel and training management, audit and inspection management, risk management, analysis and evaluation of performance and efficiency.

Results and discussion. The current principles of GRP, formed within the framework of national scientific communities, individual universities and state programs, are analyzed. Using the example of the Laboratory Facility of the Sirius University, the possibilities and examples of complex implementation of GRP in such areas of the quality management system as document and record management, personnel and training management, audit and inspection management, risk management, conducting periodic analysis and assessment of the effectiveness and efficiency of activities are considered.

Conclusion. The approach to conducting scientific research work described in the article, based on the integrated implementation of GRP, is a tool for ensuring the quality of research, necessary both for purely scientific activities and for successful scientific and applied interaction between the academic environment and pharmaceutical companies in order to accelerate the launch of new drugs to the market and meet patient demand.

Keywords: Good Research Practice (GRP), data integrity, ALCOA+, ISO 9001, quality management system, Good Documentation Practices (GDP)

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 S. Giba – concept development, analysis of literature and regulatory documents, drafted the manuscript. Aleksandra E. Pronskikh and Marina V. Mintel – drafted the manuscript. Anton A. Chuvashov – formulated the conclusions and approved the final version of the manuscript for publication.

For citation: Giba I. S., Pronskikh A. E., Mintel M. V., Chuvashov A. A. Implementation of the good research practice principles using the example of the university quality management system. *Drug development & registration*. 2025;14(4):295–306. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2166

ВВЕДЕНИЕ

В условиях динамично меняющейся экономической ситуации наблюдается значительный рост интереса к фармацевтической разработке лекарственных средств как со стороны государственных структур, так и со стороны частного сектора [1, 2]. Этот интерес стимулирует компании к поиску решений в области фармацевтической разработки с привлечением как внутренних ресурсов, так и аутсорсинговых услуг.

Создание собственных научно-исследовательских центров (R&D-центров) требует значительных финансовых вложений, а бизнес-стратегия развития продуктового портфеля часто предполагает выпуск различных видов лекарственных средств, что делает быстрое перепрофилирование разработки затруднительным. В связи с этим компании вынуждены передавать на аутсорсинг отдельные этапы фармацевтической разработки, такие как создание штаммов-продуцентов, разработка процессов культивирования и ферментации, выделение и очистка, а также разработка аналитических методик. В периоды кризисов, например во время пандемии COVID-19 [3–5], компании активно использовали готовые разработки, что позволило им оперативно реагировать на вызовы и адаптироваться к новым условиям.

Основными площадками, способными проводить подобные работы в Российской Федерации, традиционно являются высшие учебные заведения и научно-исследовательские институты [6–11]. Связано это, как правило, с наличием специфических компетенций, сформированных годами работы в определенной области науки, развитым парком специализированного исследовательского оборудования, кадровым потенциалом научного и профессорско-преподавательского состава, а также возможностью постоянно пополнять кадровый резерв за счет обучающихся и аспирантов [12].

Проблема заключается в том, что большинство существующих высших учебных заведений и научно-исследовательских институтов в России [13–17] и за рубежом [18–20] сосредоточены на проведении научных исследований, направленных на поддержание публикационной активности и наукометрических показателей. В то же время фармацевтические компании стремятся удовлетворить запросы врачей и пациентов, ускоряя выведение лекарственных средств на рынок. Для этого они проводят исследования ранних фаз, быстро переходят от лабораторных исследований к доклиническим (неклиническим), разрабатывают и внедряют технологические процессы и аналитические методики, включая новые подходы к разработке [21].

Однако, несмотря на различие целей, сотрудничество между академической средой и фармацевтическим бизнесом не является редкостью. При подобном взаимодействии со стороны фармацевтических компаний особое внимание уделяется рискам, связанным с достоверностью и целостностью данных.

Факты сознательной фальсификации и мошенничества, а также несознательной подмены и манипуляции данными, к сожалению, не редкость в академической среде. Вот только небольшая часть публикаций, где сами исследователи анализируют текущий рост фальсификаций в публикациях [22–28]. Это приводит к тому, что требования к проведению исследований, получению первичных данных, их обработке, а также формированию результатов и выводов в академической среде становятся жестче, а данные и результаты подлежат дополнительной верификации. Поэтому требования к академическому исследованию становятся сопоставимыми с требованиями к прикладным исследованиям для частных компаний.

Однако наука, в том числе фармацевтическая разработка, – это сложная творческая область поиска решений, заключать которую в оковы строгих норм и правил, подобных GMP, не представляется возможным. Для повышения эффективности исследовательской деятельности и укрепления доверия к научным результатам целесообразно следовать общим подходам к организации исследований и управлению данными, которые позволят унифицировать методологические стандарты и улучшить качество исследований научных коллективов.

Эти общие правила получили название Good Research Practice, или GRP.

Международный опыт

GRP – совокупность принципов управления исследованиями, целью которых является обеспечение достоверности и целостности научных данных.

GRP является частью семейства принципов надлежащих практик (Good Practices, GxP), однако, в отличие от четких и однозначных правил GMP[1], GCP[2], GLP[3], GVP[4] и проч., инициаторами которых в

[1] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года № 77 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза». Доступно по: https://docs.eaeunion.org/documents/306/2586/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[2] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 79 «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза». Доступно по: https://docs.eaeunion.org/documents/306/2587/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[3] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза». Доступно по: https://docs.eaeunion.org/documents/306/2588/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[4] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 87 «Об утверждении Правил надлежащей практики фармаконадзора Евразийского экономического союза». Доступно по: https://docs.eaeunion.org/documents/306/2594/ Ссылка активна на 14.08.2025.

разное время были государственные регуляторные органы, GRP является скорее совокупностью подходов и инструментов, направленных на обеспечение целостности научных данных, и не попадает под область государственного регулирования.

Интересно отметить, что мировая тенденция к формированию принципов GRP в академических сообществах и отдельных университетах возникла совсем недавно.

Правительственный орган по исследованиям и инновациям Великобритании (UK Research and Innovation, UKRI) в 2014 году выпустил политику (последнее обновление – 02.04.2024) и руководство (последнее обновление на момент подготовки статьи – 01.06.2023) в области GRP, целями которых являлась унификация подхода к исследовательской деятельности[1]. Позднее UKRI сформировала открытую базу документов, посвященных таким разделам GRP, как этические аспекты современных исследований, целостность данных, вовлечение в проведение исследований человека и животных, управление биологическими образцами и т. д.[2]

Используя принципы GRP UKRI, собственные правила установили такие университеты Великобритании, как Кембриджский университет[3], Оксфордский университет[4], Бристольский университет[5], Ливерпульский университет[6] и многие другие.

Шаги, аналогичные UKRI в области GRP, провел Шведский совет по научным исследованиям (Swedish Research Council, SRC), создав в 2011 году собственные принципы GRP[7]. Ориентируясь на принципы GRP SRC, по пути формирования собственных рекомендаций по проведению научных исследований пошли такие университеты, как Стокгольмский университет[8], Университет Карлстада[9], Университет Линнеус[10] и др.

Несмотря на отсутствие принципов GRP на уровне национальных научных сообществ, собственные концепции GRP формируются университетами Германии, Ирландии, Швейцарии, Норвегии, Бельгии, Дании, Австрии, Нидерландов, Австралии, Сингапура и т. д.

Также развиваются совместные проекты частных фармацевтических компаний и государственных органов, регулирующих целостность данных. Примером может являться проект «Европейское качество доклинических данных» (European Quality In Preclinical Data, EQIPD)[11], образованный при European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (EFPIA), целью которого является формирование единой концепции системы качества целостности данных [29]. В рамках проекта EQIPD вышел единственный на данный момент сборник рекомендаций по GRP [30].

Национальный опыт

В Российской Федерации ситуация с принципами GRP схожа с международной (за исключением Великобритании и Швеции). На текущий момент со стороны регуляторных органов единые правила GRP как в национальном регуляторном поле, так и наднациональном по примеру GMP, GCP, GLP отсутствуют. Нет подобных рекомендаций и принципов со стороны государственных и частных научных объединений. Поэтому высшие учебные заведения и научно-исследовательские институты самостоятельно устанавливают тот объем правил, который они считают необходимым для проведения фундаментальных и/или прикладных исследований.

Так, в большинстве высших учебных заведений и научно-исследовательских институтов, где проводятся исследования с привлечением животных или че-

[1] Исследования и инновации Соединенного Королевства (UK Research and Innovation). Доступно по: https://www.ukri.org/who-we-are/mrc/our-policies-and-standards/research/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[2] UKRI. Good research resource hub. Available at: https://www.ukri.org/manage-your-award/good-research-resource-hub/ Accessed: 14.08.2025.

[3] Принципы GRP. Кембриджский университет (University of Cambridge). Доступно по: https://www.research-integrity.admin.cam.ac.uk/research-integrity-guidance/good-research-practice. Ссылка активна на 14.08.2025.

[4] Принципы GRP. Оксфордский университет (Oxford University). Доступно по: https://www.ox.ac.uk/research/support-researchers/research-practice. Ссылка активна на 14.08.2025.

[5] Принципы GRP. Бристольский университет (University of Bristol). Доступно по: https://www.bristol.ac.uk/research-enterprise-innovation/research-governance/practice-training/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[6] Принципы GRP. Ливерпульский университет (University of Liverpool). Доступно по: https://www.liverpool.ac.uk/research/research-environment/research-integrity/guidance/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[7] Шведский исследовательский совет (Swedish Research Council). Доступно по: https://www.vr.se/english/analysis/reports/our-reports/2017-08-31-good-research-practice.html. Ссылка активна на 14.08.2025.

[8] Принципы GRP. Стокгольмский университет (Stockholm University). Доступно по: https://medarbetare.su.se/en/research/research-integrity-ethics-and-legal-aspects/good-research-practice/good-research-practice-and-research-misconduct. Ссылка активна на 14.08.2025.

[9] Принципы GRP. Университет Карлстада (Karlstad University). Доступно по: https://www.kau.se/en/research/research-support/research-integrity/good-research-practice. Ссылка активна на 14.08.2025.

[10] Принципы GRP. Университет Линнеус (Linnaeus University). Доступно по: https://lnu.se/en/medarbetare/organisation/council-for-good-research-practice/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[11] Европейский проект по обеспечению качества данных доклинических исследований (European quality in preclinical data, EQIPD. Доступно по: https://quality-preclinical-data.eu. Ссылка активна на 14.08.2025.

ловека, для оценки гуманности создаются комиссии по биоэтике (например, комиссия по биоэтике МГУ[1], комиссия по биоэтике ПИМУ[2], комиссия по биоэтике Зоологического института РАН[3], комиссия по биоэтике ИБК РАН[4] и т. д.), деятельность которых базируется на принципах Хельсинской декларации[5] и документах Совета Европы в области защиты животных[6]. В образовательные программы высшего образования по таким специальностям, как 33.05.01 «Фармация», 06.04.01 «Биология» (фармацевтический профиль), 19.03.01 «Биотехнология» (фармацевтический профиль), 18.03.01 «Химическая технология» (фармацевтический профиль), высших учебных заведений, например РНИМУ им. Н. И. Пирогова, РТУ МИРЭА, ВятГУ, СПХФУ и т. п., включены требования по формированию у молодых специалистов навыков разработки, исследований и экспертизы лекарственных средств. Контролем целостности данных при проведении научных исследований преимущественно занимаются руководители отдельных научных групп, так как при публикации статей журналы запрашивают первичные данные в качестве доказательства подлинности исследований [31]. Вышеописанные примеры, которые, безусловно, относятся к принципам GRP, являются совокупностью сложившейся системы высшего образования и требований к проведению научных исследований, а качество их реализации зачастую зависит от индивидуальной инициативы отдельных ученых или научных групп.

В данной статье мы представляем один из вариантов системного введения принципов GRP, реализованный в лабораторном комплексе Университета «Сириус».

[1] Комиссия по биоэтике МГУ. Доступно по: https://bioethics.msu.ru/about/aims.php. Ссылка активна на 14.08.2025.

[2] Комиссия по биоэтике ПИМУ. Доступно по: https://ifm.pimunn.ru/bioethics-commission. Ссылка активна на 14.08.2025.

[3] Комиссия по биоэтике Зоологического института РАН. Доступно по: https://www.zin.ru/bioethics/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[4] Комиссия по биоэтике ИБК РАН. Доступно по: http://www.icb.pbcras.ru/?page_id=1483. Ссылка активна на 14.08.2025.

[5] Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей» (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Participants). Доступно по: https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki/ Ссылка активна на 14.08.2025.

[6] Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Council of Europe texts and documents in the field of the protection of animals). Доступно по: https://www.coe.int/T/E/Legal_affairs/Legal_co-operation/Biological_safety_and_use_of_animals/Laboratory_animals/ Ссылка активна на 14.08.2025.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Площадкой для внедрения принципов GRP выступил лабораторный комплекс Научно-технологического университета «Сириус». Назначением лабораторного комплекса НТУ «Сириус» является реализация сервисной модели научных услуг для внутренних и внешних заказчиков, а также создание и поддержание научно-исследовательской инфраструктуры.

Принципы GRP лабораторного комплекса включены в общую систему менеджмента качества Университета «Сириус» и базируются на ISO 9001 и рекомендациях ICH, а также включают лучшие практики из семейства надлежащих практик GxP.

Принципы GRP имплементированы в лабораторном комплексе и делятся на следующие разделы, которые будут подробно рассмотрены ниже:

- Управление документами и записями.
- Управление персоналом и обучением.
- Управление аудитами и инспекциями.
- Управление рисками.
- Периодический анализ и оценка результативности и эффективности деятельности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Управление документами и записями

Внедрение системы управления документами и записями позволяет, с одной стороны, систематизировать и упорядочить имеющийся набор документов, необходимых для фармацевтической разработки, а также обеспечить простой и открытый доступ к ним, с другой – обеспечить целостность и сохранность данных на бумажных и электронных носителях.

Система управления документами определяет виды используемой документации в лабораторном комплексе, порядок ее разработки, согласования, утверждения, введения, использования, хранения, ознакомления, пересмотра, аннулирования и архивирования.

Как и в системе управления документами GMP, документы лабораторного комплекса разделены на несколько уровней для удобства управления:

I. Уровень «Организационно-распорядительная документация»: распоряжения, планы развития, локальные нормативные акты, политика в области качества, цели в области качества и т. д.
II. Уровень «Документы, регламентирующие работу подразделений или кросс-функциональное взаимодействие»: регламенты подразделений, руководство по качеству, карты процессов.
III. Уровень «Стандартные операционные процедуры (далее – SOP), регулирующие систему качества» и «SOP, регулирующие общие и кросс-функциональные процессы».
IV. Уровень «SOP, регулирующие деятельность отдельных подразделений».

V. Уровень «Стандартные шаблоны и стандартные формы», а также документы подразделений, в том числе оформленные согласно стандартным формам и шаблонам.

Планы разработки и актуализации документов формируются подразделениями ежегодно, исходя из вышеперечисленных уровней.

Для удобства работы с документами введена единая система кодирования документов каждого уровня и отслеживания версионности.

Для согласования, подписания, регистрации, использования и хранения документов в лабораторном комплексе используется система электронного документооборота. Она позволяет снизить время введения документов в действие и повысить удобство ознакомления и использования.

Согласно концепции, представленной в [32], система управления документацией описывает порядок действий от формирования плана исследования, учитывая специфичность научной области, правила получения и обработки первичных данных, до формирования заключительного отчета. Помимо правил проведения исследования, система управления документацией также описывает требования к исследовательской инфраструктуре, а именно: эксплуатации и обслуживанию помещений, оборудования, инженерных систем, хранению и использованию реактивов и материалов, содержанию животных и т. д.

Система управления записями определяет подход к ведению бумажных и электронных записей, порядок их получения/внесения, обработки, исправления, в основу которого заложена концепция ALCOA+ [33, 34].

Система охватывает такие разделы, как оформление документов с помощью текстового редактора (общие требования, оформление иллюстраций, таблиц, примечаний, ссылок, формул и т. д.), внесение записей и исправлений от руки, принципы работы с электронными данными.

Описанная выше общая система управления документами и записями позволяет обеспечивать целостность бумажных и электронных данных и сформировать гармоничную иерархию документов, соответствующую структуре организации и современным требованиям к данной области.

Управление персоналом и обучением

Система управления персоналом и обучением необходима для обеспечения подразделений персоналом, обладающим достаточным набором навыков для реализации внутренних и внешних услуг, а также развития компетенций для расширения области заявленных работ.

Система управления персоналом и обучением является наиболее критической из систем, так как с наличием персонала и его компетентностью связаны основные риски и возможности реализации принципов GRP.

Она состоит из кадрового раздела, куда входят первичное обучение (программа адаптации) новых сотрудников и программа внутреннего и внешнего обучения, а также раздела увеличения эффективности работы кадров за счет средств мотивации и поощрений.

Первичное обучение каждый сотрудник проходит при приеме на работу. Цель проведения первичного обучения – ознакомление сотрудника с правилами работы в подразделении на занимаемой должности и проверка его навыков и компетенций согласно индивидуальной программе адаптации (рисунок 1).

Период адаптации начинается с момента ознакомления нового сотрудника с программой адаптации, оканчивается не позднее чем за 10 рабочих дней до истечения испытательного срока, составляющего в Университете «Сириус» три месяца с момента подписания трудового договора.

Каждому новому сотруднику назначается куратор, который формирует индивидуальную программу адаптации. Она включает в себя разделы охраны труда и техники безопасности, теоретических задач, практических задач и итогового интервью. Каждая задача должна обладать следующим набором атрибутов: конкретность, измеримость, достижимость, актуальность и ограниченность во времени.

В рамках прохождения раздела охраны труда и техники безопасности новые сотрудники осваивают навыки безопасного выполнения работ, использования средств индивидуальной защиты, оказания первой медицинской помощи. При выполнении теоретических задач сотрудники знакомятся с документами, необходимыми для работы согласно должности, проходят очное и онлайн-обучение с последующей проверкой знаний в рамках системы непрерывного обучения. При выполнении практических задач сотрудник выполняет конкретные задачи, релевантные его должностным обязанностям, проявляя приобретенные исследовательские навыки и развивая новые, а также расширяя технические знания и компетенции в области работы в проектных командах.

Оценку прохождения первичного обучения проводят на финальном интервью. В случае, если общий итог выполненных задач в теоретическом и/или практическом разделах составляет более 80 %, раздел считается завершенным успешно, а программа адаптации – пройденной.

Первичное обучение для всех новых сотрудников лабораторного комплекса было внедрено с начала 2024 года. За 2024 год программу адаптации прошли 26 сотрудников, за 2025 год – 19 (данные на 12.09.2025).

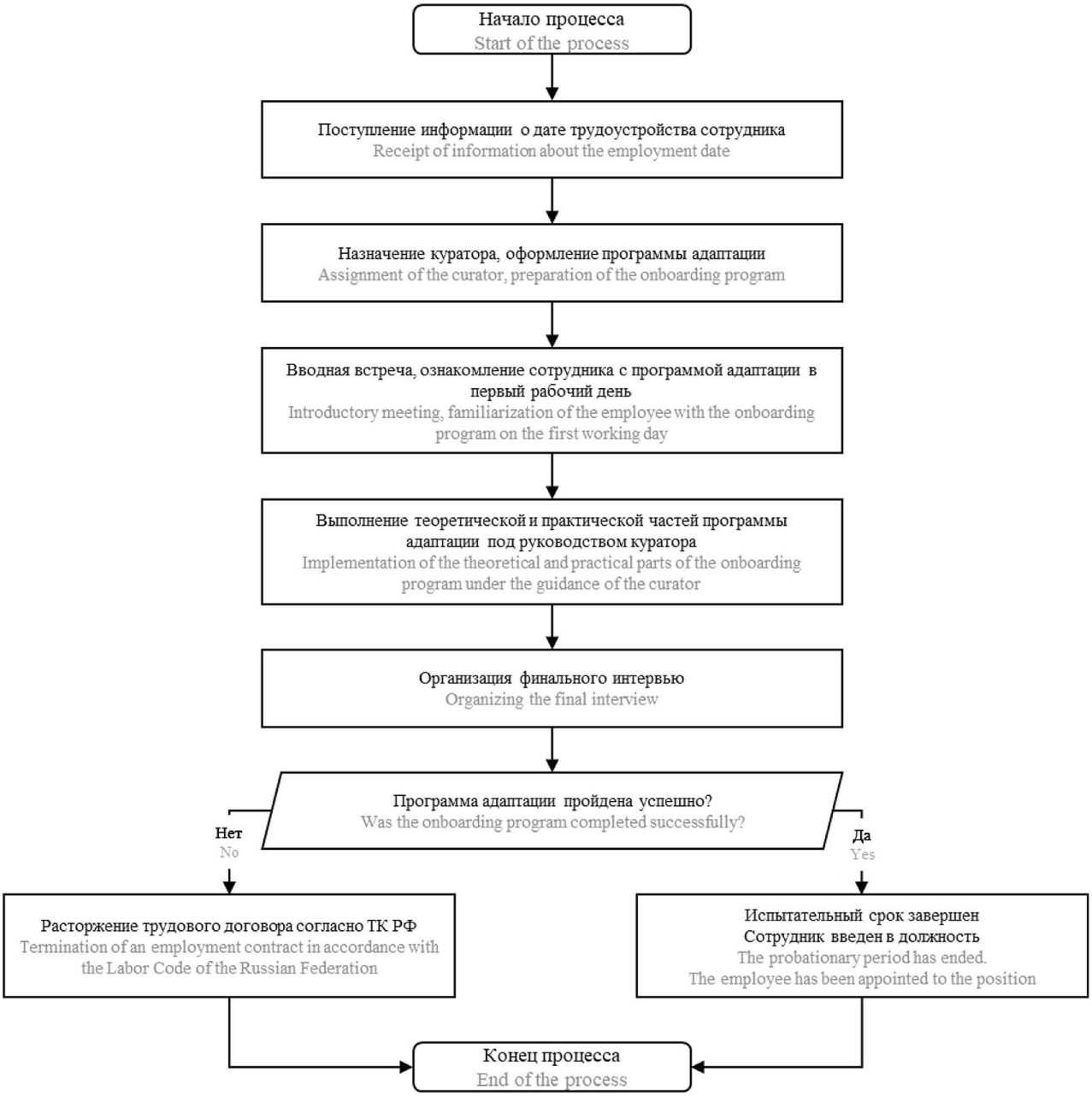


Рисунок 1. Блок-схема программы адаптации нового сотрудника

Figure 1. New employee onboarding program flowchart

Введение индивидуальной программы адаптации позволило руководителям подразделений визуализировать задачи и количественно оценить нового сотрудника, а сотрудникам получить четкие измеримые задачи, позволяющие сформировать представление о работе, а также куратора, с которым можно обсудить рабочие вопросы и трудности, возникающие в период испытательного срока, тем самым быстрее и эффективнее интегрироваться в команду и рабочий процесс.

Для проведения последующего обучения сотрудников составляются планы внутреннего и внешнего обучения. Внешнее обучение включает обязательное обучение для определенного типа работ, например для работы с сосудами под давлением и баллонами, работы на высоте, работы с патогенными биологическими агентами и т. д., а также обучение, целью которого является расширение навыков и компетенций сотрудников.

Внутреннее обучение направлено на формирование у сотрудников необходимых навыков для выполнения должностных обязанностей, а также передачу имеющихся знаний о процессах и процедурах.

Мотивация и поощрение сотрудников является инструментом управления со стороны руководителя подразделения. Они дают возможность персонализированно управлять вертикальным или горизонтальным карьерным ростом сотрудника, исходя из его потребностей и необходимости подразделения. К таким инструментам относятся различные компенсационные и некомпенсационные методы. Для периодического анализа работы сотрудников, оценки приобретенных навыков и компетенций, а также выбора методов мотивации и поощрения не реже 1 раза в 6 месяцев проводятся встречи по индивидуальному плану развития.

Управление аудитами и инспекциями

Система управления аудитами и инспекциями предназначена для контроля соблюдения введенных принципов, правил и требований как внутренними ресурсами лабораторного комплекса, так и со стороны внешних заказчиков и регуляторных органов.

В качестве подхода к формированию системы управления аудитами и инспекциями был взят стандарт ISO 19011[1]. Согласно ISO 19011 существует три типа аудитов:

- ✓ аудит первой стороной – внутренние аудиты. К ним относятся все аудиты, организуемые отделом обеспечения качества (далее – ООК) для подразделений лабораторного комплекса и научных направлений;
- ✓ аудит второй стороной – аудиты со стороны спонсоров/контрагентов;
- ✓ аудит третьей стороной – аудиты (инспекции) со стороны сертификационных или регуляторных органов.

Аудиты первой стороной (внутренние аудиты) проводятся для всех подразделений лабораторного комплекса. Также к внутренним аудитам относятся проверки, проводимые комиссией по контролю за соблюдением требований биологической безопасности.

Внутренний аудит подразделений лабораторного комплекса включает 3 области:

- ✓ общий аудит системы менеджмента качества;
- ✓ аудит отдельного процесса в рамках деятельности подразделения;
- ✓ проектный аудит.

Как правило, общий аудит системы менеджмента качества для каждого подразделения проводится не реже 1 раза в календарный год. Аудит отдельного процесса в рамках деятельности подразделения проводится по запросу руководителя подразделения. Инициатором проектного аудита выступает проектный менеджер.

[1] ISO 19011:2018. Guidelines for auditing management systems. International Organization for Standardization; 2018. Available at: https://www.iso.org/ru/standard/70017.html. Accessed: 14.08.2025.

К аудитам второй стороной относятся аудиты, проводимые со стороны спонсоров (контрагентов), где лабораторный комплекс выступает в качестве поставщика товаров и услуг. Аудит проводится по запросу заказчика (контрагента), как правило, в рамках заключенного соглашения по качеству между организациями. За организацию проведения аудита второй стороной поставщиков товаров и услуг лабораторного комплекса несет ответственность ООК.

Аудиты третьей стороной проводятся государственными органами или добровольными организациями по сертификации.

Результаты внутренних аудитов за 2024/2025 года приведены в таблице 1.

Таблица 1. Количество выявленных несоответствий в рамках внутренних аудитов

Table 1. Number of non-conformities identified during internal audits

Год Year	Общее кол-во аудитов Total number of audits	Выявленные несоответствия Identified non-conformities			
		критические critical	значительные major	незначительные minor	общее кол-во несоответствий total number of non-conformities
2024	21	15	35	29	79
2025	14*	1	20	24	45

Примечание. * На момент подготовки статьи программа аудитов 2025 года не завершена, аудиты продолжаются.

Note. * At the time of writing, the 2025 audit program has not been completed; audits are ongoing.

Так как на момент подготовки статьи программа аудитов 2025 года не завершена, для наглядности сравнения числа несоответствий по годам в таблице 2 приведено сравнение количества выявленных несоответствий по подразделениям, прошедшим аудит в 2024 и 2025 годах (таблица 2).

Сравнивая результаты внутренних аудитов 2024 и 2025 годов, мы наблюдаем как снижение общего числа выявленных несоответствий, так и уменьшение числа критических несоответствий (~92 %) и значительных несоответствий (~35 %), а также увеличение числа аудитов, пройденных без несоответствий, что свидетельствует о результативности разработанных корректирующих действий по устранению несоответствий, выявленных в 2024 году.

Управление рисками

Система управления рисками в первую очередь является удобным инструментом для идентификации, оценки и контроля рисков с целью решения единичных или системных задач.

Таблица 2. Суммарное количество выявленных несоответствий по подразделениям за 2024 и 2025 года

Table 2. Total number of identified non-conformities by divisions for 2024 and 2025

Год Year	Число аудитов Number of audits			Выявленные несоответствия Identified non-conformities			
	общее кол-во total number	без несоответствий without non-conformities	с несоответствиями with non-conformities	критические critical	значительные major	незначительные minor	общее кол-во несоответствий total number of non-conformities
2024	14	0	14	13	31	24	68
2025	14	3	11	1	20	24	45

Анализ рисков широко используется для всесторонней оценки деятельности подразделений, такой как комплектование лабораторных помещений, формирование системы доступа к помещениям исходя из области работ, предотвращение перекрестной контаминации, оценка готовности к этапам сертификации и лицензирования и т. д.

В лабораторном комплексе система управления рисками базируется на стандарте ICH Q9[1] и включает качественные методы, такие как анализ опасностей и критические контрольные точки (Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP), и количественные, например анализ видов и последствий отказов (Failure Mode and Effects Analysis, FMEA), анализ видов, последствий и критичности отказов (Failure Mode, Effects and Criticality Analysis, FMECA). Данные методы хорошо зарекомендовали себя в области фармацевтики [35, 36] и широко используются для оценки и формирования плана действий по управлению рисками.

В качестве примера управления рисками можно привести анализ рисков целостности данных компьютеризированных систем лабораторного комплекса. На подготовительном этапе компьютеризированные системы были распределены по 4 категориям согласно классификации ISPE GAMP5 и рекомендации Коллегии ЕЭК от 19.09.2023 № 25 «О Руководстве по обеспечению целостности данных и валидации компьютеризированных систем», после чего для каждой категории был проведен анализ рисков методом FMECA, где расчет приоритетного числа рисков проводился путем анализа 3 составляющих: тяжести, вероятности и выявляемости. При этом каждая из составляющих разделялась на 5 уровней:

- Тяжесть: незначительная, низкая, средняя, высокая, опасно высокая.
- Вероятность: крайне маловероятно, маловероятно, возможно, вероятно, весьма вероятно.
- Выявляемость: в ходе рутинной работы оператора, в ходе верификации работ, в ходе внутреннего аудита, на этапе оформления отчетной документации, выявлено заказчиком и/или регулятором.

Для каждой категории компьютеризированных систем риски оценивались по разделам:

- контроль доступа;
- ввод данных;
- сбор и обработка данных;
- контрольный след;
- резервное копирование и восстановление данных;
- архивирование данных.

Проведение анализа рисков целостности данных компьютеризированных систем позволило количественно оценить риски целостности данных и сформировать перечень требований к компьютеризированным системам для снижения предельного числа рисков в случаях, где оно превысило допустимые нормы.

Периодический анализ и оценка результативности и эффективности деятельности

Периодический анализ деятельности подразделений предназначен для оценки результативности и эффективности процессов, определения потребности в изменениях системы управления лабораторного комплекса и разработки действий по улучшению внутренних и внешних услуг.

Основные принципы проведения периодического анализа построены на основании требований ISO 9001:2015 и включают анализ таких показателей, как:

- выполнение целей и задач подразделений;
- выполнение ключевых показателей эффективности (Key Performance Indicator, KPI) подразделений в рамках внутренней и внешней деятельности;
- оценка удовлетворенности заказчиков и расчет индекса удовлетворенности (Customer Satisfaction Index, CSI);
- результаты аудитов и инспекций;
- возможности для улучшений.

Анализ проводится ежеквартально, как правило, в течение 2–3 недель, следующих за анализируемым периодом. Такой подход позволяет оперативно реагировать на изменения в работе подразделений и своевременно корректировать процессы. Также периодический анализ деятельности является отчетным документом лабораторного комплекса, который демонстрирует актуальную деятельность, нагрузку на подразделения и позволяет принимать стратегические решения для Университета «Сириус».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка общих принципов ведения научной деятельности является общим мировым трендом. Необходимость в них видят как научное сообщест-

[1] Q9 (R1). Quality Risk Management. ICH harmonised guideline. 2023. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q9%28R1%29_Guideline_Step4_2022_1219.pdf. Accessed: 14.08.2025.

во, так и представители частных компаний и государственных учреждений. Представленные в статье формирующиеся концепции и практики создания и применения GRP, а также изложенный отечественный опыт применения GRP-практик на примере системы менеджмента качества лабораторного комплекса Университета «Сириус» призваны показать, что обеспечение качества организации и проведения научных исследований, с одной стороны, является залогом достоверности и признания научно-исследовательских работ высших учебных заведений и научно-исследовательских институтов Российской Федерации, с другой – основой успешного сотрудничества и доверия между исследовательскими центрами и бизнесом, в том числе фармацевтическими компаниями, при проведении совместных исследований с целью вывода на рынок инновационных продуктов и удовлетворения запроса пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lexchin J., Bero L. A., Djulbegovic B., Clark O. Pharmaceutical industry sponsorship and research outcome and quality: systematic review. *BMJ*. 2003;326(7400):1167–1170. DOI: 10.1136/bmj.326.7400.1167.
2. Gersdorf T., He V. F., Schlesinger A., Koch G., Ehrismann D., Widmer H., von Krogh G. Demystifying industry-academia collaboration. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2019;18(10):743–744. DOI: 10.1038/d41573-019-00001-2.
3. Titball R. W., Bernstein D. I., Fanget N. V. J., Hall R. A., Longet S., MacAry P. A., Rupp R. E., van Gils M., von Messling V., Walker D. H., Barrett A. D. T. Progress with COVID vaccine development and implementation. *npj Vaccines*. 2024;9:69. DOI: 10.1038/s41541-024-00867-3.
4. Lee P., Kim C.-U., Seo S. H., Kim D.-J. Current status of COVID-19 vaccine development: focusing on antigen design and clinical trials on later stages. *Immune Network*. 2021;21(1):e4. DOI: 10.4110/in.2021.21.e4.
5. Imran M., Arora M. K., Asdaq S. M. B., Khan S. A., Alaqel S. I., Alshammari M. K., Alshehri M. M., Alshrari A. S., Ali A. M., Al-shammeri A. M., Alhazmi B. D., Harshan A. A., Alam M. T., Abida A. Discovery, development, and patent trends on molnupiravir: a prospective oral treatment for COVID-19. *Molecules*. 2021;26(19):5795. DOI: 10.3390/molecules26195795.
6. Ma Z., Augustijn K., de Esch I. J. P., Bossink B. Collaborative university–industry R&D practices supporting the pharmaceutical innovation process: Insights from a bibliometric review. *Drug Discovery Today*. 2022;27(8):2333–2341. DOI: 10.1016/j.drudis.2022.05.001.
7. Ferrins L., Pollastri M. P. The importance of collaboration between industry, academics, and nonprofits in tropical disease drug discovery. *ACS Infectious Diseases*. 2018;4(4):445–448. DOI: 10.1021/acsinfecdis.7b00208.
8. Melnychuk T., Schultz C., Wirsich A. The effects of university–industry collaboration in preclinical research on pharmaceutical firms' R&D performance: Absorptive capacity's role. *Journal of Product Innovation Management*. 2021;38:355–378. DOI: 10.1111/jpim.12572.
9. Abramo G., D'Angelo C. A., Di Costa F., Solazzi M. The role of information asymmetry in the market for university-industry research collaboration. *The Journal of Technology Transfer*. 2011;36(1):84–100. DOI: 10.1007/s10961-009-9131-5.
10. O'Dwyer M., Filieri R., O'Malley L. Establishing successful university–industry collaborations: barriers and enablers deconstructed. *The Journal of Technology Transfer*. 2023;48:900–931. DOI: 10.1007/s10961-022-09932-2.
11. Rosenblatt M. How academia and the pharmaceutical industry can work together: the president's lecture, annual meeting of the American Thoracic Society, San Francisco, California. *Annals of the American Thoracic Society*. 2013;10(1):31–38. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201209-075PS.
12. Scherer F. M. Research and development costs and productivity in biopharmaceuticals. In: Anthony J. Culyer, editor. Encyclopedia of Health Economics. Amsterdam: Elsevier; 2014. P. 249–255. DOI: 10.1016/B978-0-12-375678-7.01203-7.
13. Шаброва Н. В., Амбарова П. А. Публикационная активность студентов российских вузов *Образование и наука*. 2023;25(9):171–196. DOI: 10.17853/1994-5639-2023-9-171-196.
14. Полихина Н. А. Публикационная активность научно-педагогических работников в России: результаты, тенденции, проблемы. *Управление наукой и наукометрия*. 2020;15(2):196–222. DOI: 10.33873/2686-6706.2020.15-2.196-222.
15. Хрусталев М. Б., Турбина Н. Ю., Максимова А. А. Медицинские вузы России в международных рейтингах: сравнение наукометрических критериев. *Ученые записки Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова*. 2018;25(3):25–34. DOI: 10.24884/1607-4181-2018-25-3-25-34.
16. Гуськов А. Е., Косяков Д., Селиванова И. В. Стратегии повышения публикационной активности университетов – участников Проекта 5-100. *Научные и технические библиотеки*. 2017;(12):5–18. DOI: 10.33186/1027-3689-2017-12-5-18.
17. Халадов Х.-А. С. Головина И. В., Папуткова Г. А. Публикационная активность педагогических вузов: количественные и качественные показатели. *Высшее образование в России*. 2022;31(2):58–67. DOI: 10.31992/0869-3617-2022-31-2-58-67.
18. Shah F. A., Jawaid S. A. The h-index: An indicator of research and publication output. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2023;39(2):315–316. DOI: 10.12669/pjms.39.2.7398.
19. Akhtar M. K. The h-index is an unreliable research metric for evaluating the publication impact of experimental scientists. *Frontiers in Research Metrics and Analytics*. 2024;9:1385080. DOI: 10.3389/frma.2024.1385080.
20. Ofer D., Kaufman H., Linial M. What's next? Forecasting scientific research trends. *Heliyon*. 2024;10(1):e23781. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e23781.
21. Rantanen J., Khinast J. The future of pharmaceutical manufacturing sciences. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;104(11):3612–3638. DOI: 10.1002/jps.24594.
22. McMurray C. A scientific fraud. An investigation. A lab in recovery. *The Transmitter*. 2024. DOI: 10.53053/USNX9479.
23. Khajuria A., Agha R. Fraud in scientific research – birth of the Concordat to uphold research integrity in the United Kingdom. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2014;107(2):61–65. DOI: 10.1177/0141076813511452.

24. Wittau J., Seifert R. How to fight fake papers: a review on important information sources and steps towards solution of the problem. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2024;397:9281–9294. DOI: 10.1007/s00210-024-03272-8.
25. Frederickson R. M., Herzog R. W. Addressing the big business of fake science. *Molecular Therapy*. 2022;30(7):2390. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.06.001.
26. Montgomery Collins E., Bassat Q. The scientific integrity of journal publications in the age of "Fake News". *Journal of Tropical Pediatrics*. 2018;64(5):360–363. DOI: 10.1093/tropej/fmy039.
27. Parker L., Boughton S., Lawrence R., Bero L. Experts identified warning signs of fraudulent research: a qualitative study to inform a screening tool. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2022;151:1–17. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2022.07.006.
28. Sabel B. A., Knaack E., Gigerenzer G., Bilc M. Fake publications in biomedical science: red-flagging method indicates mass production. *medRxiv*. 2023. DOI: 10.1101/2023.05.06.23289563.
29. Bespalov A., Bernard R., Gilis A., Gerlach B., Guillén J., Castagné V., Lefevre I. A., Ducrey F., Monk L., Bongiovanni S., Altevogt B., Arroyo-Araujo M., Bikovski L., de Bruin N., Castaños-Vélez E., Dityatev A., Emmerich C. H., Fares R., Ferland-Beckham C., Froger-Colléaux C., Gailus-Durner V., Hölter S. M., Hofmann M. C. J., Kabitzke P., Kas M. J. H., Kurreck C., Moser P., Pietraszek M., Popik P., Potschka H., Montes de Oca E. P., Restivo L., Riedel G., Ritskes-Hoitinga M., Samardzic J., Schunn M., Stöger C., Voikar V., Vollert J., Wever K. E., Wuyts K., MacLeod M. R., Dirnagl U., Steckler T. Introduction to the EQIPD quality system. *eLife*. 2021;10:e63294. DOI: 10.7554/eLife.63294.
30. Bespalov A., Michel M. C., Steckler T., editors. Good research practice in non-clinical pharmacology and biomedicine. Cham: SpringerOpen; 2020. 423 p. DOI: 10.1007/978-3-030-33656-1.
31. Colavizza G., Hrynaszkiewicz I., Staden I., Whitaker K., McGillivray B. The citation advantage of linking publications to research data. *PLoS ONE*. 2020;15(4):e0230416. DOI: 10.1371/journal.pone.0230416.
32. Schwab S., Janiaud P., Dayan M., Amrhein V., Panczak R., Palagi P. M., Hemkens L. G., Ramon M., Rothen N., Senn S., Furrer E., Held L. Ten simple rules for good research practice. *PLoS Computational Biology*. 2022;18(6):e1010139. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010139.
33. Kavasidis I., Lallas E., Leligkou H. C., Oikonomidis G., Karydas D., Gerogiannis V. C., Karageorgos A. Deep transformers for computing and predicting ALCOA+ data integrity compliance in the pharmaceutical industry. *Applied Sciences*. 2023;13(13):7616. DOI: 10.3390/app13137616.
34. Gokulakrishnan D., Venkataraman S. Ensuring data integrity: best practices and strategies in pharmaceutical industry. *Intelligent Pharmacy*. 2025:3(4):296–303. DOI: 10.1016/j.ipha.2024.09.010.
35. Mollah A. H., Long M., Baseman H. S., editors. Risk management applications in pharmaceutical and biopharmaceutical manufacturing. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.; 2013. 432 p. DOI: 10.1002/9781118514399.
36. Sandle T. Risk management and risk assessment for pharmaceutical manufacturing: a contamination control perspective. London: CreateSpace; 2013. 168 p.

REFERENCES

1. Lexchin J., Bero L. A., Djulbegovic B., Clark O. Pharmaceutical industry sponsorship and research outcome and quality: systematic review. *BMJ*. 2003;326(7400):1167–1170. DOI: 10.1136/bmj.326.7400.1167.
2. Gersdorf T., He V. F., Schlesinger A., Koch G., Ehrismann D., Widmer H., von Krogh G. Demystifying industry-academia collaboration. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2019;18(10):743–744. DOI: 10.1038/d41573-019-00001-2.
3. Titball R. W., Bernstein D. I., Fanget N. V. J., Hall R. A., Longet S., MacAry P. A., Rupp R. E., van Gils M., von Messling V., Walker D. H., Barrett A. D. T. Progress with COVID vaccine development and implementation. *npj Vaccines*. 2024;9:69. DOI: 10.1038/s41541-024-00867-3.
4. Lee P., Kim C.-U., Seo S. H., Kim D.-J. Current status of COVID-19 vaccine development: focusing on antigen design and clinical trials on later stages. *Immune Network*. 2021;21(1):e4. DOI: 10.4110/in.2021.21.e4.
5. Imran M., Arora M. K., Asdaq S. M. B., Khan S. A., Alaqel S. I., Alshammari M. K., Alshehri M. M., Alshrari A. S., Ali A. M., Al-shammeri A. M., Alhazmi B. D., Harshan A. A., Alam M. T., Abida A. Discovery, development, and patent trends on molnupiravir: a prospective oral treatment for COVID-19. *Molecules*. 2021;26(19):5795. DOI: 10.3390/molecules26195795.
6. Ma Z., Augustijn K., de Esch I. J. P., Bossink B. Collaborative university–industry R&D practices supporting the pharmaceutical innovation process: Insights from a bibliometric review. *Drug Discovery Today*. 2022;27(8):2333–2341. DOI: 10.1016/j.drudis.2022.05.001.
7. Ferrins L., Pollastri M. P. The importance of collaboration between industry, academics, and nonprofits in tropical disease drug discovery. *ACS Infectious Diseases*. 2018;4(4):445–448. DOI: 10.1021/acsinfecdis.7b00208.
8. Melnychuk T., Schultz C., Wirsich A. The effects of university–industry collaboration in preclinical research on pharmaceutical firms' R&D performance: Absorptive capacity's role. *Journal of Product Innovation Management*. 2021;38:355–378. DOI: 10.1111/jpim.12572.
9. Abramo G., D'Angelo C. A., Di Costa F., Solazzi M. The role of information asymmetry in the market for university-industry research collaboration. *The Journal of Technology Transfer*. 2011;36(1):84–100. DOI: 10.1007/s10961-009-9131-5.
10. O'Dwyer M., Filieri R., O'Malley L. Establishing successful university–industry collaborations: barriers and enablers deconstructed. *The Journal of Technology Transfer*. 2023;48:900–931. DOI: 10.1007/s10961-022-09932-2.
11. Rosenblatt M. How academia and the pharmaceutical industry can work together: the president's lecture, annual meeting of the American Thoracic Society, San Francisco, California. *Annals of the American Thoracic Society*. 2013;10(1):31–38. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201209-075PS.
12. Scherer F. M. Research and development costs and productivity in biopharmaceuticals. In: Anthony J. Culyer, editor. Encyclopedia of Health Economics. Amsterdam: Elsevier; 2014. P. 249–255. DOI: 10.1016/B978-0-12-375678-7.01203-7.
13. Shabrova N. V., Ambarova P. A. Publication activity of Russian university students. *The Education and science journal*. 2023;25(9):171–196. (In Russ.) DOI: 10.17853/1994-5639-2023-9-171-196.

14. Polikhina N. A. Publication activity of academic staff in Russia: results, trends, problems. *Science Governance and Scientometrics*. 2020;15(2):196–222. (In Russ.) DOI: 10.33873/2686-6706.2020.15-2.196-222.
15. Khrustalev M. B., Turbina N. Yu., Maksimova A. A. Russian medical universities in international rankings: comparison of scientometric criteria. *The Scientific Notes of the Pavlov University*. 2018;25(3):25–34. (In Russ.) DOI: 10.24884/1607-4181-2018-25-3-25-34.
16. Guskov A., Kosyakov D., Selivanova I. Strategies to improve publication activities of the universities participating in Project 5-100. *Scientific and Technical Libraries*. 2017;(12):5–18 (In Russ.) DOI: 10.33186/1027-3689-2017-12-5-18.
17. Khaladov Kh.-A. S., Golovina I. V., Paputkova G. A. Publication activity of pedagogical universities: quantitative and qualitative indicators. Higher Education in Russia. 2022;31(2):58–67. (In Russ.) DOI: 10.31992/0869-3617-2022-31-2-58-67.
18. Shah F. A., Jawaid S. A. The h-index: An indicator of research and publication output. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2023;39(2):315–316. DOI: 10.12669/pjms.39.2.7398.
19. Akhtar M. K. The h-index is an unreliable research metric for evaluating the publication impact of experimental scientists. *Frontiers in Research Metrics and Analytics*. 2024;9:1385080. DOI: 10.3389/frma.2024.1385080.
20. Ofer D., Kaufman H., Linial M. What's next? Forecasting scientific research trends. *Heliyon*. 2024;10(1):e23781. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e23781.
21. Rantanen J., Khinast J. The future of pharmaceutical manufacturing sciences. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;104(11):3612–3638. DOI: 10.1002/jps.24594.
22. McMurray C. A scientific fraud. An investigation. A lab in recovery. *The Transmitter*. 2024. DOI: 10.53053/USNX9479.
23. Khajuria A., Agha R. Fraud in scientific research – birth of the Concordat to uphold research integrity in the United Kingdom. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2014;107(2):61–65. DOI: 10.1177/0141076813511452.
24. Wittau J., Seifert R. How to fight fake papers: a review on important information sources and steps towards solution of the problem. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2024;397:9281–9294. DOI: 10.1007/s00210-024-03272-8.
25. Frederickson R. M., Herzog R. W. Addressing the big business of fake science. *Molecular Therapy*. 2022;30(7):2390. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.06.001.
26. Montgomery Collins E., Bassat Q. The scientific integrity of journal publications in the age of "Fake News". *Journal of Tropical Pediatrics*. 2018;64(5):360–363. DOI: 10.1093/tropej/fmy039.
27. Parker L., Boughton S., Lawrence R., Bero L. Experts identified warning signs of fraudulent research: a qualitative study to inform a screening tool. *Journal of Clinical Epidemiology*. 2022;151:1–17. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2022.07.006.
28. Sabel B. A., Knaack E., Gigerenzer G., Bilc M. Fake publications in biomedical science: red-flagging method indicates mass production. *medRxiv*. 2023. DOI: 10.1101/2023.05.06.23289563.
29. Bespalov A., Bernard R., Gilis A., Gerlach B., Guillén J., Castagné V., Lefevre I. A., Ducrey F., Monk L., Bongiovanni S., Altevogt B., Arroyo-Araujo M., Bikovski L., de Bruin N., Castaños-Vélez E., Dityatev A., Emmerich C. H., Fares R., Ferland-Beckham C., Froger-Colléaux C., Gailus-Durner V., Hölter S. M., Hofmann M. C. J., Kabitzke P., Kas M. J. H., Kurreck C., Moser P., Pietraszek M., Popik P., Potschka H., Montes de Oca E. P., Restivo L., Riedel G., Ritskes-Hoitinga M., Samardzic J., Schunn M., Stöger C., Voikar V., Vollert J., Wever K. E., Wuyts K., MacLeod M. R., Dirnagl U., Steckler T. Introduction to the EQIPD quality system. *eLife*. 2021;10:e63294. DOI: 10.7554/eLife.63294.
30. Bespalov A., Michel M. C., Steckler T., editors. Good research practice in non-clinical pharmacology and biomedicine. Cham: SpringerOpen; 2020. 423 p. DOI: 10.1007/978-3-030-33656-1.
31. Colavizza G., Hrynaszkiewicz I., Staden I., Whitaker K., McGillivray B. The citation advantage of linking publications to research data. *PLoS ONE*. 2020;15(4):e0230416. DOI: 10.1371/journal.pone.0230416.
32. Schwab S., Janiaud P., Dayan M., Amrhein V., Panczak R., Palagi P. M., Hemkens L. G., Ramon M., Rothen N., Senn S., Furrer E., Held L. Ten simple rules for good research practice. *PLoS Computational Biology*. 2022;18(6):e1010139. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010139.
33. Kavasidis I., Lallas E., Leligkou H. C., Oikonomidis G., Karydas D., Gerogiannis V. C., Karageorgos A. Deep transformers for computing and predicting ALCOA+ data integrity compliance in the pharmaceutical industry. *Applied Sciences*. 2023;13(13):7616. DOI: 10.3390/app13137616.
34. Gokulakrishnan D., Venkataraman S. Ensuring data integrity: best practices and strategies in pharmaceutical industry. *Intelligent Pharmacy*. 2025:3(4):296–303. DOI: 10.1016/j.ipha.2024.09.010.
35. Mollah A. H., Long M., Baseman H. S., editors. Risk management applications in pharmaceutical and biopharmaceutical manufacturing. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.; 2013. 432 p. DOI: 10.1002/9781118514399.
36. Sandle T. Risk management and risk assessment for pharmaceutical manufacturing: a contamination control perspective. London: CreateSpace; 2013. 168 p.

Обзорная статья / Review article

УДК 661.12; 339.564

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2203

Check for updates

CC BY 4.0

Возможности экспортного потенциала фармацевтической отрасли (обзор)

В. Н. Шестаков[1], Н. В. Пятигорская[2]✉

[1] Федеральное бюджетное учреждение «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП»). 119049, Россия, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 9

[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:** Пятигорская Наталья Валерьевна. **E-mail:** osipova-mma@list.ru

ORCID: В. Н. Шестаков – https://orcid.org/0000-0002-6507-7530;
Н. В. Пятигорская – https://orcid.org/0000-0003-4901-4625.

Статья поступила: 07.10.2025 **Статья принята в печать:** 17.11.2025 **Статья опубликована:** 21.11.2025

Резюме

Введение. Вывод на рынок лекарственных средств для медицинского применения – чрезвычайно дорогостоящий и ресурсоемкий процесс, связанный с длительной разработкой, высокими рисками, гарантией качества конечного продукта, безопасностью и эффективностью, при этом ограниченный жесткими регуляторными требованиями. Ключевыми целями развития фармацевтической промышленности являются содействие условиям гарантии безопасности Российской Федерации в сфере лекарственного обеспечения населения и лекарственной доступности во всех сегментах, обеспечение передового уровня научно-технического и технологического развития фармацевтической промышленности, создание экспортно ориентированного потенциала, наличие компетенций в исследованиях и разработках, производстве полного цикла, внедрении в клиническую практику и экспорте лекарственных средств. Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации предполагает не только последовательно проводимую политику импортозамещения, но и задачи по реализации экспортного потенциала для обеспечения комплексного поддержания стабильности национального фармацевтического рынка.

Текст. В статье продемонстрированы данные по экспорту российских лекарственных средств, предложены возможные способы и инструменты для снижения барьеров при выходе на зарубежные рынки и поддержки экспортной деятельности отечественных производителей.

Заключение. Основные направления реализации Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2030 года предусматривают поддержку экспорта российской фармацевтической продукции. Применение системы оценки уровней готовности экспортного потенциала позволит использовать ее в качестве инструмента для снижения барьеров при выходе на зарубежные рынки и усилить позиции российских производителей, в том числе обеспечить гармонизацию регулирования с наилучшими мировыми практиками.

Ключевые слова: фармацевтическая отрасль, экспорт, лекарственные средства, уровень готовности экспортного потенциала

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

Вклад авторов. В. Н. Шестаков – разработка концепции, сбор и обработка аналитических данных, редактирование текста рукописи, критический пересмотр текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации. Н. В. Пятигорская – сбор, анализ и обобщение данных, написание текста рукописи, вклад в концепцию, редактирование текста рукописи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Шестаков В. Н., Пятигорская Н. В. Возможности экспортного потенциала фармацевтической отрасли. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):307–317. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2203

© Шестаков В. Н., Пятигорская Н. В., 2025
© Shestakov V. N., Pyatigorskaya N. V., 2025

Export potential of the pharmaceutical industry (review)

Vladislav N. Shestakov[1], Natalia V. Pyatigorskaya[2] ✉

[1] Federal State Institution "State Institute of Drugs and Good Practices". 9, Leninsky prospekt, Moscow, 119049, 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 V. Pyatigorskaya. **E-mail:** osipova-mma@list.ru

ORCID: Vladislav N. Shestakov – https://orcid.org/0000-0002-6507-7530;
Natalia V. Pyatigorskaya – https://orcid.org/0000-0003-4901-4625.

Received: 07.10.2025 **Accepted:** 17.11.2025 **Published:** 21.11.2025

Abstract

Introduction. Bringing medicines for medical use to the market is an extremely expensive and resource-intensive process associated with long-term development, high risks, quality assurance of the final product, safety and efficiency, while limited by strict regulatory requirements. The key goals of the pharmaceutical industry development are to promote the conditions for guaranteeing the safety of the Russian Federation in the field of drug provision to the population and drug availability in all segments, ensuring an advanced level of scientific, technical and technological development of the pharmaceutical industry, creating an export-oriented potential, the presence of competencies in research and development, full-cycle production, implementation in clinical practice and export of medicines. The development of the pharmaceutical and medical industry of the Russian Federation involves not only a consistently pursued import substitution policy, but also the task of realizing the export potential to ensure comprehensive support for the stability of the national pharmaceutical market.

Text. The article demonstrates data on the export of Russian medicines, suggests possible methods and tools for reducing barriers to entering foreign markets and supporting the export activities of domestic manufacturers.

Conclusion. The main areas of implementation of the Strategy for the Development of the Pharmaceutical Industry of the Russian Federation until 2030 provide for support for the export of Russian pharmaceutical products. The application of the system for assessing the levels of readiness of export potential will allow it to be used as a tool for reducing barriers to entry into foreign markets and strengthening the positions of Russian manufacturers, including ensuring harmonization of regulation with the best international practices.

Keywords: pharmaceutical industry, export, medicines, level of readiness of export potential

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. Vladislav N. Shestakov – concept development, collection and processing of analytical data, editing the text of the manuscript, critical revision of the text, approval of the final version of the article for publication. Natalia V. Pyatigorskaya – collection, analysis and generalization of data, writing the text of the manuscript, contribution to the concept, editing the text of the manuscript. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Shestakov V. N., Pyatigorskaya N. V. Export potential of the pharmaceutical industry. *Drug development & registration*. 2025;14(4):307–317. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2203

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в мировой экономике происходят глубокие структурные изменения, обусловленные сменой технологических укладов. В современных условиях экономический рост развитых стран обеспечивается уровнем научно-технического потенциала и достижениями наукоемких отраслей. Приоритет и научно-технический потенциал государства характеризуются опережающим развитием страны, повышением веса в мировой экономике, переходом на новый технологический и институциональный уклад. Наибольшая активность в освоении новых технологий наблюдается в здравоохранении. Меры по борьбе с пандемией коронавируса дали мощный толчок развитию биотехнологий, фармацевтики, информационных технологий.

Развитие экспорта фармацевтической продукции является одним из приоритетов промышленной политики России, направленной на технологическую независимость и диверсификацию внешнеэкономических связей. Несмотря на значительный рост внутреннего производства за последние 10–15 лет, доля экспорта лекарственных средств в общем объеме

выпуска остается пока ограниченной. При этом потенциал отрасли объективно высок: российские предприятия владеют компетенциями в производстве воспроизведенных препаратов, антибиотиков, вакцин и ряда биотехнологических продуктов, а также имеют модернизированные производственные площадки, сертифицированные по стандарту GMP. В условиях перестройки мировой торговли фармацевтический экспорт может стать ключевым направлением несырьевого роста России [1–4].

Согласно определению «Большой российской энциклопедии», экспорт (от латинского exporto – вывозить) – продажа произведенных в стране товаров и услуг за границу[1]. В соответствии с Федеральным законом от 08.12.2003 г. № 164-ФЗ «Об основах государственного регулирования внешнеторговой деятельности»[2] «экспорт товара – вывоз товара из Российской Федерации без обязательства об обратном ввозе», и Правительство в соответствии с установленными требованиями и международными договорами Российской Федерации и решениями Евразийской экономической комиссии может утверждать порядок экспорта и импорта товаров[3].

В числе основных инструментов прямой финансовой поддержки экспорта – экспортное кредитование, страхование экспортных кредитов, предоставление государственных гарантий, возмещение расходов на транспортировку экспортной продукции, финансовая помощь при участии в товарных ярмарках и выставках. Меры по стимулированию экспортного производства включают различные налоговые льготы; помощь в развитии экспортной инфраструктуры; стимулирование прямых иностранных инвестиций; субсидирование научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ (НИОКР); предоставление льготных кредитов, грантов; статус регуляторного органа и используемые им административные процедуры и т. д. [5]. В результате издержки экспортера в части производства и продвижения продукции сокращаются, что повышает его конкурентоспособность на внешних рынках. Регулирование такого вида мер поддержки на наднациональном уровне осуществляет Всемирная торговая организация (ВТО), которая устанавливает для государств допустимый уровень экспортной поддержки национальных производителей разных категорий товаров. Рыночным ориентиром выступает разработанное Организацией экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) Соглашение об официально поддерживаемых экспортных кредитах.

Ключевую роль в развитии экономики России экспорт начал играть в XVIII веке во времена правления Петра I, когда Россия получила выход к Балтийскому морю и новые возможности для торговли. В XIX веке Россия уже в большем количестве вывозила природные ресурсы – продукцию сельского хозяйства, меха, шерсть, кожи, и, хотя в конце века основной статьей экспорта по-прежнему было зерно, четверть его составляли уже промышленные товары.

Так как растения являлись основой многих лекарств, то в конце XIX – начале XX века основным источником экспорта из России было лекарственное растительное сырье. Перед Первой мировой войной ежегодный вывоз лекарственного сырья достигал 32 тыс. тонн, в то время как внутренняя потребность России в лекарственном сырье составляла 7,2 тыс. тонн как в необработанном виде, так и в готовых продуктах, изготавливаемых из этого сырья. После Октябрьской революции советское правительство признало необходимым усилить экспорт лекарственного сырья, дающего стране валюту, что повлекло всемерное развитие культуры лекарственных и эфиромасличных растений, представляющих собой важную и рентабельную отрасль сельского хозяйства.

Одной из реформ, способствовавших становлению российского экспорта, можно считать постановление Правительства Российской Федерации от 08.02.1996 № 123 «О Федеральной программе развития экспорта», задачей которого было формирование благоприятных экономических, организационных, правовых и иных условий для развития российского экспорта и повышения его эффективности, а также механизмов предоставления государственной, финансовой, налоговой, информационно-консультационной, маркетинговой, дипломатической и других видов помощи отечественным экспортерам [6]. Однако данная программа не предусматривала экспорт фармацевтической продукции, за исключением заготовки товаров тибетской медицины с ориентацией на страны Азиатско-Тихоокеанского региона.

Несмотря на существенное влияние экономических санкций и международной ситуации на развитие внешней торговли, в число основных факторов, определяющих объемы внешней торговли Российской Федерации, в последнее время входит усиление сотрудничества со странами БРИКС (Бразилия, Индия, Китай, Южно-Африканская Республика, Объединенные Арабские Эмираты, Иран, Эфиопия, Египет и Индонезия). На фоне происходящих изменений страны БРИКС становятся ключевым направлением во внешней торговле, что открывает новые стратегические перспективы для развития партнерских отношений, несмотря на вызовы текущей экономической ситуации. Поэтому необходимость дальнейшего

[1] Экспорт. Доступно по: https://bigenc.ru/c/eksport-81422b. Ссылка активна на 11.08.2025.

[2] Об основах государственного регулирования внешнеторговой деятельности: федеральный закон от 08.12.2003 № 164-ФЗ № 50. Ст. 4850. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_45397/. Ссылка активна на 11.08.2025.

[3] О Федеральной программе развития экспорта: постановление Правительства Российской Федерации от 8 февраля 1996 г. № 123. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_9297. Ссылка активна на 11.08.2025.

изучения факторов, влияющих на развитие внешней торговли лекарственными средствами России, и поиск эффективных решений для повышения ее устойчивости становятся все более актуальными.

Российская фармацевтическая отрасль проделала огромный путь за последние двадцать пять лет: запущены новые современные фармпроизводства; отечественные фармпроизводители соответствуют мировым стандартам GMP; удалось заместить импорт большинства жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП), особенно для лечения социально значимых заболеваний в амбулаторной системе и покрываемых системой обязательного медицинского страхования (ОМС) в госпитальной системе; налажено производство дженериков и биоаналогов.

Одной из задач перехода на инновационную модель развития фармацевтической промышленности Российской Федерации было стимулирование разработки и производства инновационных лекарственных средств и поддержка экспорта российских лекарств, в том числе за счет выработки дополнительных механизмов финансирования оригинальных разработок, которая была обозначена в **Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года, утвержденной приказом Минпромторга России от 23.10.2009 № 965.** Экспорт лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций из Российской Федерации в 2007 году составил около 6 млрд рублей, что составляет менее 0,04 % общемирового объема продаж фармацевтической продукции. В результате реализации Стратегии планировалось увеличить экспорт фармпродукции в 8 раз по сравнению с 2008 годом[1].

По данным Федеральной службы государственной статистики, прирост объема инвестиций в основной капитал в Российской Федерации по виду экономической деятельности «производство лекарственных средств и материалов, применяемых в медицинских целях» (код 21.2 Общероссийского классификатора видов экономической деятельности ОК 029-2014) в 2020 году увеличился по отношению к предыдущему году на 98 % и составил 105 млрд рублей (в фактически действовавших ценах), что составляет около 3,57 % общего объема инвестиций в обрабатывающие производства [7].

Текущее состояние объема экспорта в **государственной программе Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» («Фарма-2020»)**, утвержденной постановлением Правительства Российской Федерации от 15.04.2014 № 305, по итогам 2014 г. оценивалось в 0,5 млрд долларов США, а по итогам 2020 г. уже превышало 1 млрд долларов США. Российскими производителями осуществлялся экспорт лекарственных средств более чем в 135 стран[2].

В задачи реализации национальных целей программы «Фарма-2020» входило: содействие повышению конкурентоспособности российских производителей, укрепление их позиций на внутреннем рынке и внешних рынках; ускорение научно-технического развития, увеличение количества организаций, внедряющих технологические инновации; создание условий для расширения экспорта российской фармацевтической и медицинской продукции. Планируется, что ожидаемыми результатами эффективного и сбалансированного решения задач государственной программы «Фарма-2020» к концу 2030 года станет рост объема экспорта лекарственных средств и медицинских изделий до 311 млрд рублей [7].

Одной из основных целей государственной политики в сфере обеспечения экономической безопасности в соответствии со Стратегией экономической безопасности Российской Федерации на период до 2030 года, утвержденной указом Президента Российской Федерации от 13 мая 2017 г. № 208 «О Стратегии экономической безопасности Российской Федерации на период до 2030 года», является поддержание научно-технического потенциала развития экономики на мировом уровне и повышение ее конкурентоспособности[3].

Указом Президента Российской Федерации от 21.07.2020 № 474 «О национальных целях развития Российской Федерации на период до 2030 года» определены национальные цели развития Российской Федерации на период до 2030 года и установлены целевые показатели, характеризующие достижение национальных целей к 2030 году, предусматривающие повышение уровня жизни граждан и ожидаемой продолжительности жизни, реальный рост инвестиций в основной капитал, рост экспорта несырьевых неэнергетических товаров в целях осуществления прорывного развития Российской Федерации[4].

По данным ООН, экспорт лекарственных средств в России вырос за период с 2009 по 2021 годы почти в 8 раз, с 0,31 млрд до 2,5 млрд долл. США, а с корректировкой на препараты для лечения ковид-инфек-

[1] Приказ Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 23 октября 2009 г. № 965. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_94066. Ссылка активна на 11.08.2025.

[2] Государственная программа Российской Федерации «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности»: постановление Правительства Российской Федерации от 15 апреля 2014 г. № 305. Доступно по: https://base.garant.ru/70644070. Ссылка активна на 11.08.2025.

[3] О Стратегии экономической безопасности Российской Федерации на период до 2030 года: указ Президента Российской Федерации от 13 мая 2017 г. № 208. Доступно по: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201705150001. Ссылка активна на 11.08.2025.

[4] О национальных целях развития Российской Федерации на период до 2030 года: указ Президента Российской Федерации от 21 июля 2020 г. № 474. Доступно по: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202007210012. Ссылка активна на 11.08.2025.

ции – в 4 раза, что совпадает с темпами роста этого показателя в других странах с быстро растущим фармацевтическим сектором. Объем поставляемых лекарственных средств зависит от потребностей государства, на территорию которого осуществляется экспорт [7].

Россия поставляет на экспорт 350–400 млн упаковок в год лекарственных средств, среди которых лидируют иммунобиологические препараты (вакцины), инсулины, препараты на основе моноклональных антител, противовирусные препараты. По данным Минпромторга, Россия экспортирует в другие страны немногим более 500 лекарственных средств по международному непатентованному наименованию (МНН). С 2022 года по первый квартал 2025 года объем экспорта составил 1,16 млрд упаковок на сумму 138 млрд рублей.

Основные рынки сбыта российской фармацевтической продукции – страны ЕАЭС и СНГ, Латинской Америки, Африки. Также ведется работа как по расширению номенклатуры поставок, так и по открытию новых рынков в странах Ближнего Востока и Юго-Восточной Азии.

Логическим продолжением реализации системных мер по развитию фармацевтической отрасли стало утверждение **Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2030 года** (распоряжение Правительства РФ от 07.06.2023 № 1495-р) – «Фарма-2030». При ее формировании учитывалось текущее состояние отрасли на 2022 год, в том числе в сравнении с 2009 годом, когда была утверждена Стратегия развития до 2020 года. Как представлено в документе, объем экспорта фармацевтической продукции по итогам 2009 года не превышал 0,37 млрд долларов США, по итогам 2021 года этот показатель превысил 2,63 млрд долларов США, а по итогам 2022 года объем экспорта фармацевтической продукции уменьшился до 1,28 млрд долларов США. При этом регистрация лекарственных препаратов осуществляется более чем в 60 странах. Согласно базовому сценарию развития, предусмотренному стратегией «Фарма-2030», объем экспорта лекарственных средств для медицинского применения, произведенных на территории Российской Федерации до 2030 года, планируется увеличить до 3,4 млрд долларов США[1].

Возможность увеличить экспортные поставки психотропных лекарственных препаратов из России появилась после решения Правительства Российской Федерации о повышении квот на выпуск психотропных препаратов. В качестве потенциальных рынков сбыта Московский эндокринный завод, основной производитель такой продукции, определил[2] государства Ближнего Востока, Северной Африки, а также Латинской Америки и Юго-Восточной Азии.

Пока существует значительный разрыв в импорте и экспорте. В 2023 году объем импорта лекарственных препаратов составил 13,8 млрд долларов США, а экспорт составлял немногим более 390 млн долларов США. Среди обозначенных стран для экспорта – республики постсоветского пространства: Армения, Беларусь, Казахстан, Киргизия, Узбекистан, Туркмения, Азербайджан, Грузия, Молдова, а также страны Юго-Восточной Азии, Латинской Америки и Африки. Это будет зависеть в том числе от понимания того, какие продукты необходимы за рубежом. В настоящее время основные страны, реализующие российскую фармацевтическую продукцию (наибольшее количество лекарственных средств по МНН), – страны постсоветского пространства: Казахстан, Беларусь, Узбекистан, Азербайджан, Армения, Туркмения, Таджикистан. Активно закупают наши препараты также Монголия и Словения.

Среди наиболее востребованных – биотехнологические препараты, включая вакцины (против желтой лихорадки, кори, паротита, полиомиелита, вируса Эбола, брюшного тифа, бешенства, туберкулеза, гриппа и COVID-19), средства для лечения сахарного диабета, антибиотики, кортикостероиды, кишечные препараты, средства растительного происхождения и созданные на основе плазмы крови человека.

Страны Африки заинтересованы в поставках не только вакцин (основной производитель которых – ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН»), инсулина, офтальмологических препаратов, но и медицинской техники и приборов, включая центрифуги, дистилляторы, бактерицидные камеры, разработки в области виртуальной реальности и робототехники.

Страны Латинской Америки в настоящее время реализуют лекарственные средства для лечения диабета, ВИЧ и онкологических заболеваний российского производства. Россия занимает лидирующие позиции в области ядерной медицины, и открытие центров по получению радиофармацевтических препаратов стало возможным благодаря созданию уникального комплекса, который построила российская корпорация «Росатом». Также спросом пользуются протезы верхних и нижних конечностей и комплектующие к ним.

В Азиатском регионе востребованы не только лекарственные средства, но и знания, которыми готовы делиться российские университеты и академические институты.

По итогам Глобальной недели здравоохранения в Абу-Даби, которая прошла с 15 по 17 апреля 2025 года, сразу несколько стран (в частности, Араб-

[1] Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2030 года: распоряжение Правительства Российской Федерации от 7 июня 2023 г. № 1495-р. Доступно по: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202306070001. Ссылка активна на 11.08.2025.

[2] Приказ Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения от 29.11.2021 № 11111. Доступно по: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202112020024. Ссылка активна на 11.08.2025.

ские Эмираты, Бахрейн, Египет) выразили заинтересованность в сотрудничестве с Россией, в том числе по поставкам лекарственных препаратов.

В таблице 1 приведена хронология ключевых этапов развития экспорта в России.

Повышение конкурентоспособности российской продукции фармацевтической и медицинской промышленности и реализации ее экспортного потенциала в настоящее время во многом определяется инновационным и техническим потенциалом как производственных предприятий, так и научных организаций. В Российской Федерации положение в сфере экспорта лекарственных средств в последние годы начало меняться к лучшему, однако реформы проводились недостаточно последовательно. В результате преодолеть имевшееся отставание в короткие сроки не удалось. По этим причинам отечественным фармацевтическим производителям для выхода на международный уровень необходима разработка механизмов и инструментов поддержки экспорта.

Для мирового фармацевтического рынка характерна высокая степень концентрации участников и монополистическая конкуренция. Почти половина всего рынка находится под влиянием фармкомпаний

Таблица 1. Ключевые этапы развития экспорта России

Table 1. Key stages of Russian export development

Период Chronology	Особенности Features	Направления экспорта Export directions
1920–1991 гг.	Фармацевтика развивалась в рамках централизованной экономики. Экспорт носил политический характер и был ориентирован на социалистический лагерь и дружественные страны. Производились антибиотики, витамины, вакцины The pharmaceutical industry has developed within the framework of a centralized economy. The nature of these exports was political, with a focus on the socialist camp and countries with which the USSR had friendly relations. The production of antibiotics, vitamins and vaccines was initiated	Страны соцлагеря (Восточная Европа), Куба, Вьетнам, Индия, африканские страны The countries of the socialist camp (Eastern Europe), Cuba, Vietnam, India and African countries
1990–2000 гг.	Распад СССР привел к кризису отрасли. Более 70 % субстанций импортировалось, экспорт практически прекратился The dissolution of the USSR precipitated a crisis within the industry. A significant proportion of the substances (more than 70 %) were imported, and exports virtually ceased	Экспорт отсутствовал, отдельные поставки в СНГ Exports were non-existent, with only a limited number of deliveries being made to the CIS
1996 г.	Постановление Правительства Российской Федерации от 08.02.1996 № 123 «О Федеральной программе развития экспорта» The Government of the Russian Federation promulgated the Decree No. 123 of 8 February 1996, entitled «On the Federal Export Development Program»	Заготовка товаров тибетской медицины с ориентацией на страны Азиатско-Тихоокеанского региона The procurement of Tibetan medicine products is centred on the countries of the Asia-Pacific region
2000–2009 гг.	Начало восстановления: создание крупных дженериковых компаний («Фармстандарт», «Верофарм», «Биокад» и др.). Модернизация производств по стандартам GMP. Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года. Внедрение обязательного GMP. Возобновление экспорта The inception of recovery was marked by the establishment of prominent generic pharmaceutical enterprises, including Pharmstandard, Veropharm and Biocad, among others. The modernisation of production facilities is to be undertaken in accordance with Good Manufacturing Practice (GMP) standards. The following paper will set out the strategy for the development of the pharmaceutical industry of the Russian Federation for the period up to 2020. Implementation of mandatory GMP. The resumption of exports is a matter of significant concern	СНГ, Азия (отдельные рынки) CIS, Asia (selected markets).
2010–2019 гг.	ГП РФ «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» («Фарма-2020»). Формирование экспортного потенциала: «Биокад» вышел на Латинскую Америку, «Микроген» поставлял вакцины в десятки стран The State program of the Russian Federation «Development of the pharmaceutical and medical industry» (Pharma-2020). Building export potential: Biocad entered Latin America and Microgen supplied vaccines to dozens of countries	СНГ, Латинская Америка, Африка, Азия CIS, Latin America, Africa, Asia

Окончание таблицы 1

Период Chronology	**Особенности** Features	**Направления экспорта** Export directions
2020–2025 гг.	Санкции и геополитические ограничения. Трудности с EMA/FDA, проблемная сертификация GMP в Европе и США. Смещение экспорта в дружественные страны. Участие в международных программах (ВОЗ, ЮНИСЕФ, Глобальный альянс по вакцинам и иммунизации – GAVI). Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2030 года («Фарма-2030») The imposition of sanctions and the enforcement of geopolitical restrictions. The companies have encountered challenges pertaining to the European Medicines Agency (EMA) and the Food and Drug Administration (FDA), along with complications in the certification process for Good Manufacturing Practice (GMP) in both the European and American contexts. The relocation of exports to countries with which there is a friendly trading relationship. Participation in international programmes is an integral component of the organisation's strategic agenda, with prominent examples including the World Health Organisation (WHO), the United Nations International Children's Emergency Fund (UNICEF), and the Global Alliance for Vaccines and Immunisation (GAVI). The strategy for the development of the pharmaceutical industry of the Russian Federation for the period up to 2030 (Pharma-2030)	СНГ, Азия, Ближний Восток, Африка, Латинская Америка CIS, Asia, Middle East, Africa, Latin America

Европейского союза (Германии, Швейцарии, Ирландии, Бельгии, Италии, Франции, Нидерландов) и США. Также крупными игроками являются фармкомпании Великобритании и Японии. Основную часть прибыли им дают оригинальные препараты в узком терапевтическом сегменте, что требует больших вложений в R&D. Для фармацевтической отрасли характерен достаточно длительный жизненный цикл продукта – от 10 до 20 и более лет, что требует готовности к новым изменениям и требованиям регуляторной системы.

С точки зрения развития экспорта для фармацевтических и медицинских препаратов основными сложностями и ограничениями являются:

- система мер государственной поддержки (включая налоговое законодательство и таможенно-тарифное регулирование, охрану интеллектуальной собственности и др.);
- регуляторные ограничения как в российском правовом поле, так и в зарубежных юрисдикциях;
- отсутствие взаимного признания фарминспекций и регистрации лекарственных средств;
- соответствие всех стадий разработки, исследований и производства международным нормам;
- большие инвестиции в НИОКР;
- необходимость проходить регистрацию в стране-импортере;
- строительство заводов с нуля и трансфер технологий;
- логистика;
- отсутствие понятных инструментов экспорта и длительность процедур;
- отсутствие квалифицированных кадров в сфере экспорта лекарственных средств.

Оценка уровней готовности, которая используется в мировой практике для создания научно-технологического задела, для фармацевтической отрасли практически не использовалась и начала применяться совсем недавно, только после выхода приказа Минобрнауки России от 06.02.2023 № 107 «Об утверждении Порядка определения уровней готовности разрабатываемых или разработанных технологий, а также научных и (или) научно-технических результатов, соответствующих каждому уровню готовности технологий» для оценки заявок на государственные задания[1]. Для фармацевтической отрасли пока технологическая, производственная, управленческая, организационная, экспортная готовность неравномерна и практически не оценивается.

Методология TPRL (Technology Project Readiness Level), впервые введенная ФГБУ «Дирекция научно-технических программ» в работе [9], предлагает комплексно подходить к оценке проекта на основе параметров, характеризующих готовность проекта в целом, таких как технологическая готовность (Technology Readiness Levels, TRL), производственная готовность (Manufacturing Readiness Levels, MRL), инженерная готовность (Engineering Readiness Levels, ERL), организационная готовность (Organisation Readiness

[1] Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации от 6 февраля 2023 г. № 107. Доступно по: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202302100039. Ссылка активна на 11.08.2025.

Levels, ORL), преимущества и риски (Business Readiness Level, BRL), рыночная готовность и коммерциализация (Commercial Readiness Level, CRL) [10]. К перечисленным параметрам можно добавить уровни готовности инноваций (Innovation Readiness Level, LRI), уровни готовности интеграции (Integration Readiness Level, IRL), уровни управления знаниями (Knowledge Readiness Level, KRL) [11–14, 18].

Понимание взаимосвязи и взаимозависимости параметров и использование данной оценки на ранних этапах жизненного цикла лекарственного средства позволит быстро оценить зрелость выбранного портфеля, оценить текущее и желаемое будущее проекта, повысить качество планирования, реализации и устойчивости проекта [15, 18, 19]. Перечисленные параметры можно комплексно использовать в качестве критериев оценки готовности организации к экспорту фармацевтической продукции. Параметры необходимы для оценки, на каком уровне и какие задачи необходимо решить для обеспечения конечного результата – возможности экспорта лекарственных средств.

Технологическая и производственная готовности являются ключевыми взаимозависимыми параметрами, которые измеряют степень риска, связанную со зрелостью технологии и производственного процесса. В общем случае готовность производства определяется готовностью технологии и/или стабильностью системы с ее применением. Производственные процессы не могут быть достаточно зрелыми до тех пор, пока не будут достигнуты стабильность технологии и зрелость фармацевтической системы качества и не будет завершен жизненный цикл проекта[1] [18, 19].

Комплексная оценка этих параметров позволяет планировать меры поддержки и сопоставлять компании по уровню готовности к экспорту. Экспортный потенциал фармацевтической отрасли оценивается через совокупность факторов: регуляторных, производственных, логистических и финансовых.

Концепция **уровней готовности экспорта (Export Readiness Levels, ERL)** [16] **–** достаточно новая методика, которая появилась по аналогии с уровнями готовности технологий (Technology Readiness Levels, TRL) [17] и уровнями готовности производства (Manufacturing Readiness Levels, MRL). В академической литературе пока преобладают понятия «готовность к экспорту» (export readiness) и «готовность к интернационализации» (internationalisation readiness) как близкие по сути конструкции.

Государственный институт поддержки несырьевого экспорта АО «Российский экспортный центр» (РЭЦ), консолидирующий группу компаний, предоставлявших российским экспортерам широкий спектр финансовых и нефинансовых мер поддержки в 2017–2019 гг., предложил инструмент оценки экспортной готовности. Фактически это и было первым системным подходом к ERL в России – шкала оценки компании (документы, финансы, маркетинг, производство) и ее готовность к экспорту. Но тогда ERL как термин еще почти не использовался, в основном говорили об «индексе экспортной готовности».

Индекс экспортной готовности (Export Readiness Index, ERI) – это сводный количественный показатель, который отражает уровень подготовки компании или отрасли к выходу на зарубежные рынки. Он формируется на основе оценки ключевых блоков: стратегии, производства, финансов, маркетинга и регуляторных требований. Таким образом, индекс экспортной готовности – это интегральный инструмент управления, который переводит разрозненные качественные критерии (стратегия, финансы, производство, маркетинг, регуляторные требования) в одну числовую оценку, понятную для руководителей, инвесторов и государственных органов.

Составляющую экспортного потенциала фармацевтической отрасли можно разделить на четыре взаимосвязанных блока:

- производственно-технологический;
- ценовой (конкурентный);
- институционально-логистический;
- финансово-инвестиционный.

Производственная база – ядро экспортного потенциала отрасли. Качество, воспроизводимость и объем выпуска напрямую зависят от соответствия предприятий стандартам надлежащей производственной практики (GMP). После завершения реализации программы «Фарма-2020» доля предприятий, работающих по GMP-стандартам, увеличилась почти втрое, что стало ключевым драйвером роста экспортопригодности [18]. С 2022 по 2024 годы объем выпуска отечественных активных фармацевтических субстанций (АФС) вырос примерно на 35 %, что позволило снизить валютную составляющую себестоимости лекарственных средств и повысить экспортную маржу.

Наибольший экспортный потенциал наблюдается у предприятий, выпускающих сложные дженерики (modified release, fixed-dose combinations, липосомальные формы) и биосимиляры. Их маржинальность выше на 20–40 % по сравнению с обычными дженериками, а конкуренция меньше.

Формирование экспортной цены на лекарственные средства происходит в контексте жестко регулируемого рынка. Для определения возможности экспорта необходимо оценить рыночную готовность страны, куда планируется поставлять лекарственные средства, и понять заинтересованность иностранных партнеров в торговле с Россией. На цену влияют: структура издержек (стоимость АФС, контроль качества, доставка); уровень конкуренции в сегменте;

[1] Трансфер технологий. Методические указания по оценке уровня зрелости технологий: ГОСТ Р 58048-2017: национальный стандарт Российской Федерации. Доступно по: https://docs.cntd.ru/document/1200158331. Ссылка активна на 11.08.2025.

правила внешнего и внутреннего референтного ценообразования; механизмы, определяющие соотношение «цена – эффективность».

На рынках со средним доходом (Ближний Восток, Северная Африка, Латинская Америка) спрос на дженерики и биоаналоги растет быстрее, чем в развитых странах, что создает дополнительные возможности для российских производителей.

Согласно данным Ассоциации российских фармацевтических производителей на 2024 год, средняя экспортная цена за упаковку российских препаратов выросла за 5 лет на 27 %, что отражает повышение качества и усложнение продуктового портфеля.

Институциональные условия и логистика формируют транзакционные издержки экспорта. С 2017 года действует единый рынок лекарственных средств ЕАЭС, где регистрация в одной стране Союза позволяет обращаться препарату во всех пяти. Это снижает административные барьеры и ускоряет вывод продукции на рынок. Тем не менее сохраняются проблемы, связанные с логистикой: ужесточение требований и ограничения при международных перевозках, перестройка логистических маршрутов.

Также следует сформулировать регуляторную стратегию, которая должна предусмотреть все возможные регуляторные действия с учетом плана экспорта, такие как: установленные требования к регистрации для доступа на выбранный рынок, включая источник происхождения лекарственного средства для определения типа регистрационного досье; дополнительное проведение или признание имеющихся доклинических и клинических исследований; необходимость дополнительных исследований, например с учетом климатической зоны; наличие необходимых лицензий/сертификатов/деклараций; стоимость регуляторных процедур и другие.

Финансовая устойчивость и доступ к экспортному финансированию – важные детерминанты успешных поставок. Каждые 100 млн руб. экспортной выручки фармацевтических предприятий создают в среднем 150–170 млн руб. совокупного ВВП-эффекта за счет роста занятости, налогооблагаемой базы и спроса на вспомогательные услуги (логистика, лабораторные исследования, упаковка).

Все эти факторы взаимосвязаны и усиливают друг друга. Производственная эффективность и качество создают основу для конкурентной цены; развитая логистика снижает транзакционные издержки; финансовые инструменты обеспечивают устойчивость операций. Эту взаимосвязь можно формализовать как функцию:

$$EP = f(P, C, L, F),$$

где: P – производственные возможности и качество (GMP, АФС, масштаб); C – ценовая конкурентоспособность (AUV, ERP); L – логистическая инфраструктура и регуляторная совместимость (GDP, ЕАЭС, track&trace); F – финансовые инструменты и инвестиции.

Рост экспорта возможен при одновременном улучшении всех четырех компонентов. Изолированное повышение одного из факторов (например, только увеличение мощности без доступа к финансированию и каналам сбыта) не приводит к устойчивому расширению экспорта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для решения задач, поставленных стратегией «Фарма-2030», у российских производителей, имеющих сильную R&D-базу и выпускающих как оригинальные препараты, так и воспроизведенные, уже есть большой потенциал экспорта наукоемких технологий и продукции.

Вместе с тем среди многообразия существующих факторов наблюдается недостаточность инструментов, позволяющих обеспечивать конкурентоспособность отечественной фармацевтической и медицинской продукции за рубежом и документально сопровождать экспорт.

Понимание взаимосвязи и взаимозависимости параметров и использование своевременной оценки на всех этапах жизненного цикла лекарственного средства позволит быстро оценить зрелость выбранного портфеля, оценить текущее и желаемое будущее проекта, повысить качество планирования, реализации и устойчивости проекта. Как формализованная шкала термин «уровень готовности экспорта» (Export Readiness Levels, ERL) встречается редко и находится на стадии становления.

Разработка системы оценки уровней готовности экспортного потенциала позволит предложить инструмент для снижения барьеров при выходе на зарубежные рынки, оценки возможной реализации экспортного потенциала фармацевтических предприятий, усилить позиции российских производителей в сегментах дженериков, вакцин и биосимиляров на международном рынке, обеспечить гармонизацию регулирования с надлежащими практиками, что приведет к росту несырьевого экспорта и укреплению технологического суверенитета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gerschewski S., Scott-Kennel J., Rose E. L. Ready to export? The role of export readiness for superior export performance of small and medium-sized enterprises. *The World Economy*. 2020;43(5):1253–1276. DOI: 10.1111/twec.12928.
2. Tan A., Brewer P., Liesch P. W. Before the first export decision: Internationalisation readiness in the pre-export phase. *International Business Review*. 2007;16(3):294–309. DOI: 10.1016/j.ibusrev.2007.01.001.
3. Ilinski K. Learning Your Options: Option-Based Model of Export Readiness and Optimal Export. *Entropy (Basel)*. 2022;24(2):173. DOI: 10.3390/e24020173.
4. Labanca C., Molina D., Muendler M.-A. Preparing for export opportunities. *Journal of International Economics*. 2024;152:103968. DOI: 10.1016/j.jinteco.2024.103968.

5. Мешковский А. П., Пятигорская Н. В., Аладышева Ж. И., Береговых В. В., Пятигорский А. М., Николенко Н. С., Маршалова М. М., Беляев В. В. Обязанности держателей регистрационных удостоверений в части соблюдения правил GMP. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(4):15–20. DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-4-164-170.
6. Мешечкина Р. П., Устинова Е. М., Наумов А. А. Статистическая оценка внешней торговли России и перспективы ее развития на основе сотрудничества со странами БРИКС. *Вестник Белгородского университета кооперации, экономики и права*. 2025;1(110):31–41. DOI: 10.21295/2223-5639-2025-1-31-41.
7. Аладышева Ж. И., Береговых В. В., Мешковский А. П., Пятигорская Н. В. Совершенствование государственного регулирования фармацевтической отрасли и экспорт российских лекарственных средств. *Федерализм*. 2023;28(4):157–183. DOI: 10.21686/2073-1051-2023-4-157-183.
8. Аладышева Ж. И., Береговых В. В., Мешковский А. П., Пятигорская Н. В. Фармацевтическое государственное регулирование и экспорт лекарственных средств: зарубежный опыт. *Федерализм*. 2023;28(3):108–136. DOI: 10.21686/2073-1051-2023-3-108-136.
9. Петров А. Н., Сартори А. В., Филимонов А. В. Комплексная оценка состояния научно-технических проектов через уровень готовности технологий. *Экономика науки*. 2016;2(4):244–260.
10. Комаров А. В., Матвеев Д. А., Филимонов А. В., Сартори А. В. К вопросу о разработке механизмов и инструментов расширения ценности научно-технологических проектов полного цикла с использованием методологии TPRL. *Экономика науки*. 2018;4(4):282–296. DOI: 10.22394/2410-132X-2018-4-4-282-296.
11. Lowe D. C., Justham L., Everitt M. J. Multi-index analysis with readiness levels for decision support in product design. *Technological Forecasting and Social Change*. 2024;206:123559. DOI: 10.1016/j.techfore.2024.123559.
12. Kedia S. B., Baker J. C., Carbonell R. G., Lee K. H., Roberts C. J., Erickson J., Schiel J. E., Rogers K., Schaefer G., Pluschkell S. Biomanufacturing readiness levels [BRL]-A shared vocabulary for biopharmaceutical technology development and commercialization. *Biotechnology and Bioengineering*. 2022;119(12):3526–3536. DOI: 10.1002/bit.28227.
13. Smanski M. J., Aristidou A., Carruth R., Erickson J., Gordon M., Kedia S. B., Lee K. H., Prather D., Schiel J. E., Schultheisz H., Treynor T. P., Evans S. L., Friedman D. C., Tomczak M. Bioindustrial manufacturing readiness levels (BioMRLs) as a shared framework for measuring and communicating the maturity of bioproduct manufacturing processes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2022;49(5):kuac022. DOI: 10.1093/jimb/kuac022.
14. Miller M. E., Thomas S., Rusnock C. Extending System Readiness Levels to Assess and Communicate Human Readiness. *Systems Engineering*. 2016;19(2):146–157. DOI: 10.1002/sys.21344.
15. Пятигорский А. М., Бркич Г. Э., Береговых В. В., Пятигорская Н. В., Зырянов О. А., Кузнецов А. О. Система оценки уровней готовности производства фармацевтических продуктов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2025;80(2):138–145. DOI: 10.15690/vramn18036.
16. Yfanti S., Sakkas N. Technology Readiness Levels (TRLs) in the Era of Co-Creation. *Applied System Innovation*. 2024;7(2):32. DOI: 10.3390/asi7020032.
17. Salvador-Carulla L., Woods C., de Miquel C., Lukersmith S. Adaptation of the technology readiness levels for impact assessment in implementation sciences: The TRL-IS checklist. *Heliyon*. 2024;10(9):e29930. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e29930.
18. Пятигорский А. М., Бркич Г. Э., Береговых В. В., Пятигорская Н. В. Комплексная оценка технологической готовности инновационного проекта при разработке фармацевтического продукта. *Вестник РАМН*. 2023;78(3):234–241. DOI: 10.15690/vramn8349.
19. Пятигорский А. М., Бркич Г. Э., Береговых В. В., Пятигорская Н. В., Зырянов О. А., Кузнецов А. О. Система оценки уровней готовности производства фармацевтических продуктов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2025;80(2):138–145. DOI: 10.15690/vramn18036.

REFERENCES

1. Gerschewski S., Scott-Kennel J., Rose E. L. Ready to export? The role of export readiness for superior export performance of small and medium-sized enterprises. *The World Economy*. 2020;43(5):1253–1276. DOI: 10.1111/twec.12928.
2. Tan A., Brewer P., Liesch P. W. Before the first export decision: Internationalisation readiness in the pre-export phase. *International Business Review*. 2007;16(3):294–309. DOI: 10.1016/j.ibusrev.2007.01.001.
3. Ilinski K. Learning Your Options: Option-Based Model of Export Readiness and Optimal Export. *Entropy (Basel)*. 2022;24(2):173. DOI: 10.3390/e24020173.
4. Labanca C., Molina D., Muendler M.-A. Preparing for export opportunities. *Journal of International Economics*. 2024;152:103968. DOI: 10.1016/j.jinteco.2024.103968.
5. Meshkovskiy A. P., Pyatigorskaya N. V., Aladysheva Zh. I., Beregovykh V. V., Pyatigorskiy A. M., Nikolenko N. S., Marshalova M. M., Belyaev V. V. Obligations of holders of registration certificates regarding compliance with GMP regulations. *Drug development & registration*. 2020;9(4):15–20. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-4-164-170.
6. Meshechkina R. P., Ustinova E. M., Naumov A. A. Statistical assessment of Russia's foreign trade and prospects for its development based on cooperation with BRICS countries. Vestnik *Belgorodskogo universiteta kooperatsii, ekonomiki i prava*. 2025;1(110):31–41. (In Russ.) DOI: 10.21295/2223-5639-2025-1-31-41.
7. Aladysheva Zh. A., Beregovykh V. V., Meshkovskiy A. P., Pyatigorskaya N. V. Refinement of Drug Regulation and Russian Pharmaceutical Export. *Federalism*. 2023;28(4):157–183. (In Russ.) DOI: 10.21686/2073-1051-2023-4-157-183.
8. Aladysheva Z. A., Beregovykh V. V., Meshkovskiy A. P., Pyatigorskaya N. V. Drug Regulation in Top Exporters of Pharmaceutical Products. *Federalism*. 2023;28(3):108–136. (In Russ.) DOI: 10.21686/2073-1051-2023-3-108-136.
9. Petrov A. N., Sartory A. V., Filimonov A. V. Comprehensive assessment of the status scientific and technical projects using Technology Project Readiness Level. *Economics of Science*. 2016;2(4):244–260. (In Russ.)

10. Komarov A. V., Matveev D. A., Filimonov A. V., Sartory A. V. On the development of mechanisms and tools for expanding the value of full-cycle science and technology projects using the TPRL methodology. *Economics of Science*. 2018;4(4):282–296. (In Russ.) DOI: 10.22394/2410-132X-2018-4-4-282-296.
11. Lowe D. C., Justham L., Everitt M. J. Multi-index analysis with readiness levels for decision support in product design. *Technological Forecasting and Social Change*. 2024;206:123559. DOI: 10.1016/j.techfore.2024.123559.
12. Kedia S. B., Baker J. C., Carbonell R. G., Lee K. H., Roberts C. J., Erickson J., Schiel J. E., Rogers K., Schaefer G., Pluschkell S. Biomanufacturing readiness levels [BRL]-A shared vocabulary for biopharmaceutical technology development and commercialization. *Biotechnology and Bioengineering*. 2022;119(12):3526–3536. DOI: 10.1002/bit.28227.
13. Smanski M. J., Aristidou A., Carruth R., Erickson J., Gordon M., Kedia S. B., Lee K. H., Prather D., Schiel J. E., Schultheisz H., Treynor T. P., Evans S. L., Friedman D. C., Tomczak M. Bioindustrial manufacturing readiness levels (BioMRLs) as a shared framework for measuring and communicating the maturity of bioproduct manufacturing processes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2022;49(5):kuac022. DOI: 10.1093/jimb/kuac022.
14. Miller M. E., Thomas S., Rusnock C. Extending System Readiness Levels to Assess and Communicate Human Readiness. *Systems Engineering*. 2016;19(2):146–157. DOI: 10.1002/sys.21344.
15. Pyatigorskiy A. M., Brkich G. E., Beregovykh V. V., Pyatigorskaya N. V., Zyryanov O. A., Kuznetsov A. O. System for assessing production readiness levels of pharmaceutical products. *Herald of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2025;80(2):138–145. (In Russ.) DOI: 10.15690/vramn18036.
16. Yfanti S., Sakkas N. Technology Readiness Levels (TRLs) in the Era of Co-Creation. *Applied System Innovation*. 2024;7(2):32. DOI: 10.3390/asi7020032.
17. Salvador-Carulla L., Woods C., de Miquel C., Lukersmith S. Adaptation of the technology readiness levels for impact assessment in implementation sciences: The TRL-IS checklist. *Heliyon*. 2024;10(9):e29930. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e29930.
18. Pyatigorsky A. M., Brkich G. E., Beregovykh V. V., Pyatigorskaya N. V. Comprehensive assessment of technological readiness of an innovative project during the development of a pharmaceutical product. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2023;78(3):234–241. (In Russ.) DOI: 10.15690/vramn8349.
19. Pyatigorsky A. M., Brkich G. E., Beregovykh V. V., Pyatigorskaya N. V., Zyryanov O. A., Kuznetsov A. O. Pharmaceutical product manufacturing readiness levels. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2025;80(2):138–145. (In Russ.) DOI: 10.15690/vramn18036.

К ЮБИЛЕЮ ОРДАБАЕВОЙ САУЛЕ КУТЫМОВНЫ



В октябре юбилей отметила выдающийся ученый, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Южно-Казахстанской медицинской академии, член редакционной коллегии Государственной Фармакопеи Республики Казахстан, член редакционной коллегии журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», доктор фармацевтических наук, профессор **Сауле Кутымовна Ордабаева**.

Сауле Кутымовна родилась в Отырарском районе Туркестанской области в семье заслуженных педагогов. В 1983 году она с отличием окончила фармацевтический факультет Алма-Атинского государственного медицинского института (АГМИ) и начала профессиональную деятельность в должности ассистента кафедры фармацевтической химии Южно-Казахстанского филиала АГМИ, ныне – Южно-Казахстанская медицинская академия (ЮКМА).

С 1986 по 1990 г. обучалась в целевой аспирантуре Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова (ныне Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Сеченовский университет) под руководством академика Александра Павловича Арзамасцева. Успешно защитив кандидатскую диссертацию, **Сауле Кутымовна** возвращается в свой родной коллектив. В 2007 г. защищает докторскую диссертацию под руководством Лауреата государственной премии РК, профессора Т. А. Арыстановой. В 2010 г. ей присваивается ученое звание профессора. С 2012 года Сауле Кутымовна заведует кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ЮКМА.

С. К. Ордабаеева является новатором внедрения интегрированного обучения по специальности «Фармация» в Республике Казахстан. С 2013 года под ее руководством осуществляется дуальное образование у студентов 5 курса с сочетанием теоретического и практического обучения по дисциплине «Стандартизация лекарственных средств» на кафедре и производственных базах фармацевтических предприятий Казахстана – Santo Member of Polpharma Group и Bioethica (Шымкент).

Сауле Кутымовна является генератором идей не только в образовательной, но и в научно-исследовательской сфере. Под ее руководством ведутся научные исследования по созданию и стандартизации лекарственных препаратов на основе отечественного растительного сырья, разработке и усовершенствованию методик анализа лекарственных препаратов, химико-токсикологическому анализу токсикологически важных веществ. Является соисполнителем 1-го международного и 3-х республиканских научно-технических проектов (НТП) в области создания и стандартизации лекарственных препаратов на основе растительного сырья. Является автором 8-ми предварительных патентов РК, 2 рационализаторских предложений, 4 патентов на полезную модель, более 50 авторских свидетельств, более 400 научных работ, в том числе опубликованных в международных изданиях, материалах научных форумов (США, Россия, Австрия, Италия, Финляндия, Иран, Таиланд, Чехия, Польша и др.). Под ее руководством выполнено 3 кандидатских и 16 магистерских диссертаций, выполняются 1 магистерская и 3 докторских диссертаций. За долгие годы плодотворной работы в сфере высшего образования и проводимых научно-исследовательских работ, ею написано множество монографий, учебников и учебных пособий на казахском, русском и английском языках.

Сауле Кутымовна внесла значительный вклад в укрепление международного сотрудничества как возглавляемой ею кафедры, так и академии в целом с ведущими учебными и научными учреждениями России, Чехии, Польши, Ирана, Украины, Узбекистана и Киргизии. Это сотрудничество осуществляется в рамках образовательной и научно-исследовательской деятельности. В результате данной работы были разработаны и внедрены совместные образовательные программы с зарубежными вузами-партнерами, в том числе рабочая учебная программа (РУПр) по производственной практике «Контроль качества и стандартизация лекарственных средств», утвержденная учеными советами ЮКМА и Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (2014 г.), а также аналогичная программа, утвержденная совместно с Башкирским государственным медицинским университетом (2016 г., 2018 г.).

Кроме того, было издано совместное методическое пособие «Контроль качества и стандартизация лекарственных средств», получившее одобрение ученых советов ЮКМА и Первого МГМУ в 2014 году и переизданное с дополнениями в 2018 и 2023 годах (ГЭОТАР-Медиа, Россия). **Сауле Кутымовна** также является соавтором учебника «Фармацевтическая химия», утвержденного ученым советом Ташкентского фармацевтического института в 2019 году.

В настоящее время модернизация системы высшего образования большое внимание уделяет про-

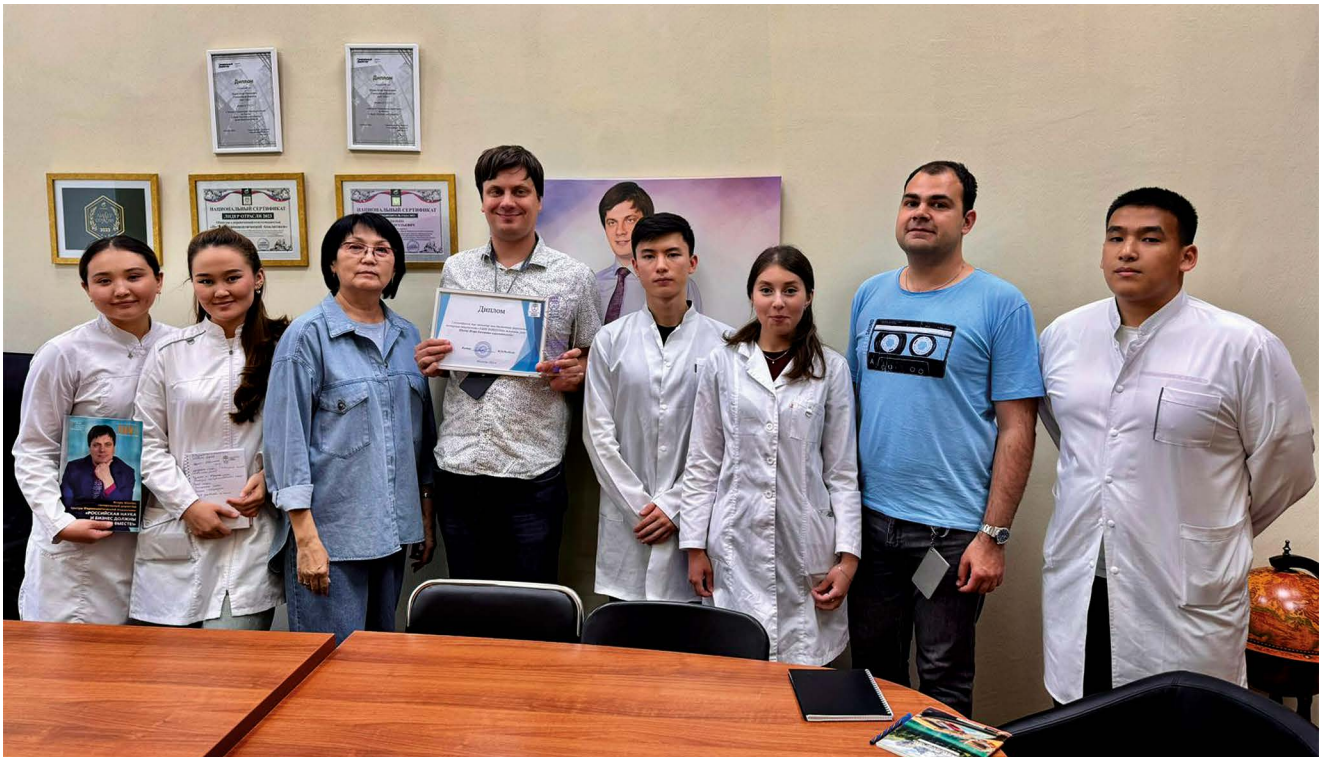


изводственной практике студентов. В этой связи с 2015 г. по инициативе **С. Ордабаевой** кафедра ежегодно на базе учебно-научной лаборатории ЮКМА принимает студентов Сеченовского университета, Башкирского государственного медицинского университета, Ташкентского фармацевтического института для прохождения производственной практики «Контроль качества и стандартизация лекарственных средств».

Организаторские способности **С. Ордабаевой** ярко проявляются в проведении международных форумов, посвященных фармацевтической науке и образованию. Зарубежные и отечественные коллеги из вузов-партнеров отмечают высокий уровень организации и эффективное проведение международных конференций на коммуникационной платформе G-Global, таких как «Интернационализация высшего образования: опыт, проблемы и перспективы» (2017 г.) и «Актуальные вопросы химико-токсикологического анализа: от образования к практике» (2018 г.). В июне 2020 года по инициативе **С. Ордабаевой** состоялась международная конференция «Фармацевтическое образование в период пандемии: проблемы и пути решения», на которой коллектив под ее руководством представил опыт проведения лабораторных занятий и организации профессиональной практики студентов в условиях дистанционного обучения. Ежегодно профессор **С. К. Ордабаева** организовывает международную конференцию постерных докладов «Инновационные идеи молодых исследователей» с участием вузов-партнеров. На конкурсе принимают участия студенты, магистры фармации и доктора PhD фармацевтических вузов Индии – College Of Pharmacy (Ooty), Academy of Higher Education & Research (Ooty), Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, РФ), Башкирского государственного медицинского Университета (Уфа, РФ), Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева (Бишкек, Кыргызстан) и др.



В рамках своей профессиональной деятельности профессор **С. К. Ордабаева** активно участвует в работе коллегиальных органов управления образовательными программами и научными структурами, а также в деятельности различных вузовских комиссий и рабочих групп. Она является членом Ученого совета, Научного совета, Методического совета, Совета факультета фармации, аккредитационной комиссии по фармации, аттестационной комиссии по защите магистерских диссертаций и др. Кроме того, профессор **С. К. Ордабаева** входит в состав редакционных коллегий ряда профильных научных журналов, включая «Казахстанский журнал медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан), «Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» (Москва, РФ), «Разработка и регистрация лекарственных средств» (Москва, РФ) и «Фармация» (Ташкент, Республика Узбекистан).



С. Ордабаева является победителем республиканского гранта «Лучший преподаватель вуза» МОН РК (2012 г.). В 2015 г. была победителем открытого международного онлайн-конкурса, по результатам которого присвоено звание «Ученый года» в категории «Медицинские науки» Оксфордским Академическим Союзом (OAU, Оксфорд, Великобритания), Клубом Ректоров Европы (CRE) и Европейской Бизнес Ассамблеей (EBA). Является победителем Республиканского конкурса Президентской программы «Болашак», в рамках которого прошла стажировку в Берлинском техническом университете (Германия, 2016 г.). В 2018 г. прошла стажировку и обмен опытом в области НИР и образовательного процесса по программе кредитной мобильности на базе Гданьского медицинского университета в рамках Европейского гранта «Эразмус-плюс».

Многолетний и плодотворный труд **С. Ордабаевой** отмечен нагрудным знаком «Отличник здравоохранения РК» МЗ РК (2007 г.), медалью «За верность профессии фармацевта» Республиканской Ассоциации по поддержке фармацевтического образования и науки (2014 г.), медалью «За вклад в систему здравоохранения» МЗ РК (2017г.), нагрудным знаком «Лучший выпускник» Казахского национального медицинского университета имени С. Ж. Асфендиярова (2025 г.).

Сауле Кутымовна отличается высоким профессионализмом, добросовестным отношением к работе, выдержанностью и тактичностью в деловом общении. Она требовательна как к себе, так и к коллегам, одновременно оставаясь доброжелательной, мудрой и отзывчивой. Благодаря этим качествам она заслужила искреннее уважение не только в своей стране, но и за ее пределами. Надежность и ответственность, с которыми она подходит к любому делу, делают сотрудничество с ней ценным как для подчиненных, так и для партнеров из других образовательных учреждений. **Сауле Кутымовна** не останавливается на достигнутом: она активно внедряет инновационные подходы в образовательный и научный процессы, неизменно добиваясь значимых результатов. Ее элегантность проявляется не только во внешности, но и в отношении к делу, которому она посвятила свою жизнь.

Коллектив Южно-Казахстанской медицинской академии, научно-педагогическое сообщество, коллеги, друзья, ученики, сотрудники кафедры и студенты от всей души поздравляют профессора **Ордабаеву Сауле Кутымовну**. с юбилеем, желают крепкого здоровья, неиссякаемого профессионального вдохновения, новых достижений, успешной реализации всех замыслов, а также счастья идти по жизни в окружении единомышленников, коллег и близких людей.

*От имени Центра Фармацевтической Аналитики, научно-производственного журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» поздравляем **Сауле Кутымовну** с юбилеем, желаем творческих успехов в научной и педагогической деятельности. Желаем Вам крепкого здоровья, неиссякаемой энергии и ясных мыслей для новых свершений. Пусть Вас всегда окружает уважение, признание и искренняя любовь. Пусть каждый новый день приносит Вам радость и удовлетворение от достигнутого, а годы только приумножают Ваше благополучие. По восточной традиции наши двери всегда открыты для Вас!*

Гербариум
Научный журнал

Новый научный журнал «Гербариум»

Разделы журнала

- ☑ Фармацевтическая ботаника
- ☑ Химия природных соединений
- ☑ Анализ и стандартизация лекарственного растительного сырья
- ☑ Технология фитопрепаратов
- ☑ Биотехнология лекарственных растений
- ☑ Биологическая активность природных субстанций
- ☑ Лекарственное растениеводство. Заготовка лекарственного растительного сырья. Ресурсоведение



Научный рецензируемый журнал «Гербариум» объединяет исследователей и производителей, работающих в области фармакогнозии, фармацевтической ботаники, а также в сфере поиска, создания и применения лекарственных средств растительного и иного природного происхождения.

Главный редактор журнала

Шохин Игорь Евгеньевич



Сайт журнала

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 этичного 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 А4 Microsof Word (*doc), Поля 2 см, шрифт Times New Roman, размер шрифта 14 пунктов через 1,5 интервала.

Объем рукописи: обзор – 15–20 страниц; оригинальные статьи – 10–12 страниц, включая литературу, таблицы и подписи к рисункам. Страницы рукописи следует нумеровать.

Перечень документов, подаваемый на рассмотрение в редакцию журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», должен включать в себя:

1. Сопроводительное письмо.
2. Текст статьи.

1. СОПРОВОДИТЕЛЬНОЕ ПИСЬМО

Авторы должны предоставить заполненное и подписанное сопроводительное письмо, приложив к нему указанные в тексте письма документы.

2. РУКОПИСЬ

РУССКОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Титульный лист:

1. УДК;
2. название статьи;
3. фамилии и инициалы авторов;
4. полные названия учреждений (надстрочными арабскими цифрами отмечают соответствие учреждений, в которых работают авторы), полный почтовый адрес учреждений;
5. e-mail и телефон автора, ответственного за контакты с редакцией
6. ORCID всех авторов статьи.

Резюме и ключевые слова

Объем резюме должен составлять 250–300 слов.

Резюме оригинальной статьи должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Цель (цель работы в сжатой форме).

Материалы и методы (методы исследования, если необходимо, то указать их преимущества по сравнению с ранее применявшимися методическими приемами; характеристика материала).

Результаты (основные результаты исследования).

Заключение (основные выводы).

Резюме обзорной статьи также должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Текст (описание содержания текста статьи в сжатой форме)

Заключение (основные выводы).

Все аббревиатуры в резюме необходимо раскрывать (несмотря на то, что они будут раскрыты в основном тексте статьи). Текст резюме должен быть связанным, с использованием слов «следовательно», «например», «в результате».

На сайте британского издательства Emerald приведены примеры качественных рефератов для различных типов статей (обзоры, научные статьи, концептуальные статьи, практические статьи – http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=2&PHPSESSID=hdac5rtkb73ae013ofk4g8nrv1)

Ключевые слова: (5–8) помещают под резюме после обозначения «Ключевые слова». Ключевые слова должны использовать термины из текста статьи, определяющие предметную область и способствующие индексированию статьи в поисковых системах, и не повторять название статьи.

Вклад авторов. Авторы должны написать информацию о их вкладе в работу (пример: Авторы X1, X2 и X3 придумали и разработали эксперимент, авторы X4 и X5 синтезировали образцы и провели их электрохимическое исследование. X3 и X4 провели исследования методом спектроскопии комбинационного рассеяния и ЯМР. Авторы X1 и X6 участвовали в обработке данных. Автор X7 проводил теоретические расчеты. Авторы X1, X2 и X7 участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов).

АНГЛОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Article title

Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

Affiliation

Необходимо указывать официальное англоязычное название учреждения и почтовый адрес. Наиболее полный список названий учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: http://elibrary.ru

Образец оформления

Mental Health Research Institute

4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

Abstract

Резюме статьи на английском языке должно по смыслу и структуре (для оригинальной статьи: Introduction, Aim, Materials and methods, Results and discussion, Conclusion; для обзорной статьи: Introduction, Text, Conclusion) соответствовать русскоязычному, по содержанию может быть более полным. Необходимо использовать активный, а не пассивный залог. Во избежание искажения основных понятий желательно иметь соответствующие английские термины. Это особенно важно, когда приводятся названия особых заболеваний, синдромов, упоминаются авторы или конкретные методы.

Keywords

Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings (MeSH).

Contribution of the authors. Вклад авторов на английском языке должен соответствовать русскоязычному.

ОСНОВНОЙ ТЕКСТ

Оригинальные статьи должны иметь следующую структуру: а) введение; б) материалы и методы; в) результаты; г) обсуждение; д) заключение.

Обзорные статьи должны иметь следующую структуру а) введение; б) текст; д) заключение.

Текст обзорной статьи следует разделять на соответствующие содержанию статьи подразделы.

Должен быть переведен текст в таблицах и в рисунках. Текст должен быть и на русском, и на английском языках.

Введение

В разделе дается обоснование актуальности исследования и четко формулируется цель исследования.

Материалы и методы

Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии — группировочного или химического названия. Международные непатентованные названия фармацевтических субстанций и торговые наименования лекарственных средств необходимо оформлять в соответствии с Государственным реестром лекарственных средств (grls.rosminzdrav.ru). При описании в работе результатов клинических исследований необходимо привести номер и дату разрешения на проведение клинического исследования согласно Реестру выданных разрешений на проведение клинических исследований лекарственных препаратов.

При описании используемых общелабораторных реактивов следует приводить их наименование, класс чистоты, фирму-производителя и страну происхождения [пример: хлористоводородная кислота, х.ч. (Сигма Тек, Россия)]. При описании специфических импортных реактивов [пример: из каталога Sigma-Aldrich] необходимо дополнительно приводить каталожный номер реактива.

При описании исследуемых лекарственных средств необходимо приводить их торговое наименование, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: Синдранол 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-производитель, страну происхождения, серию и срок годности [пример: римантадина гидрохлорид, субстанция-порошок, содержание римантадина 99,9 %, Чжецзян Апелоа Кангю Фармацеутикал 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, написании 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/EEC) 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 алфавиту. 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 psychophar-macogenetics]. 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):111–117DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

References

Shulzhenko M. G., Vasilenko I. A., Ugrak B. I., Shohin I. E., Medvedev Yu. V., Malashenko E. A. Comparative analysis of methods for determining the authenticity of the substance – «Dalargin» inquiry. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):111–117. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

4. Литература/References

Üçok A., Gaebel W. Side effects of atypical antipsychotics: a brief overview. *World Psychiatry*. 2008;7(1):58–62. DOI: 10.1002/j.2051-5545.2008.tb00154.x.

5. Литература/References

Cornier M. A., Dabelea D., Hernandez T. L., Lindstrom R. C., Steig A. J., Nicole R. S., Van Pelt R. E., Wang H., Eckel R. H. The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*. 2008;29(7):777–822. DOI: 10.1210/er.2008–0024.

В библиографическом описании каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. Список литературы должен соответствовать формату, рекомендуемому Американской Национальной Организацией по Информационным стандартам (National Information Standards Organisation – NISO), принятому National Library of Medicine (NLM) для баз данных (Library's MEDLINE/PubMed database) NLM: http://www. nlm.nih.gov/citingmedicine.

Названия периодических изданий могут быть написаны в сокращенной форме в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine (NLM Catalog). Обычно эта форма написания самостоятельно принимается изданием; ее можно узнать на сайте издательства либо в списке аббревиатур Index Medicus. Если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название. Названия отечественных журналов сокращать нельзя. Недопустимо сокращать название статьи.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Монографии

Выходные данные указываются в следующей последовательности: фамилия и инициалы автора (авторов), название монографии (полностью раскрывая все слова), номер повторного издания, место издания (город), издательство, год издания, количество страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Соколова Г. Н., Потапова В. Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис; 2009. 328 с.

References

Sokolova G. N., Potapova V. B. *Kliniko-patogeneticheskie aspekty yazvennoy bolezni zheludka* [Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer]. Moscow: Anacharsis; 2009:328 p. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Jenkins P. F. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.

Статья из журнала

Выходные данные указываются в следующей последовательности: автор(ы) (фамилии и инициалы всех авторов). Название статьи. Название журнала (курсивом). Год; том (в скобках номер журнала): цифры первой и последней страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Шишкин С. В., Мустафина С. В., Щербакова Л. В., Симонова Г. И. Метаболический синдром и риск инсульта в популяции Новосибирска. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2014;13(3):53–57.

References

Shishkin S. V., Mustafina S. V., Shcherbakova L. V., Simonova G. I. Metabolic syndrome and risk of stroke in the population of Novosibirsk. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2014;13(3):53–57. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Dickerson F. B., Brown C. H., Kreyenbulh J. A., Fang L., Goldberg R. W., Wohlheiter K., Dixon L.B . Obesity among individuals with serious mental illness. Acta Psychiatr Scand. 2006;113(4):306–313. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2005.00637.x.

Варианты библиографического описания материалов конференций: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7272/

Варианты библиографического описания патентов: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7260/

Варианты библиографического описания ресурсов удаленного доступа: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7274/

DOI

Во всех случаях, когда у цитируемого материала есть цифровой идентификатор Digital Object Identifier (DOI), его необходимо указывать в самом конце библиографической ссылки. Проверять наличие DOI статьи следует на сайте http://search.crossref.org/ или https://www. citethisforme.citethisforme.com.

Для получения DOI нужно ввести в поисковую строку название статьи на английском языке. Данный сайт, помимо DOI, автоматически генерирует правильно оформленное библиографическое описание статьи на английском языке в стиле цитирования AMA. Подавляющее большинство зарубежных журнальных статей с 2000 г. и многие русскоязычные статьи (опубликованные после 2013 г.) зарегистрированы в системе CrossRef и имеют уникальный DOI. За достоверность и правильность оформления представляемых библиографических данных авторы несут ответственность вплоть до отказа в праве на публикацию.

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ

Таблицы и рисунки должны быть представлены на русском и английском языках.

Таблицы

Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок на русском и английском языке и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию.

Ссылки на таблицы в тексте обязательны. Для сноски применяется символ *. Если используются данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, должно быть полностью приведено его название.

Рисунки

Все рисунки (диаграммы, фотографии) нумеруются. В тексте должна быть ссылка на соответствующий рисунок.

Каждый рисунок должен сопровождаться подрисуночной подписью на русском и английском языках. В подрисуночных подписях не должно быть аббревиатур. Внутририсуночные 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.

pharmtech & ingredients

28-я Международная выставка оборудования, сырья и технологий для фармацевтического производства

28th International exhibition of equipment, raw materials and technologies for pharmaceutical manufacturing



24–27.11.2026

Москва, Крокус Экспо
Crocus Expo, Moscow, Russia

Забронируйте стенд

Book your stand

pharmtech-expo.ru

+7 495 799 55 85
pharmtech@ite.group

ITE ОРГАНИЗАТОР
ORGANISER

0+

научно-производственный журнал

РРЛС

разработка и регистрация лекарственных средств

Журнал является Open Access изданием со свободным бесплатным доступом к научным трудам ученых, с которыми читатель может ознакомиться в интернете.

Журнал предназначен для фармацевтических предприятий-производителей и их сотрудников из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудников лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений.

Основные пять тематических разделов журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» включают цикл развития лекарственного средства от его создания до получения регистрационного удостоверения.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», соответствует отраслям науки:

- ✓ 3.3.6. 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).

Журнал индексируется в ведущих научных базах:

- ✓ Scopus (Q3).
- ✓ Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
- ✓ Высшая аттестационная комиссия (ВАК).
- ✓ А также ВИНИТИ, Академия Google (Google Scholar), СОЦИОНЕТ, Base, РГБ, Lens.

Издательские услуги:

Английский перевод статей

- ➢ Услуга комплексного перевода.
- ➢ Производство англоязычной статьи, включающее верстку и научный перевод.

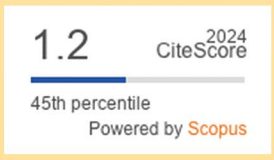
Специальный выпуск журнала

- ➢ При заключении договора сотрудничества возможна публикации специального выпуска журнала.

Специальный выпуск, посвященный 10-летию ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России», был выпущен номером Том 10, № 4 (2021).

Журнал является **Open Access** изданием со свободным бесплатным доступом к научным трудам ученых, с которыми читатель может ознакомиться в интернете.







Основатель журнала и главный редактор – д. фарм. н., генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» **Шохин Игорь Евгеньевич**

По вопросам сотрудничества просьба обращаться на почту: **info@cpha.ru**

научно-производственный журнал

РРЛС

разработка и регистрация лекарственных средств



Электронный журнал

Печатный журнал

Информационный ресурс

Фармацевтический журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Наша аудитория:

Среди наших читателей специалисты и руководители отделов разработки ЛС, контроля и обеспечения качества, специалисты по ДКИ, КИ, отделов регистрации, сотрудники аналитических лабораторий, технологи, инженеры, а также топ-менеджмент фармацевтических компаний.

Разделы журнала:

- Поиск и разработка новых лекарственных средств.
- Фармацевтическая технология.
- Методы анализа лекарственных средств.
- Доклинические и клинические исследования.
- Регуляторные вопросы.

Аудитория **10 000+**
Нас читают **Россия, СНГ**

Партнер ключевых мероприятий отрасли

Периодичность выхода журнала **4 раза в год**

Распространяется **бесплатно**

Мы в Telegram

По вопросам сотрудничества

info@pharmjournal.ru
info@chpa.ru