

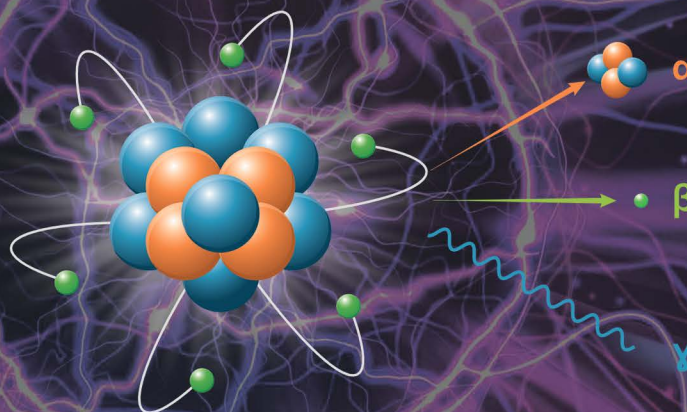


НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

RESEARCH & PRODUCTION JOURNAL

Уникальное отечественное решение
для ВЗЖХ радиофармпрепаратов: **хроматограф**
"Скороход" с γ-радиометрическим детектором



- ✓ 2 года гарантии
- ✓ Производство полного цикла
- ✓ Единое ПО Мультихром для управления всеми модулями
- ✓ Квалификация IQ/OQ

- ⚙ Регистрация в реальном времени γ-спектра радионуклида с возможностью построения 3D-хроматограммы.
- ⚙ Настраиваемая геометрия детектора для работы в аналитическом и препаративном режимах.
- ⚙ Детектор γ-излучения с твердотельным сцинтиллятором. Детектор для β- и α-излучающих радионуклидов с жидким сцинтиллятором.
- ⚙ Автодозатор прямого дозирования (split-loop) для ввода самых малых объемов без перерасхода пробы или полуавтоматический ручной инжектор.

SKOROKHOD


 +7 (926) 142-95-12


 nan@sevko.net

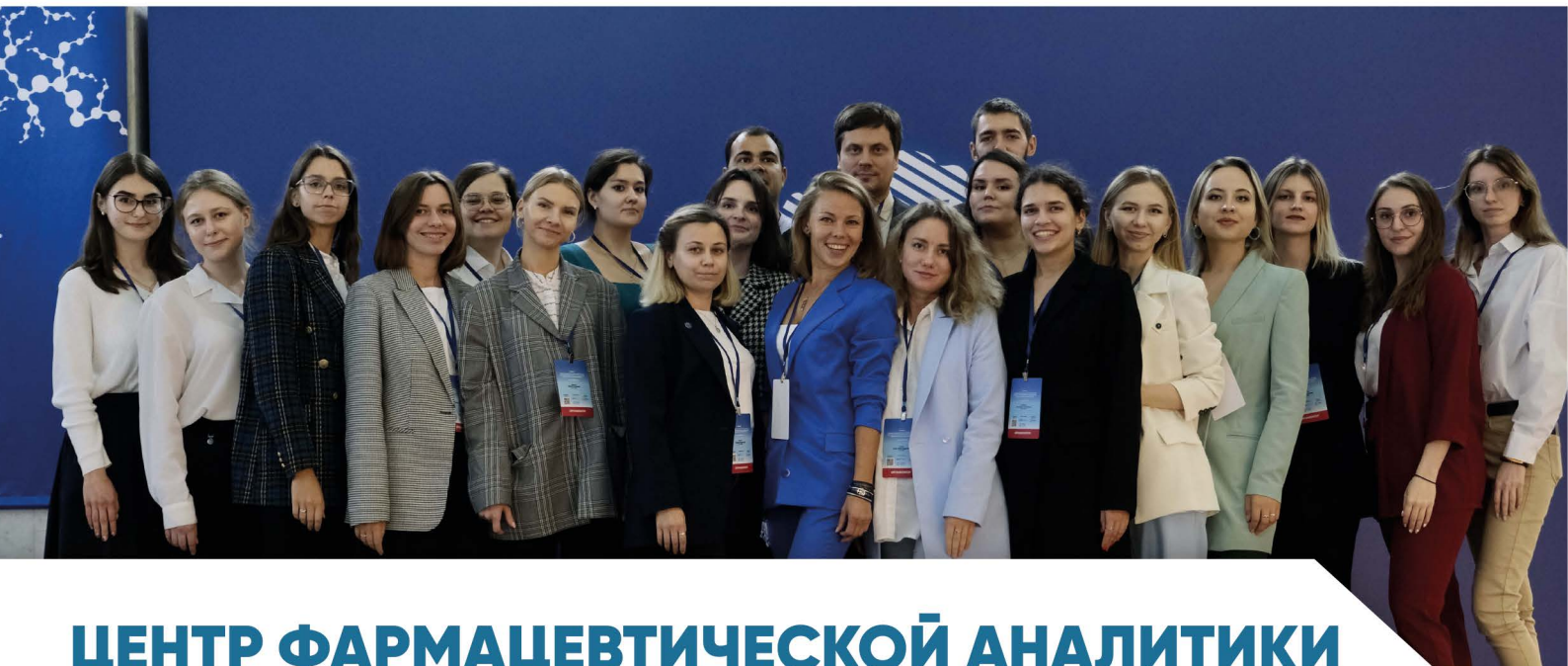
SEVKO


 АМПЛИТУДА

Том 15, № 2. 2026
Volume 15, No. 2. 2026



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



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?



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



РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Научно-производственный журнал

2026. Том 15, № 2

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

Research & production journal

2026. Volume 15, No. 2

Цели и задачи журнала

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

Первый раздел посвящен поиску и разработке новых лекарственных средств.

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

Третий раздел описывает аналитические методики контроля качества.

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

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

Главный редактор

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

Заместители главного редактора

Хуторянский В. В. – канд. хим. наук, Prof., BSc MSc PhD MRSC, School of Pharmacy, University of Reading, Рединг, Великобритания

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

Скорик Ю. А. – доц., канд. хим. наук, 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. – канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия

Арчакова О. А. – канд. фарм. наук, заведующая ЛБАИ ИЦ ООО «ЦФА», Москва, Россия

Бахрушина Е. О. – д-р фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

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

Белоусов М. В. – проф., д-р фарм. наук, заведующий кафедрой фармации ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия

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

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

Ваизова О. Е. – доц., д-р мед. наук, профессор кафедры фармакологии ФБГОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», Томск, Россия

Гузев К. С. – д-р фарм. наук, уполномоченное лицо АО Фармацевтическое научно-производственное предприятие «Ретиноиды», Москва, Россия

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

Джупарова И. А. – доц., д-р фарм. наук, заведующий кафедрой управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товарооборота ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», Новосибирск, Россия

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

Зарубина И. В. – проф., д-р биол. наук, старший преподаватель, Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Министерства обороны Российской Федерации, Москва, Россия

Ивкин Д. Ю. – канд. биол. наук, 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-р фарм. наук, зав. кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Каракулова Е. В. – д-р фарм. наук, доц., профессор кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», Томск, Россия

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

Крикова А. В. – д-р фарм. наук, доц., зав. кафедрой управления и экономики фармации, декан фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия

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

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

Малашенко Е. А. – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

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

Мирошниченко И. И., д-р мед. наук, заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ «Научный центр психического здоровья» (НЦПЗ), Москва, Россия

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

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

Пожарническая О. Н. – канд. фарм. наук, старший научный сотрудник Мурманского морского биологического института РАН (ММБИ РАН), Мурманск, Россия

Попов В. В. – д-р мед. наук, профессор кафедры терапии с курсом фармакологии Медицинского института непрерывного образования, ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ». Врач – Клинический фармаколог ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» имени Н. А. Семашко», Москва, Россия

Русинов В. Л. – чл. корр. РАН, д-р хим. наук, директор Химико-технологического института ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

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

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

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

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

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

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

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

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

ISSN 2305-2066 (Print)

ISSN 2658-5049 (Online)

Наименование органа, зарегистрировавшего издание

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).
Свидетельство ПИ № ФС77-60744 от 11 февраля 2015 г.
Журнал зарегистрирован в Национальном центре ISSN Российской Федерации.
Свидетельство ЭЛ № ФС77-75437 от 01 апреля 2019 г.

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.

Компьютерная верстка

Михайлова Н. С.

Корректор

Дедков А. 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

Сайт

www.pharmjournal.ru

E-mail

info@pharmjournal.ru

Дата выхода номера в свет

29.05.2026

Копирайт

© Авторское право на статьи. Авторы, 2026

Адрес типографии

ООО «МАКС ПРЕСС»

Россия, 141092, Московская область, г. Королев, микрорайон Юбилейный, ул. Парковая, д. 2, кв. 103

Условия распространения материалов

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License



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. The 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 **five main 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. Sci. (Pharm.), CEO of LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"), Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief

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

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

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

Editorial board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ISSN 2305-2066 (Print)	
ISSN 2658-5049 (Online)	
Name of the body that registered the publication	The journal is registered with the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media (Roskomnadzor). Certificate PI No. FS77-60744 dated February 11, 2015. The journal is registered with the National ISSN Center of the Russian Federation. Certificate EL No. FS77-75437 dated April 1, 2019
Print version founders	LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) Address: 8, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia Siberian State Medical University Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, Russia
Online version founders	LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia
Publisher	LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA") Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia
Journal director	Natalia V. Kuldjanova
Managing Editor	Nadezhda S. Mikhaylova
Computer layout	Nadezhda S. Mikhaylova
Proofreader	Alexander S. Dedkov
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
Website	www.pharmjournal.ru
E-mail	info@pharmjournal.ru
Date of issue publication	29.05.2026
Copyright	© Articles copyright. Authors, 2026
Printing house address	LLC "MAX PRESS" 2/103, Parkovaya str., Yubileyny microdistrict, Korolev, Moscow region, 141092, Russia
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	34
Поиск и разработка новых лекарственных средств	
Количественное определение компонентов полифенольных композиций посредством измерения кинетики накопления радикал-катионов ABTS^{•+} К. С. Воронин, И. Р. Ильясов, В. В. Оличева, А. К. Жевлакова, В. Л. Белобородов, И. А. Селиванова	37
Интегрированное компьютерное исследование производных пиримидин-2,4-диона в качестве двойных ингибиторов РНКазы и обратной транскриптазы ВИЧ-1 Я. Эль Масауди, Х. М. Рахман, М. Алакарбех, Х. Магат, Т. Лахлифи, М. Буахрин	43
Фармацевтическая технология	
Разработка состава лекарственной формы с помощью методологии поверхности отклика О. А. Зырянов, Г. Э. Бркич, Н. В. Пятигорская, Б. Б. Сысыев, М. И. Лавров, Р. Ф. Аббасов	58
Термочувствительные полимеры в системах доставки лекарств (обзор) Д. О. Маслов, М. С. Золотарева	72
Применение рискориентированного подхода для определения критических параметров процесса получения лиофилизата на основе производного ЛХС-1269 А. В. Ланцова, Е. В. Санарова, О. Л. Орлова, А. П. Колпаксиди, Н. А. Оборотова, Л. Л. Николаева, З. С. Шпрах	81
Разработка эффективных технологий выделения органического кальция из отходов переработки арктических креветок А. Н. Шиков, У. К. Ф. Ахуну, А. А. Калета, Ю. Э. Генералова, И. И. Тернинко, И. Е. Смехова, О. Н. Пожарицкая	92
Методы анализа лекарственных средств	
Опыт проведения валидации методики оценки активации рецептора GLP-1R <i>in vitro</i> при стимуляции препаратом тирзепатид А. Н. Афанасьева, В. Б. Сапарова, Д. О. Ермолаева, И. Е. Макаренко, Р. В. Драй	104
Доклинические и клинические исследования	
Эволюция клинических исследований: комплексный анализ ICH E6(R3) и интегрированных систем управления качеством в клинических исследованиях в фармацевтической отрасли М. М. Камха, Б. Ю. Маргаева, Н. А. Бабичева, С. Е. Ульянова	112
Математическое моделирование фармакокинетики парентеральных лекарственных препаратов пролонгированного высвобождения Л. А. Муртазалиева, А. Ю. Савченко, А. Я. Хайменов, А. С. Павлов, И. Е. Балакин, В. И. Пустовойт	125
Исследование влияния метформина в малых дозах на поведенческие характеристики и биохимические показатели половозрелых крыс А. З. Хафизова, Д. О. Никитин, Р. Г. Садыкова, В. Б. Гаврилова, А. В. Никитина, Р. И. Мустафин, И. И. Семина	137
Оценка состояния кратковременной распознающей памяти у агути-мутантных мышей <i>A^{y/a}</i> В. А. Приходько, Е. А. Карелина, Т. М. Матузок, А. Б. Изотова, С. В. Оковитый	146
Разработка и валидация ВЭЖХ-МС/МС-методики количественного определения нового производного сиднонимина и его метаболитов в плазме крови кроликов Н. С. Попов, Д. А. Гавриленко, М. С. Баранов, Д. Е. Каурова, И. Н. Мяснянко, И. А. Солоха, В. Ю. Балабаньян	154

Фармакологическое управление выживаемостью ГАМКергических нейронов в условиях острой ишемии: возможности нового производного гидроксипиридина	
Р. М. Термулаева, Н. Д. Бунятян, Д. О. Шматок, Д. Е. Тимошкин, И. В. Федосейкин, А. А. Дмитриев, Е. В. Блинова, О. Н. Дерябина, Е. В. Семелева, Д. С. Блинов	172
Разработка, валидация и апробация биоаналитической методики определения этмабена в плазме крови и органах крыс методом ВЭЖХ-УФ	
А. Б. Зеленцова, А. Ю. Гришина, Ю. Э. Генералова, Д. Ю. Ивкин, И. И. Тернинко	179
Физико-химическая и биологическая характеристика лекарственного препарата РинЛиз®	
С. С. Арутюнян, Р. В. Драй, И. А. Луговик, А. В. Бабина, В. Б. Сапарова, Т. А. Сельменских, П. Г. Заикин, Т. Э. Елтышева, И. Е. Макаренко	190
Нейропротекторное действие ранолазина и фамотидина на мышинной модели болезни Альцгеймера	
М. Х. Садик, А. А. Аль-Зубайди, Н. Л. Ваххаб	207

CONTENTS

Introduction	10
Events	34
Research and development of new drug products	
Polyphenolic combinations quantification through ABTS^{•+} radical cations accumulation kinetics measurement Konstantin S. Voronin, Igor R. Ilyasov, Vera V. Olicheva, Anastasiya K. Zhevlakova, Vladimir L. Beloborodov, Irina A. Selivanova	37
Integrated Computational Exploration of Pyrimidine-2,4-dione Derivatives as Dual HIV-1 RT/RNase H Inhibitor Yassine El Masaoudy, Hafiz Muzzammel Rehman, Marwa Alaqarbeh, Hamid Maghat, Tahar Lakhlifi, Mohammed Bouachrine	43
Pharmaceutical Technology	
Development of dosage form composition using response surface methodology Oleg A. Zyryanov, Galina E. Brkich, Natalia V. Pyatigorskaya, Boris B. Sysuev, Mstislav I. Lavrov, Ramil F. Abbasov	58
Thermosensitive polymers in drug delivery systems (review) Dmitriy O. Maslov, Mariia S. Zolotareva	72
Application of a risk-based approach to determine critical parameters of the process of obtaining a lyophilisate based on a derivative of LCS-1269 Anna V. Lantsova, Ekaterina V. Sanarova, Olga L. Orlova, Alexander P. Kolpaksidi, Natalia A. Oborotova, Lyudmila L. Nikolaeva, Zoya S. Shprakh	81
Development of effective technologies for extraction of organic calcium from arctic shrimp processing waste Alexander N. Shikov, Urielle K. F. Ahounou, Alyona A. Kaleta, Yuliya E. Generalova, Inna I. Terninko, Irina E. Smekhova, Olga N. Pozharitskaya	92
Analytical Methods	
Experience in validating a method for assessing GLP-1R receptor activation <i>in vitro</i> upon stimulation with tirzepatide Alina N. Afanaseva, Valeria B. Saparova, Daria O. Ermolaeva, Igor E. Makarenko, Roman V. Dray	104
Preclinical and clinical study	
Evolution of clinical trials: a comprehensive analysis of ICH E6(R3) and integrated quality management systems in the pharmaceutical industry Mikhail M. Kamkha, Bulgun Y. Margaeva, Natalia A. Babicheva, Svetlana E. Ulyanova	112
Mathematical pharmacokinetics modeling of parenteral depot formulations Leila A. Murtazaliev, Alla Yu. Savchenko, Alexander Ya. Khaimenov, Alexander S. Pavlov, Evgenii I. Balakin, Vasily I. Pustovoit	125
Study of the effect of metformin in small doses on the behavioral characteristics and biochemical parameters of rats Ajgul Z. Hafizova, Dmitry O. Nikitin, Raziya G. Sadykova, Viktoriya B. Gavrilova, Anastasiya V. Nikitina, Rouslan I. Moustafine, Irina I. Semina	137
Short-time recognition memory assessment in agouti-mutant <i>A^y/a</i> mice Veronika A. Prikhodko, Ekaterina A. Karelina, Tatyana M. Matuzok, Anna B. Izotova, Sergey V. Okovityi	146
Development and validation of HPLC-MS/MS technique for the quantitative determination of a new derivative of sydnonymin and its metabolites in rabbit plasma Nikita S. Popov, Dmitry A. Gavrilenko, Mikhail S. Baranov, Diana E. Kaurova, Ivan N. Myasnyanko, Ivan A. Solokha, Vadim Yu. Balabanyan	154

**Pharmacological management of GABAergic neurons survival in ischemic conditions:
the role of a novel hydroxypyridine compound**

Rita M. Termulaeva, Natalia D. Bunyatyan, Danil O. Shmatok, Dmitry E. Timoshkin, Ilya V. Fedoseikin,
Aleksandr A. Dmitriev, Ekaterina V. Blinova, Olga N. Deryabina, Elena V. Semeleva, Dmitrii S. Blinov 172

**Development, validation and testing of the HPLC-UV bioanalytical method for quantification
of etmaben in blood plasma and organs of rats**

Anna B. Zelentsova, Anna Yu. Grishina, Yulia. E. Generalova, Dmitrii Yu. Ivkin, Inna I. Terninko 179

Physicochemical and biological characterization of the medicinal product RinLis®

Sona S. Arutyunyan, Roman V. Draï, Ilya A. Lugovik, Anna V. Babina, Valeriya B. Saparova,
Tatyana A. Selmenskikh, Pavel G. Zaikin, Tatyana E. Eltyшева, Igor E. Makarenko 190

Neuroprotective effect of ranolazine and famotidine in a mouse model of Alzheimer's disease

Mariam Hadi Sadiq, Adeeb Ahmed Al-Zubaidy, Nawres Lateef Wahab 207

Редакционная статья / Editorial article

Регистрационные исследования лекарственных средств: от лаборатории до досье обсудили в рамках XIX конгресса «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Мы обсудили критически важные лабораторные этапы в процессе регистрации лекарственных средств, рассмотрели актуальные регуляторные требования и поделились практическими подходами к организации и проведению исследований, результаты которых формируют ключевые разделы регистрационного досье.

Registration studies of medicines: from the laboratory to the dossier were discussed at the XIX Congress "Drug Development and registration"

We discussed critical laboratory steps in the drug registration process, reviewed current regulatory requirements, and shared practical approaches to organizing and conducting research, the results of which form key sections of the registration dossier.



Организаторами конгресса выступают Центр Фармацевтической Аналитики, журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств», журнал «Гербариум» и Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет.

Мероприятие посетили порядка 200+ слушателей, с нами были более 95 докладчиков, нас поддержали 20+ партнеров.

Докладчики конгресса – топ-менеджеры крупных фармацевтических компаний, представители государственных органов власти, научных организаций, а также отраслевых ассоциаций и инвестиционных фондов.

Открывала мероприятие **Наталья Вячеславовна Кульджанова**, директор журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», руководитель пресс-службы Центра Фармацевтической Аналитики. «Мы рады, что каждый год в этом зале собираются профессионалы, определяющие будущее фармацевтики. Это ученые, разработчики, эксперты в области исследований, регистрации и регуляторики. 19-й конгресс – не просто цифра, а показатель важности диалога между всеми участниками отрасли, свидетельство того, что мы вместе с вами посто-

янно движемся вперед, вслед за стремительно меняющимся миром.

Желаем всем участникам эффективной работы, живых дискуссий, смелых гипотез и профессиональных открытий. Пусть каждый день конгресса принесит новые идеи и знакомства», – отметила **Наталья Вячеславовна**.

В качестве почетного гостя конгресса выступил директор ФБУ «ГИЛС и НП» **Шестаков Владислав Николаевич**. **Владислав Николаевич** выразил уверенность в том, что за годы работы конгресс зарекомендовал себя как авторитетная площадка для междисциплинарного обсуждения вопросов разработки и регистрации лекарственных средств. «Особую ценность диалог приобретает сегодня – в период масштабной трансформации отрасли, когда необходимо наращивать компетенции и отвечать на растущие запросы по созданию и выводу на рынок инновационных отечественных разработок. Ключевыми факторами успеха остаются опора на научные институты, промышленное производство и передовую лабораторно-клиническую базу. При этом регуляторная система также должна непрерывно совершенствоваться, не отставая от дина-

мики изменений», – отметил в своей приветственной речи **Владислав Николаевич**.

На открытии XIX конгресса «Разработка и регистрация лекарственных средств» с приветственным словом выступил также ректор Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета **Игорь Анатольевич Наркевич**. **Игорь Анатольевич** отметил, что в центре внимания конгресса – разработка (оригинальных и воспроизведенных) лекарственных препаратов, доклинические и клинические исследования, технологии производства и регуляторные вопросы. А знания и опыт, накопленные участниками, станут основой для плодотворных дискуссий и новых идей.

Сысуев Борис Борисович, д. фарм. н., профессор, Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М. В. Ломоносова, выступил с темой доклада: «Учебный центр ЦФА: подготовка кадров как современный тренд для будущего отечественной фармы». В своем докладе он отметил, что технологические изменения на рынке привели к разрыву между ожиданиями и реальностью. Это связано с переходом к формату 4.0, развитием искусственного интеллекта, больших данных и умных технологий, а также динамическим обновлением стандартов GMP, EAS и других. Главная причина проблемы – недостаточное образование. Новые сотрудники приходят на работу с минимальным набором навыков из-за базовых учебных программ и устаревшей материальной базы. Корпоративное обучение часто формальное и не ориентировано на конкретные цели. Сотрудники не понимают, как обучение связано с их карьерой, что снижает мотивацию. Последствия для бизнеса – финансовые потери, репутационные риски и угроза технологического суверенитета.

Борис Борисович представил новую модель обучения на базе ООО «ЦФА». Отметил, что Центр предлагает решение проблемы через экосистему обучения для сотрудников фармпроизводства и регуляторных отделов. Мы создаем замкнутый цикл развития компетенций, чтобы сотрудники могли совершенствовать свои навыки в течение рабочего процесса. Мы оцениваем потребности в компетенциях и предлагаем микрообучение на основе ключевых навыков: практика и реагирование на реальные кейсы и процессы. Обучение проводится в определенный момент: при запуске нового продукта, аудите или возникновении отклонений. Все материалы персонализированы для каждого сотрудника.

Деловая программа этого года отличалась высокой насыщенностью и разнообразием. В течение двух дней участники конгресса обсудили современные тенденции и перспективы клинических и доклинических исследований, регистрацию лекарственных средств и регуляторные вопросы действующего законодательства ЕАЭС, регистрационные исследования лекарственных средств: от лаборатории до досье. Кроме того, поговорили про препараты клеточной и генной терапии, мРНК-платформы и онколитические препараты трансформирующие требования к GxP. В фокусе внимания были секции, посвященные единому рынку ЕАЭС – регистрация ЛС и регуляторные вопросы действующего законодательства, QbD, доставке и дизайну лекарств нового поколения, качеству лекарственных средств на этапах жизненного цикла, а также разработке, регистрации, производству и изготовлению РФЛП. Вместе мы ответили на вопрос, из каких компонентов складывается качественное доклиническое исследование? Отдельная дискуссия была посвящена тому, как биостатистика превращает цифры в решения о судьбе лекарст-





венного средства, а также разработке и исследованиям биотехнологических лекарственных средств. В рамках конгресса проводились мастер-классы по ТСКР и надлежащей публикационной практике. Впервые состоялся мастер-класс «Оптимизация разработки ТЛФ на основе анализа взаимосвязи между растворением и проницаемостью действующего вещества» от ведущего научного консультанта компании Electrolab India Pvt. Ltd. Наравне с ведущими экспертами отрасли в рамках конгресса с докладами о своих разработках впервые выступили молодые ученые и специалисты.

Открывала мероприятие флагманская секция конгресса – «Регистрационные исследования лекарственных средств: от лаборатории до досье». Модераторами секции выступили **Комаров Тимофей Николаевич**, д. фарм. н., директор исследовательского центра ООО «ЦФА», и **Щелгачева Дана Салаватовна**, и. о. заведующего лабораторией биоаналитических исследований ООО «ЦФА».

В рамках секции мы обсудили критически важные лабораторные этапы в процессе регистрации лекарственных средств. Кроме того, мы рассмотрели актуальные регуляторные требования и поделились практическими подходами к организации и проведению исследований, результаты которых формируют ключевые разделы регистрационного досье.

В первой части пленарной сессии **Алпатова Наталья Александровна**, д. б. н., главный эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в своем докладе рассмотрела особенности оценки биологических свойств биотехнологических лекарственных препаратов (белки, моноклональные антитела, конъюгаты), которые отличаются сложной структурой и высокой специфичностью действия. Ключевые особенности и подходы к изучению:

- *Специфика анализа.* Из-за сложности молекул и их видовой специфичности требуется особый подход к доклиническим исследованиям (фармакодинамика, токсичность, иммуногенность).
- *Функциональность антител.* Оценка моноклональных антител включает изучение связывания с антигеном и эффекторных функций, включая

взаимодействие с рецепторами иммунных клеток и системой комплемента. Важную роль играет анализ гликозилирования.

- *Цель исследований.* Установить четкую связь между биологической активностью препарата и его клиническим эффектом для обеспечения эффективности и безопасности.

Изучение биологических свойств критически важно на всех этапах жизненного цикла препарата – от разработки и подтверждения биоподобия до пострегистрационного мониторинга. Это фундамент, обеспечивающий эффективность и безопасность терапии.

Еременко Наталья Николаевна, заместитель начальника управления экспертизы № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля ГЛС ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России выступила с докладом о сравнительной кинетике растворения лекарственных препаратов в рамках Решения № 93 «О внесении изменений в Правила регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения» от 26 ноября 2025 г. Наталья Николаевна акцентировала внимание на новых требованиях к проведению теста сравнительной кинетики растворения при внесении изменений в регистрационное досье лекарственных средств, установленных решением № 93, вступившим в силу 26 декабря 2025 года. Ключевые изменения и область применения:

- *Основание.* Новое решение № 93 (дополнение 5) обязывает проводить тест сравнительной кинетики растворения в пострегистрационный период при изменениях в досье.
- *Причины для исследований.* Тест требуется при изменениях, касающихся активной фармацевтической субстанции: смена производителя, новый способ синтеза, внесение новой производственной площадки или отсутствие мастер-файла.
- *Цель.* Подтверждение постоянства технологического процесса и устранение сомнений в качестве препарата после внесенных изменений.
- *Регламент.* В новых правилах четко прописано необходимое количество серий для тестирования, что является частым запросом при подаче документов.

С вступлением в силу решения № 93 перечень ситуаций, требующих проведения теста сравнительной кинетики растворения, расширен. Теперь это обязательный инструмент для подтверждения качества и эквивалентности препарата при пострегистрационных изменениях, особенно связанных с производством активной субстанции.

Параг Гадкари, ведущий научный консультант компании Electrolab India Pvt. Ltd, выступил с темой доклада: «Отклонение результатов растворения за пределы установленных спецификаций как критический показатель качества при разработке ЛС». **Параг Гадкари** подробно рассказал о результатах, выходящих за пределы спецификации (OOS) при проведении теста растворения, которые являются важным сигналом о возможных проблемах в разработ-

ке лекарственного средства. Однако такие отклонения часто воспринимаются как аналитические ошибки, на практике они могут быть вызваны иными факторами – например, неправильной установкой валов, загрязнением оборудования или нарушением стандартной процедуры ввода образца. Именно поэтому регуляторные органы, такие как FDA, MHRA и PIC/S, требуют обязательного расследования любого результата вне спецификаций. Ключевая задача – не просто устранить последствия, а предотвратить саму возможность возникновения отклонений.

Современные решения позволяют автоматизировать контроль параметров перед началом теста, снижая зависимость от человеческого фактора и обеспечивая воспроизводимость результатов на уровне, необходимом для успешной разработки и регистрации лекарственных средств.

С докладами выступили также специалисты ООО «Центр Фармацевтической Аналитики». **Попова Мария Олеговна**, руководитель отдела обеспечения качества ООО «ЦФА», затронула вопрос единого окна – нулевые сбои: управление субподрядчиками в комплексных исследованиях. **Карнакова Полина Константиновна**, старший химик-аналитик лаборатории биоаналитических исследований ООО «ЦФА», поделилась практическим опытом проведения биоаналитических исследований на ранних фазах клинических исследований. **Щелгачева Дана Салаватовна**, и.о. заведующего лабораторией биоаналитических исследований ООО «ЦФА», уделила внимание теме биоаналитических исследований инсулинов: критическая оценка подходов и разбор практических аспектов. **Комаров Тимофей Николаевич**, д. фарм. н., директор исследовательского центра ООО «ЦФА», подробно рассказал об особенностях проведения биоаналитических исследований отдельных групп лекарственных средств. **Багаева Наталья Сергеевна**, руководитель отдела биостатистики ООО «ЦФА», рассказала об эволюции методов оценки высвобождения в условиях *in vitro* и предсказание биоэквивалентности, а также ответила на вопрос, где мы находимся сейчас?

17 февраля во время доклада **Новожилова Наталья Александровна**, к. х. н., коммерческий директор Sevko & Co, совместно с дистрибьюторами из ком-

пании ТК «Элемент» рассказали о серии жидкостных хроматографов «Скороход» – единственной отечественной разработке, производимой по полному циклу. Были представлены ключевые технические решения, многие из которых являются уникальными не только для России, но и с учетом мирового опыта проектирования ВЭЖХ-систем.

Особое внимание было уделено готовым практическим решениям для фармацевтического анализа в серии ВЭЖХ «Скороход», которые уже сегодня доступны российским аналитическим лабораториям и не имеют аналогов на российском рынке.

- Анализаторы «Скороход» с постколоночной дериватизацией АКА-1000 для анализа аминокислот в соответствии с требованиями ГФ РФ, EP и USP, ионофорных антибиотиков, витаминов и др.
- Жидкостной хроматограф «Скороход» с γ-радиометрическим детектором для анализа радиофармацевтических лекарственных препаратов.

В рамках деловой программы прошла открытая дискуссия «По ту сторону оболочки: лекарственные препараты будущего». В секции обсуждалось, как препараты клеточной и генной терапии, мРНК-платформы и онколитические препараты трансформируют требования к GxP, переосмысливают роль производства как продолжения клинического процесса и формируют запрос на новые регуляторные и технологические решения. В дискуссии приняли участие: **Клабуков Илья Дмитриевич**, ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, **Бурлакина Наталья Владимировна**, заместитель начальника Управления инспектирования производства ЛС, ФБУ «ГИЛС и НП», **Ларин Сергей Сергеевич**, заместитель директора Высшей школы молекулярной и экспериментальной медицины НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Дополнил секцию своим докладом **Аникаев Алексей Юрьевич**, директор по маркетингу ООО «Е-ЛАБ», выступив с темой «Сквозные технологические платформы для полного цикла разработки препаратов будущего». Спикер раскрыл критическую проблему – технологический разрыв между научной концепцией и ее реализацией в условиях GMP, БМКП и ВТЛП. «Современные модальности, такие как мРНК-вакцины и препараты для CAR-T-терапии, требуют не просто отдельных решений, а сквозных



платформ, которые обеспечивают преемственность от лабораторных исследований до промышленного производства», – подчеркнул спикер. В ходе презентации были представлены: модульные чистые помещения «V элемент» с возможностью перепрограммирования классов чистоты; российское ПО для сопровождения производства и контроля качества; СКАДИ® – первый в России автоматизированный биобанк с регистрационным удостоверением (ЕРУЛ-Г004-00110-00/03627485 от 29.10.2025), обеспечивающий хранение 150 000+ образцов при –80 °С и работу в условиях отключения электричества. Самый большой интерес вызвал практический кейс – технологическое проектирование комплекса для разработки мРНК-вакцин и CAR-T-препаратов. Проект включает 5-этажный научно-производственный центр, где на каждом уровне реализованы различные этапы производства мРНК-препарата.

Второй год подряд международная научная площадка конгресса дает слово молодежи: в рамках Молодежной лиги начинающие исследователи представили работы, выполненные на самом современном уровне. Победителем признана **Гришина Анна Юрьевна** (СПХФУ, научный руководитель к.б.н. Д.Ю. Ивкин) с докладом о нефропротективных свойствах производных малоновой кислоты. Второе место заняла **Терлецкая Виктория Анатольевна** (БГМУ, Минск), третье – **Яцковская Юлия Дмитриевна** (ООО «ЦФА»). Специальными призами отмечены **Анна Счастливая** (БГМУ) – от редакционной коллегии журнала «Гербарий», а также **Ульяна Ефремова** (СПХФУ) и **Айнур Карабаева** (ЮКМА), получившие от ООО «ЦФА» сертификаты на стажировку.

На мастер-классе «Взаимосвязь ТСКР и КИ: «Можно ли выходить с такими результатами на исследование биоэквивалентности?» мы разобрали реальные кейсы интерпретации результатов в рамках теста сравнительной кинетики растворения и оценке рисков о выходе на исследования биоэквивалентности. Особое внимание было уделено альтернативным методам оценки эквивалентности профилей растворения, а также ключевым аспектам обеспечения качества биоаналитического этапа – от разработки протокола до финального анализа данных. Мастер-класс провели: **Фишер Елизавета Николаевна**, директор по научной работе ООО «ЛФИ»; к. фарм.н., доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева, Сеченовский Университет, **Мельников Евгений Сергеевич**, к. фарм.н., доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева, Сеченовский Университет; химик-эксперт, ГКБ им. И.В. Давыдовского, **Васюков Владислав Дмитриевич**, биостатистик ООО «ЛФИ»; аспирант Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ».

17 февраля в рамках конгресса впервые прошел мастер-класс «Оптимизация разработки ТЛФ на основе анализа взаимосвязи между растворением и проницаемостью действующего вещества». Модератором мастер-класса выступил **Параг Гадкари**,



ведущий научный консультант компании Electrolab India Pvt. Ltd. В ходе мастер-класса были рассмотрены вопросы, связанные с результатами растворения, выходящими за пределы установленных спецификаций (OOS), их значением как критического показателя качества при разработке лекарственных средств, а также подходы к анализу причин и принятию корректирующих мер.

В рамках международного конгресса прошла секция «Единый рынок ЕАЭС – регистрация ЛС и регуляторные вопросы действующего законодательства». В секции ответили на такие вопросы, как завершен ли переходный период? Когда рынок станет действительно единым? Приведение в соответствие – завершилось. Акцент – на новые регистрации. Как взаимодействуют референтное государство и государства признания в новых условиях? Обсудили как продолжает развиваться нормативно-правовое регулирование ЕАЭС, «созревание» регистрационного досье по Правилам ЕАЭС – от компиляции к жизненному циклу, а также стратегии взаимодействия с национальными регуляторными органами и ЕЭК. Разобрали практические кейсы и примеры. В дискуссии приняли участие: **Рождественский Дмитрий Анатольевич**, начальник отдела координации работ в сфере обращения лекарственных средств и медицинских изделий Департамента технического регулирования и аккредитации Евразийской экономической Комиссии. Тема доклада: «Оценка сопоставимости *in vitro* и *in vivo* препаратов из группы гепаринов». **Волович Наталья Владимировна**, представитель СПФО в рабочей группе ЕЭК, заместитель директора, руководитель Департамента регистрации представительства ОАО «Гедеон Рихтер». Тема доклада: «Регистрационное досье ЕАЭС, поддержание во всех странах присутствия». **Лахтанова Анна Игоревна**, председатель регуляторного комитета Ассоциации международных фармацевтических производителей. Тема доклада: «Сложности и барьеры при взаимном признании». **Солодовников Александр Геннадьевич**, директор по управлению качеством ООО «Статэндокс», доцент кафедры биохимии им. Т.Т. Березова МИ РУДН. Тема доклада:

«Как будет развиваться законодательство ЕАЭС после завершения переходного периода? Отслеживание актуальности НПА и правоприменения – проблемы и решения». **Сорокина Екатерина Юрьевна**, директор ООО «Статэндокс». Тема доклада: «Клинические исследования и испытания в ЕАЭС – лекарственные препараты и не только. Куда движется отрасль, и как не стать отстающими». **Березкин Иван Михайлович**, генеральный директор ГУП ЛНР «Лугмедфарм». Тема доклада: «Фармацевтическая деятельность на новых территориях».

Параллельно проходила секция: «Надлежащая практика производства/изготовления радиофармацевтических лекарственных препаратов». Активное внимание уделили ядерной медицине. Основа ее – радиофармпрепараты, которые могут как изготавливаться, так и производиться. В чем разница и есть ли она разобрали эксперты во время круглого стола. Кроме того, ответили на вопрос: какое будущее у производителей радиофармацевтических лекарственных средств и «ядерных» аптек? Докладчики секции: **Савченко Алла Юрьевна**, зав. кафедрой промышленной фармации НИЯУ МИФИ, сотрудник лаборатории экспериментальной ядерной медицины МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, **Горелов Кирилл Витальевич**, начальник Управления организации государственного контроля качества медицинской продукции Федеральной службы по надзору в здравоохранении, **Чабан Екатерина Александровна**, директор по перспективным направлениям АО «Росатом Наука», **Сычев Петр Владимирович**, старший преподаватель ФББ МГУ им. М. В. Ломоносова, начальник центра ядерной медицины ФГБУ ФНКЦРиО ФМБА России, **Голанов Дмитрий Андреевич**, директор по развитию ядерной медицины НТЦ «Синергия», **Кодина Галина Евгеньевна**, к. х. н., доцент, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, **Пожарнов Игорь Анатольевич**, к. ф. н, председатель «Калужского фармацевтического кластера», ведущий эксперт кафедры промышленной фармации НИЯУ МИФИ.

В рамках деловой программы конгресса состоялась секция «Проверка на прочность: инспекция КИ как точка роста для всех участников». Инспекция – это стресс-тест для системы КИ, но именно он делает каждого участника сильнее. На круглом столе мы собрали за одним столом ключевые стороны: регулятора, спонсора, клинический центр и биоаналитическую лабораторию. Мы обсудили, как превратить процедуру проверки из формальности в точку роста. Где рождаются главные риски и как их преодолеть вместе? Модераторами секции выступили **Макаренко Игорь Евгеньевич**, директор медицинского департамента, «ГЕРОФАРМ» и **Попова Мария Олеговна**, руководитель отдела обеспечения качества, ООО «ЦФА». Докладчики секции: **Семенов Константин Юрьевич**, руководитель отдела обеспечения качества в клинических исследованиях и фармаконадзоре, АО БИОКАД. Тема доклада: «Что делать, чтобы

не бояться инспекции. Базовые принципы». **Гремякова Полина Владиславовна**, генеральный директор, ООО «ПОВЕРИЕ» с темой: «Директор Инспекции в лаборатории. Миф или реальность?». **Попова Анна Александровна**, заместитель руководителя отдела обеспечения качества, ООО «ЦФА»: «От страха к доверию: как превратить аудит в точку роста для команды». **Богдан Дмитрий Владимирович**, директор по стратегическим альянсам, ООО «ИФАРМА»: «Превращение рутинных и международных аудитов в конкурентное преимущество при инспекциях». **Шерина Татьяна Андреевна**, медицинский директор, ООО «ЛАБМГМУ»: «Фармацевтическая инспекция как неотъемлемая часть жизненного цикла лекарственного препарата». **Макаренко Игорь Евгеньевич**, директор медицинского департамента, «ГЕРОФАРМ»: «Аудит и инспекция КИ, взгляд спонсора».

В секции «Из каких компонентов складывается качественное доклиническое исследование» затронули такие вопросы, как: роль качественных тест-систем и релевантных моделей при проведении доклинических исследований; обучение персонала, задействованного в ДКИ; подходы к оценке патологических изменений и физиологического статуса в экспериментах на лабораторных животных; исследования *in silico*, *in vitro* и *in vivo*: токсикология, фармакокинетика и фармакодинамика; результаты ДКИ – в стол, регулятору, в патент, в журнал? Модераторами секции выступили **Ивкин Дмитрий Юрьевич**, к. б. н., доцент, начальник центра экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, и **Комаров Тимофей Николаевич**, д. фарм. н., директор исследовательского центра, ООО «ЦФА».

В соседнем зале проходил круглый стол под названием: «Качество лекарственных средств на этапах жизненного цикла: путь без конца или совершенству нет предела». В рамках круглого стола: обсудили вопросы качества ЛС от разработки до рутинных испытаний, разобрали подходы к стандартизации через призму критических атрибутов качества (CAQ). Уделили внимание регуляторным аспектам контроля качества в свете требований ЕАЭС. Поговорили о критических критериях качества ЛС для целей ДКИ и КИ. Модераторами круглого стола выступили **Тер-**



нинко Инна Ивановна, д. фарм. н., профессор кафедры фармацевтической химии, начальник ИЛЦККЛС ФГБОУ ВО СПХФУ, и **Щелгачева Дана Салаватовна**, и. о. заведующего лабораторией биоаналитических исследований ООО «ЦФА».

В рамках деловой программы конгресса состоялась секция: «Как биостатистика превращает цифры в решения о судьбе лекарственного средства?». Биостатистика – это не просто таблицы и *p*-значения, а главный переводчик между данными и судьбой препарата. Что на самом деле скрывается за «статистической значимостью» в глазах регулятора, клинициста и спонсора? Собрали за одним столом специалистов в области биостатистики, чтобы развеять мифы и обсудить острые вопросы: от дизайна исследования и анализа данных до интерпретации, которая убедит всех. Ответили на главный вопрос: как избежать фатальных статистических ошибок, которые могут похоронить даже перспективный препарат? Модератором секции выступила **Багаева Наталья Сергеевна**, руководитель отдела биостатистики ООО «ЦФА».

В соседнем зале состоялся круглый стол «Разработка и исследования биотехнологических лекарственных средств». В данной секции были затронуты вопросы: исследования биотехнологических лекарственных средств в ходе их жизненного цикла; тренды в аналитической разработке; подходы к оценке биоаналогичности *in vitro* и *in vivo*; особенности исследований отдельных групп биологических препаратов. Модераторы секции: **Чувазов Антон Андреевич**, руководитель Лабораторного комплекса, Университета «Сириус», и **Кульджанова Наталья Вячеславовна**, директор журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств».

Закрывал наш двухдневный конгресс мастер-класс «Надлежащая публикационная практика: как правильно рассказать миру о результатах исследований?». Докладчики мастер-класса: **Шохин Игорь Евгеньевич**, д. фарм. н., генеральный директор ООО «ЦФА». Тема доклада: «Как искусственный интеллект может помочь редакции научного журнала?». **Ковалева Мария Александровна**, к. б. н., руководитель научно-методической группы, АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ». Тема доклада: «Публикационная активность: правила игры в научном мире». **Маймистов Денис Анатольевич**, заведующий лабораторией аддитивных технологий СПХФУ. Тема доклада: «Молодая фармация – потенциал будущего»: новая архитектура конференции и развитие культуры научной публикации.

Как превратить студенческий отчет в верифицируемый научный вклад и профессиональный старт для молодого ученого. Сборник материалов конференции – это не «братская могила» тезисов, а полноценный научный трамплин.

Благодарим участников конгресса за интерес к нашему мероприятию, активное участие в дискуссиях и отличное настроение!

Эксклюзивный партнер XIX конгресса «Разработка и регистрация лекарственных средств» – ООО «АИКС ЛАБ».

Премиум-партнеры: ООО ТК «Элемент»,
ООО «Е-лаб».

Также партнерами выступили: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, ЕЭК, Евразийская академия надлежащих практик, «Лабконцепт», «ГЕРОФАРМ», «Статэндокс», «ИФАРМА», ZM CRO GROUP, Р-конф, Дом Фармации, «Лаб Нео», «Фармацевтический вестник», ГУП ЛНР «Лугмедфарм», «БиоЛайн», CON-PHARM.RU, MEDIA MEDICA, AptekaMos.ru, «Московские аптеки», «БелкиАнтитела», ДИАЭМ, «ФармМедПром», PCR.NEWS, NPJ, Университет «Сириус», «Фарма РФ», «Воды здоровья».

До новых встреч на наших следующих мероприятиях!

Купить итоги XIX конгресса «Разработка и регистрация лекарственных средств».

Итоги XIX конгресса



Следите за нашими новостями на:

Сайт журнала РРЛС

Telegram-канал журнала



ВКонтакте

MAX



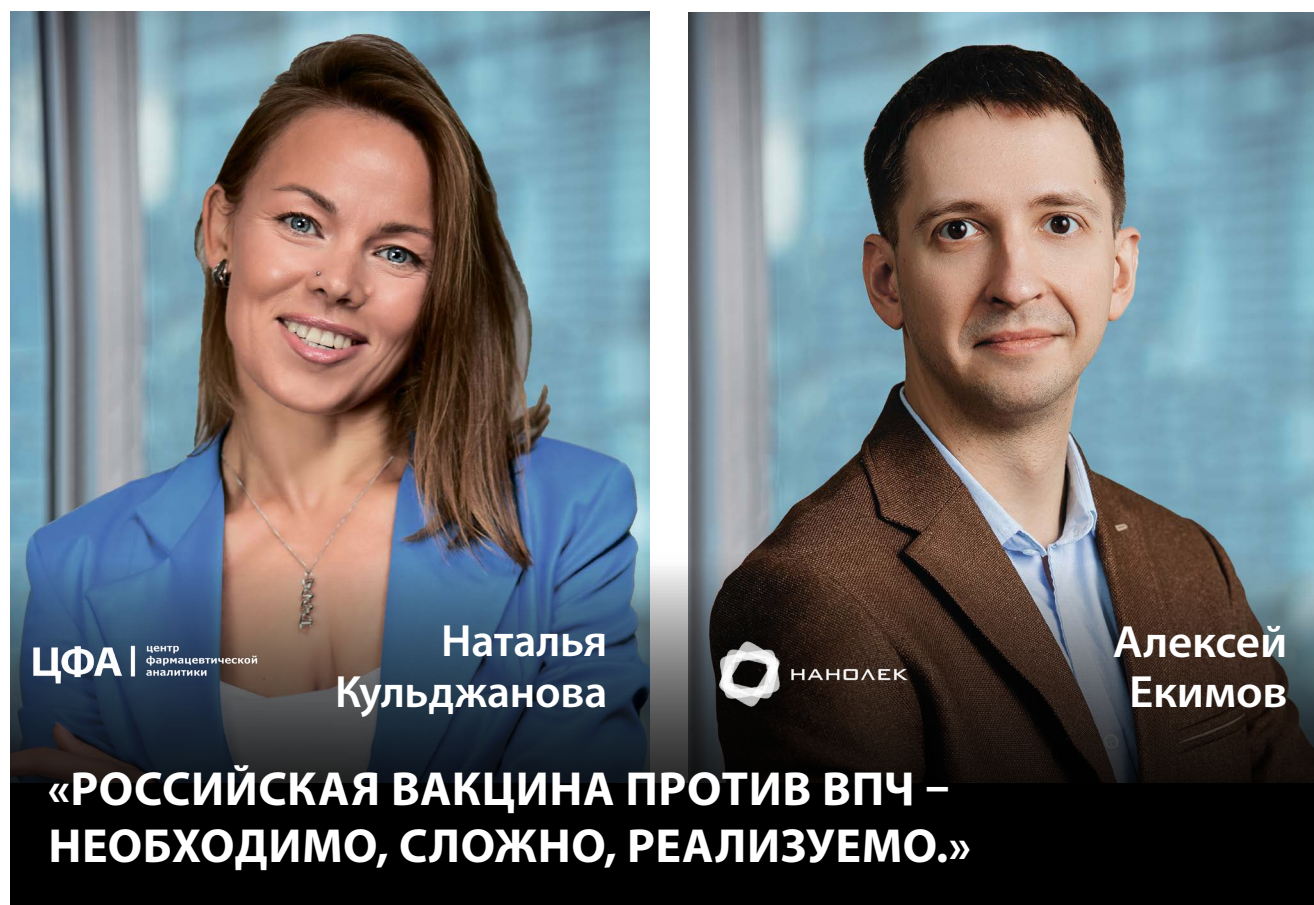
Редакционная статья / Editorial article

Интервью в рамках цикла «Мнение лидеров»

Представляем новый выпуск из цикла «Мнение лидеров», посвященный стратегическим проектам в области биотехнологий и иммунопрофилактики.

The interview as part of the "Leadership Opinion" Series

We present a new issue of the "Leadership Opinion" series, dedicated to strategic projects in the field of biotechnology and immunoprophylaxis.



В рамках проекта «Мнение лидеров» мы пообщались с **Алексеем Екимовым**, директором научно-производственного центра фармацевтической разработки компании «Нанолек». Тема интервью – достижение технологической независимости России в области иммунопрофилактики: запуск собственного полного цикла производства вакцины против вируса папилломы человека (ВПЧ) на биомедицинском комплексе «Нанолек» в Кировской области (29 октября 2025 года).

Интервьюер: Кульджанова Наталья Вячеславовна, директор научно-производственного журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств».

Центральная тема выпуска — открытие первого в России производства вакцины против ВПЧ по полному циклу. Мы детально обсудили, как переход от

импортозависимости к технологическому суверенитету, создание вирусоподобных частиц на дрожжевой платформе и успешное масштабирование до промышленного процесса открывают новые горизонты для устойчивого развития системы иммунопрофилактики в Российской Федерации.

Наталья Кульджанова: 29 октября 2025 года на биомедицинском комплексе «Нанолек» в Кировской области было открыто первое в России производство вакцины против ВПЧ по полному циклу. Расскажите о проекте.

Алексей Екимов: Это стратегический проект как для компании, так и для отрасли в целом. До недавнего времени Россия полностью зависела от импортных поставок вакцин против ВПЧ. Запуск собствен-



ного производства полного цикла – от получения рекомбинантного антигена до выпуска готовой лекарственной формы – позволяет обеспечить технологическую независимость и устойчивость системы иммунопрофилактики.

С технологической точки зрения речь идет о производстве вакцины на основе вирусоподобных частиц, сформированных из рекомбинантного белка L1. Это мировой стандарт для вакцин против ВПЧ, и реализация такого проекта требует высокой зрелости как в разработке, так и в промышленной биотехнологии.

Важно, что запуск совпал с 15-летием «Нанолек». За это время компания прошла путь от локализации препаратов к созданию собственных биотехнологических продуктов и инфраструктуры полного цикла. Проект ВПЧ – логичное продолжение этой эволюции.

Наталья Кульджанова: Почему была выбрана именно вакцина против ВПЧ?

Алексей Екимов: Это было сочетание медицинской потребности и технологической готовности.

С одной стороны, ВПЧ – одна из наиболее распространенных инфекций, напрямую связанная с развитием онкологических заболеваний, прежде всего рака шейки матки. Профилактика этой инфекции – один из наиболее эффективных инструментов снижения онкологической заболеваемости.

С другой стороны, у нашего партнера – НПК «Комбиотех» – уже была отработанная платформа получения вирусоподобных частиц на основе дрожжевой экспрессии. Это позволило опираться не на «идею», а на реальную научно-технологическую базу, готовую к масштабированию.

Наталья Кульджанова: Как давно стартовала разработка? Насколько это был долгий путь?

Алексей Екимов: Если говорить о всей технологической платформе, это более чем десятилетняя история. Активная фаза проекта в «Нанолек» заняла около пяти лет.

Важно понимать, что в биофарме «запуск производства» – это лишь финальная точка длинного пути. До него – годы доклинических исследований, оптимизации конструкции антигена, разработки техноло-

гического процесса, валидации методов контроля и проведения клинических исследований.

Наталья Кульджанова: На какой платформе разработана вакцина? В чем ее особенности?

Алексей Екимов: В основе – технология получения рекомбинантных белков в дрожжевых клетках с последующим формированием вирусоподобных частиц (VLP).

По сравнению с бактериальными системами экспрессии, дрожжевая платформа позволяет получать более сложные по структуре белки с корректным фолдингом. Это критично для формирования иммуногенных VLP, максимально близких по структуре к нативному вирусу.

С технологической точки зрения это более сложная система – как на этапе культивирования, так и при последующей очистке. Однако она обеспечивает высокую иммуногенность и соответствует международным подходам к созданию вакцин против ВПЧ.

Наталья Кульджанова: Какие клинические исследования были проведены? Как вы оцениваете безопасность и эффективность препарата?

Препарат прошел полный цикл клинических исследований с участием взрослых и детей в соответствии с требованиями Минздрава России. Вакцина характеризуется хорошей переносимостью и профилями эффективности и безопасности, сопоставимыми с зарегистрированной вакциной сравнения – четырехвалентной вакциной зарубежного производства.

Наталья Кульджанова: Как организовано производство?

Алексей Екимов: Производство реализовано по полному циклу и включает все ключевые стадии биотехнологического процесса. На этапе upstream осуществляется культивирование дрожжевых клеток с экспрессией рекомбинантного белка. Далее следует



downstream-процесс, включающий многостадийную очистку, концентрирование и формирование вирусоподобных частиц.

Особое внимание уделяем контролю качества на всех этапах – от входного сырья до выпуска готовой лекарственной формы. Контроли позволяют отслеживать критические параметры процесса и обеспечивать воспроизводимость характеристик продукта от серии к серии. Производственная линия спроектирована и реализована с учетом требований GMP и включает современное оборудование для ферментации, очистки и розлива.

Наталья Кульджанова: Были ли сложности при масштабировании?

Алексей Екимов: Переход от лабораторного масштаба к промышленному – один из наиболее сложных этапов.

На практике это означает необходимость обеспечить воспроизводимость процесса при кратном увеличении объемов. Параметры, устойчивые в лаборатории, могут вести себя иначе в промышленном масштабе – это касается как кинетики роста клеток, так и процессов очистки.

Ключевой задачей было определить критические параметры процесса и выстроить систему их контроля. Эту стадию мы успешно прошли.

Наталья Кульджанова: Пришлось ли команде осваивать новые компетенции?

Алексей Екимов: Безусловно. Работа с дрожжевой экспрессией и VLP требует специфических знаний, особенно в части downstream-процессов и контроля качества.

Команда проходила обучение, активно взаимодействовала с европейскими и азиатскими партнерами и набирала собственную экспертизу. В биофарме это непрерывный процесс: компетенции развиваются вместе с технологией.

Наталья Кульджанова: Какие производственные планы? Когда вакцина появится в гражданском обороте?

Алексей Екимов: Первые серии уже находятся в производстве. Выход в гражданский оборот запланирован на вторую половину 2026 года.

Далее мы планируем поэтапное наращивание объемов производства. Задача – перейти от запуска к устойчивому серийному выпуску, обеспечивающему потребности системы здравоохранения. Параллельно ведем переговоры об экспорте. Есть интерес от дружественных нам стран.

Наталья Кульджанова: Был ли момент, когда вы поняли: «мы сделали это»?

Алексей Екимов: Такие моменты возникают на ключевых этапах. Один из них – успешное масштабирование культивирования и подтверждение стабильности процесса. Второй – прохождение GMP-инспекции и получение регуляторного одобрения. Это уже объективная оценка того, что технология и производственная система работают.

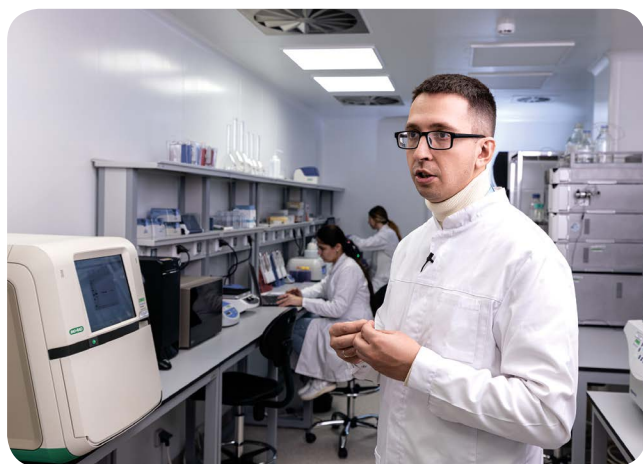
Наталья Кульджанова: Как бы Вы описали проект тремя словами?

Алексей Екимов: Необходимо, сложно, реализуемо.

Наталья Кульджанова: Поделитесь Вашими дальнейшими планами? Какой следующий большой проект?

Алексей Екимов: Следующий этап – масштабирование. Мы планируем запуск второго производственного участка вакцины против ВПЧ в 2027 году, что позволитратно увеличить мощности. Технология отработана, теперь речь идет о переходе к системному, устойчивому выпуску. Фактически со стороны промышленности создается необходимая база для расширения программ иммунопрофилактики.

Дальнейшее развитие во многом будет зависеть от решений по расширению Национального календаря профилактических прививок. Решений, которые позволят перевести технологические возможности в масштабные программы защиты населения.



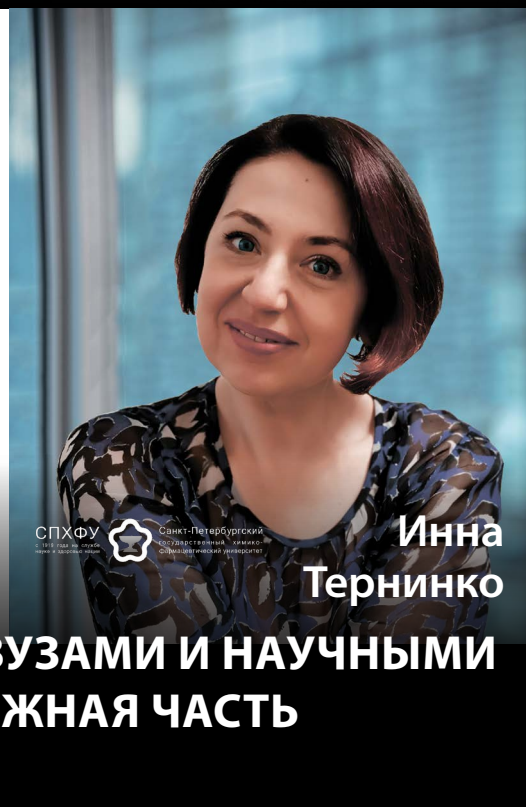
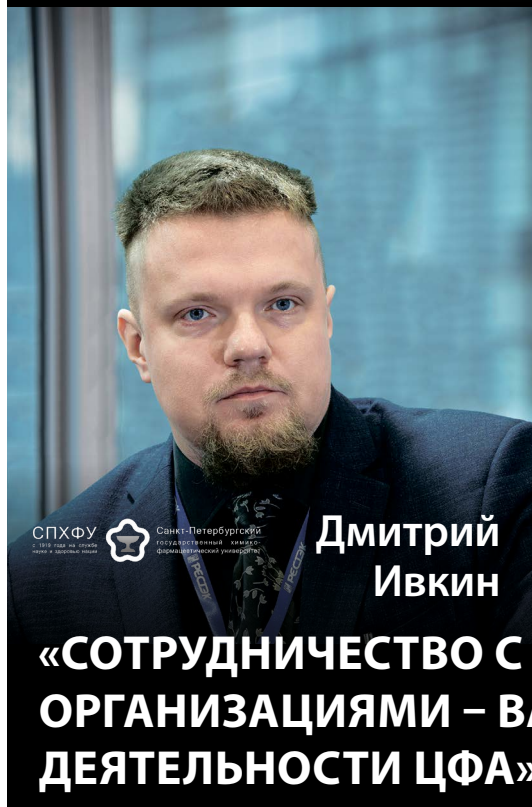
Редакционная статья / Editorial article

Интервью в рамках цикла «Мнение лидеров»

Представляем новый выпуск из цикла «Мнение лидеров». Сотрудничество с вузами и научными организациями всегда было важной частью деятельности Центра Фармацевтической Аналитики и журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств». На сегодняшний день ключевым вузом-партнером Центра уже много лет является Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет.

The interview as part of the "Leadership Opinion" Series

We present the latest issue of the "Leadership Opinion" series. Collaboration with universities and research organizations has always been an important part of the work of the Center of Pharmaceutical Analytics and the journal "Drug Development and Registration". The St. Petersburg Chemical and Pharmaceutical University has been the Center's key partner university for many years.



В рамках проекта «Мнение лидеров» состоялся открытый диалог четырех экспертов фармацевтической отрасли. **Шохин Игорь Евгеньевич**, д-р фарм. наук, главный редактор журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», генеральный директор «Центра Фармацевтической Аналитики», **Тернинко Инна Ивановна**, д-р фарм. наук, начальник Центра контроля качества лекарственных средств, профессор кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава РФ, **Ивкин Дмитрий Юрьевич**, канд. биол. наук, начальник Центра экспериментальной фармакологии, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава РФ, а также **Комаров Тимофей Николаевич**, д-р фарм. наук, директор исследовательского центра ООО «ЦФА», обсудили важность сотрудничества вузов и научно-исследовательских организаций.

Игорь Евгеньевич: *Коллеги, мой вопрос обращен ко всем. Сотрудничество между «Центром Фармацевтической Аналитики» и Санкт-Петербургским химико-фармацевтическим университетом началось в 2021 году с журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств». Расскажите, пожалуйста, подробнее об этом этапе.*

Комаров Тимофей Николаевич: Наше сотрудничество с Санкт-Петербургским химико-фармацевтическим университетом в рамках деятельности журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» началось с одного очень интересного эпизода. Мы с Дмитрием Юрьевичем, на тот момент, еще не будучи знакомыми друг с другом, получили на рецензирование одну и ту же статью. Будучи достаточно строгими рецензентами, мы независимо друг от друга сформулировали практически идентичные замечания. Уже познакомившись через некоторое время, обсуждая разные научные исследования, публикации, оказалось, что наши пути уже пересекались ранее вот таким интересным образом.

Начиная с 2021 года по инициативе проректора по научной работе профессора Елены Владимировны Флисюк и ректора университета профессора Игоря Анатольевича Наркевича СПХФУ заключил с нашей компанией комплексный договор, предусматривающий публикации в научном журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств».

Сегодня сотрудники университета также выступают в роли постоянных ведущих рецензентов издания. Часть из них входит в состав редакционной коллегии журналов «Разработка и регистрация лекарственных средств» и «Гербариум», другие привлекаются в качестве внешних рецензентов. Кроме того, некоторые представители СПХФУ являются членами редакционного совета, осуществляющего первичный контроль за публикациями в журнале.

Шохин Игорь Евгеньевич: *Благодарю Вас, Тимофей Николаевич. Дмитрий Юрьевич, есть ли у Вас что добавить?*

Ивкин Дмитрий Юрьевич: Мое знакомство с журналом «Разработка и регистрация лекарственных средств» началось несколько раньше – еще в 2018 году. Тогда мы опубликовали статью, посвященную вспомогательным веществам в препарате тора-семида, и провели сравнительный анализ целого ряда лекарственных средств, как оригинальных, так и воспроизведенных.

Вслед за этим мы начали активно сотрудничать с журналом: сначала в рамках публикационной активности, а затем – уже в качестве редакторов. Надо сказать, что редакционная работа столь же интересна, сколь и публикационная деятельность. Это уникальная возможность познакомиться с большим количеством экспериментальных работ, оценить, какие методы воспроизводятся в других лабораториях. Кроме того, очень интересно работать со «слепыми» статьями, когда ты не знаешь, какая именно лаборатория провела исследование, и ориентируешься исключительно на качество самой работы.

Игорь Евгеньевич знает, что у нас уже сложился определенный стиль. Например, я по старинке рецензирую работы, внося коррективы прямо на распечатанных статьях. Полагаю, это идет на пользу авторам, когда мы формируем пул четких и структурированных рекомендаций.

Шохин Игорь Евгеньевич: *Инна Ивановна, поделитесь, пожалуйста, Вашим мнением.*

Тернинко Инна Ивановна: Мое знакомство с журналом началось также в 2018 году. Тогда моя аспирантка, представительница Вьетнамской Народной Республики, опубликовала статью «Фитохимический скрининг фенольных соединений лекарственного растительного сырья котовника».

С того времени прошло много лет, и мое личное восприятие журнала претерпело значительную трансформацию. Если в 2018 году «Разработка и регистрация лекарственных средств» был для меня всего лишь одним из изданий, входящих в перечень ВАК, то сегодня это не только мой личный приоритет при выборе места для публикации, но и носитель передовых мнений в области научной публикационной активности и научного поиска в Российской Федерации.

В настоящее время я являюсь членом редакционной коллегии журнала. Эта деятельность приносит мне искреннее удовольствие, поскольку позволяет видеть, чем живет и дышит научная общественность нашей страны: кто работает в том же направлении, что и мои ученики, кто создает нечто новое. Эта возможность не дает мне стоять на месте.

Шохин Игорь Евгеньевич: *Благодарю Вас, Инна Ивановна. Следующий вопрос – к Вам. Поделитесь, пожалуйста, опытом партнерства между ЦФА и СПХФУ в области аналитических исследований, в том числе с акцентом на взаимное дополнение и расширение компетенций.*

Тернинко Инна Ивановна: Это, действительно, очень хороший вопрос. Когда сотрудничество – будь то в сфере публикационной активности или в развитии какой-либо компетенции – дает всем сторонам возможность приобрести новые знания, опыт и компетенции, это всегда безусловный плюс.

Руководство Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета всегда рассматривало поиск научных партнеров как приоритетное направление деятельности. В этом контексте работа с «Центром Фармацевтической Аналитики» имеет особое значение. С одной стороны, коллеги из ЦФА выступают нашими заказчиками по научным исследованиям в рамках аналитического пула работ. С другой – они же являются партнерами, которые передали нам целый ряд компетенций. В частности, было организовано выездное обучение по вопросам проведения ТСКР, кроме того, сотрудники аналитического сектора СПХФУ прошли стажировку в «Центре Фармацевтической Аналитики». Именно на базе лаборатории ЦФА они освоили многие интересные аналитические подходы, которые впоследствии успешно внедрили у себя.

На сегодняшний день партнерство ЦФА и СПХФУ в области выполнения научно-исследовательских работ по фармацевтической аналитике представляет собой сложившийся, понятный и достаточно плотный пул задач. Мы надеемся, что это направление будет только расширяться, пополняясь новыми сферами деятельности.

Шохин Игорь Евгеньевич: *Благодарю Вас. Следующий вопрос адресован Дмитрию Юрьевичу и Тимофею Николаевичу. Поделитесь, пожалуйста, как складывается партнерство в сфере доклинических исследований и каковы, на ваш взгляд, его перспективы?*

Ивкин Дмитрий Юрьевич: Если говорить о доклинических исследованиях, то пул методик и моделей, которые мы можем предложить, постоянно расширяется. Мне даже проще сформулировать его методом исключения – сказать, что мы не можем.

Центр экспериментальной фармакологии СПХФУ расположен непосредственно на основной территории университета, поэтому мы фактически не работаем со специфической активностью противовирусных и противомикробных средств. Причина проста: мы не культивируем возбудителей инфекций, поскольку работаем в том числе со студентами. Все остальное для нас – точки роста, даже если тех или иных исследований пока нет в нашем перечне.

Обращаясь к опыту прошлого года, мы существенно расширили спектр исследований токсичности, которые проводят наши сотрудники. Мы приросли направлениями репродуктивной токсичности и канцерогенности, в том числе в рамках выполнения полных циклов доклинических исследований. Важно подчеркнуть, что эти работы проводятся при сертификации центров. У нас есть сертификат от «Русского

Регистра», который позволяет нам заниматься оценкой токсикологического профиля лекарственных препаратов, оценкой фармакокинетики, а также оценкой фармакодинамики – в части, касающейся механизма действия лекарственных средств и ряда фармакологических эффектов.

Для нас это чрезвычайно интересная задача – характеризовать те или иные лекарственные препараты. Однако объекты нашей деятельности не ограничиваются только ими. В зону наших интересов входят также медицинские изделия, биологически активные добавки, косметика и многое другое.

Комаров Тимофей Николаевич: Если говорить о точках соприкосновения, то на первый взгляд может показаться, что у «Центра Фармацевтической Аналитики» в научно-практической и исследовательской деятельности больше пересечений с Центром контроля качества лекарственных средств СПХФУ, чем с Центром экспериментальной фармакологии. Однако, с нашей точки зрения, сотрудничество именно с Центром экспериментальной фармакологии открывает новое окно возможностей для расширения совместной сферы деятельности, как для ЦФА, так и для СПХФУ.

Рассмотрим как пример исследования доклинической фармакокинетики. Как правило, при проведении подобных работ потенциальные партнеры, заказчики и исследователи привыкли делать основной упор на доклиническую, а не на аналитическую часть.

В формате «службы одного окна» мы совместно с подразделениями СПХФУ готовы обеспечить качественное проведение полного комплекса исследований – начиная от вопросов *in vitro* моделирования (проведение тестов сравнительной кинетики растворения в различных форматах, в т. ч. в биореlevantных средах), разработки аналитических методик и методик контроля качества и заканчивая проведением аналитических этапов в различных областях исследований, в том числе и доклинических, и планируем расширять совместную деятельность в рамках данных направлений.

Формат «службы одного окна» предполагает, что общая ответственность за комплексное проведение подобных работ, а это часто волнует заказчиков, лежит на едином подрядчике, то есть на ЦФА. Мы, работая непосредственно с нашими партнерами, ключевым из которых является Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет, готовы передавать ту часть работ, компетенции по выполнению которой не входят в зону ответственности «Центра Фармацевтической Аналитики», для исполнения высококвалифицированным специалистам из наших организаций-подрядчиков.

Шохин Игорь Евгеньевич: *Дмитрий Юрьевич, Тимофей Николаевич, благодарю вас. И перехожу к заключительному вопросу, который хочу задать каждому из вас. Наши коллективы ЦФА и СПХФУ связывают не только многолетнее парт-*

нерство и рабочие контакты, но и искренние дружеские отношения. Поэтому я буду признателен, если вы поделитесь с нашими читателями каким-нибудь памятным эпизодом.

Комаров Тимофей Николаевич: Со своей стороны могу сказать, что редкий приезд в Санкт-Петербург теперь обходится без визита к Дмитрию Юрьевичу и Инне Ивановне. Будь то на работу или иногда даже в гости домой. Мы очень часто общаемся и созваниваемся во вне рабочее время.

Пожалуй, расскажу один эпизод из нашей жизни – о совместной поездке на Соловецкие острова. Когда мы предложили эту идею в 2023 году, Дмитрий Юрьевич заявил, что готов отправиться на Соловки только при условии, что нас повезут не в трюме теплохода, памятуя определенные события в истории нашей страны, связанные с этим местом. Как же в итоге получилось? Мы поехали именно в салоне, который располагался в трюме теплохода. Тем не менее мы прекрасно провели там время, вернулись обратно и каждый раз вспоминаем эту поездку с особой теплотой.

Ивкин Дмитрий Юрьевич: Взаимодействие за рамками рабочего функционала также очень важно для нас. Когда коллеги из Центра Фармацевтической Аналитики приезжают в Санкт-Петербург на конференции, встреча с ними и живое общение становятся для нас большой радостью. Точно так же происходит и в те моменты, когда мы бываем в Москве на конференциях, посвященных разработке и регистрации

лекарственных средств, а также на различных заседаниях редакционной коллегии.

Эти сложившиеся дружеские отношения очень поддерживают нас, в том числе и в профессиональной деятельности, за что мы искренне благодарны.

Тернинко Инна Ивановна: Хочу добавить, что переход от профессиональной деятельности к дружеской сфере часто помогает также решать многие рабочие задачи.

Например, когда встает вопрос о выборе спикеров на конференции, которые очень часто проводятся под эгидой Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета, у меня, как у человека, который иногда организует секцию по контролю качества и различным аспектам аналитических исследований, этот вопрос не стоит. Потому что я точно знаю: если я приглашу коллег из Центра Фармацевтической Аналитики, в частности Тимофея Николаевича и Игоря Евгеньевича, то это будет приглашение одновременно и друзей, и профессионалов. А значит, выступление всегда будет интересным, познавательным и удобным для всех участников.

Если же говорить о неформальной стороне, то даже в дружеской атмосфере, вне работы, мы все равно очень часто обсуждаем рабочие моменты. Мы находим точки соприкосновения, спорим, миримся, но самое главное – в итоге побеждает истина. И очень хочется, чтобы всегда побеждала еще и наука.



Редакционная статья / Editorial article

УДК 615.014.22

Работа химико-фармацевтической промышленности в годы Великой Отечественной войны (1943 г.)

К. С. Гузев✉

АО «Ретиноиды». 143983, Россия, Московская обл., г. Балашиха, мкр. Керамик, ул. Свободы, д. 1А, оф. 404

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

Резюме

В статье представлена стенограмма доклада заместителя комиссара здравоохранения СССР А. Г. Натрадзе, зачитанного им на совещании работников промышленности 31 января 1944 г. В докладе подведен итог работы отрасли: отмечен рост объемов производства лекарственных препаратов предприятиями химико-фармацевтической промышленности в 1943 г. в сравнении с 1942 г. по большинству наименований и невыполнение плана по восстановлению номенклатуры производимых ранее лекарственных средств и освоению выпуска новых препаратов. На вновь организованных предприятиях Главмедфармпрома, где до войны производились лишь простейшие галеновые препараты, в течение 1942 и 1943 гг. был организован выпуск сложных в химическом отношении лекарственных средств. В союзных республиках были созданы новые предприятия (Ташкент, Фрунзе, Баку), освоившие выпуск, наряду с галеновыми препаратами, также и сложных субстанций. Одновременно А. Г. Натрадзе указал на мероприятия, внедрение которых за отчетный период привело к росту производительности труда, снижению потерь энергоресурсов, сырья и материалов. Большая часть доклада была посвящена планам отрасли на 1944 г.

The chemical and pharmaceutical industry's work during the Great Patriotic War (1943)

Konstantin S. Guzev✉

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

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

Abstract

The article presents a transcript of a report by A. G. Natradze, Deputy Commissar of Health of the USSR, which was read at a meeting of industrial workers on January 31, 1944. The report summarizes the industry's performance, highlighting the increase in drug production by chemical and pharmaceutical enterprises in 1943 compared to 1942 for most products, as well as the failure to meet the plan for restoring the previous range of drugs and introducing new products. During 1942 and 1943, the newly established enterprises of Glavmedfarmprom, which had previously produced only simple galenic preparations, began to produce complex chemical drugs. New enterprises were established in the Union republics (Tashkent, Frunze, and Baku), which began to produce both galenic preparations and complex substances. At the same time, A. G. Natradze pointed out the measures that, during the reporting period, led to an increase in labor productivity and a decrease losses of energy, raw materials, and supplies. The majority of the report focused on the industry's plans for 1944.

ВВЕДЕНИЕ

До 1944 г. в ведомственном журнале НКЗдрава СССР «Фармация» практически не публиковалась никакая информация о трудностях в производстве лекарств, медицинского инструментария, перевязочных средств, изделий медицинского назначения и тому подобных товаров. Объясняется это тем, что со второй половины 1941 г. производство основной массы медикаментов временно прекратилось, но писать об этом было не принято.

В начале войны оборудование и многие сотрудники московских и части украинских фармацевтических заводов были эвакуированы на восток страны. Там на протяжении 1942–1943 гг., при отсутствии строительных материалов, транспорта, достаточного количества рабочих и фармацевтических специалистов, в короткий срок были созданы 9 химико-фармацевтических заводов, которые стали восполнять потери предприятий, эвакуированных из европейской части страны. В это же время началось восстановле-

ние производства лекарств и на московских заводах. В итоге к концу 1943 г. на восстановленных предприятиях Москвы и на вновь организованных заводах возобновилась выработка 300 наименований препаратов, особенно необходимых Красной Армии и населению. Это стало возможным благодаря самоотверженному труду заводских коллективов и – не в последнюю очередь – руководству химико-фармацевтической промышленности (ХФП).

Значительное изменение в процессе восстановления производства лекарственных средств произошло в 1942 г., когда заместителем комиссара здравоохранения СССР был назначен Александр Григорьевич Натрадзе. Примечательна его трудовая биография. Окончив в 1934 году Московский химико-технологический институт им. Д. И. Менделеева, А. Г. Натрадзе в 25 лет начал работать на Дорогомиловском химическом заводе, затем перешел в НИИ органических полупродуктов и красителей, а чуть позже перевелся на Рубежанский химический комбинат (Украина). В 1940 г., в 31 год, А. Г. Натрадзе был назначен директором химико-фармацевтического завода «Акрихин» – ведущего в то время химического предприятия, занимавшегося синтезом лекарственных средств, а уже через два года он становится заместителем народного комиссара здравоохранения СССР, курировавшим ХФП¹. В начале 1944 г. А. Г. Натрадзе назначают ответственным редактором журнала «Фармация», и сразу в этом журнале стали публиковать материалы, касающиеся химико-фармацевтической и медицинской промышленности.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Первый материал, который полностью был посвящен состоянию ХФП, появился во втором номере журнала за 1944 г. Он представлял собой стенограмму доклада А. Г. Натрадзе, зачитанного им на совещании работников промышленности 31 января 1944 г. Это глубокий материал, в котором представлена работа промышленности в течение самого сложного периода войны – 1941–1942 гг. и достижения по восстановлению производства лекарств в 1943 г., по праву считающемся переломным годом в работе ХФП НКЗдрава СССР². Для иллюстрации реального состояния ХФП в те годы и работы, проведенной руководством, приведем несколько цитат из этой статьи.

Так, по мнению А. Г. Натрадзе, за первые годы ВОВ благодаря вновь построенным и восстановлен-

ным мощностям выпуск препаратов к довоенному уровню по эфиру наркозному составил 155 %, по новокаину – 120 %, по хлорэтилу – 226 %, стрептоциду – 166 %, по препаратам висмута – 280 %, по сульфидину и сульфазолу – 180 %. Объем вырабатываемой на восточных предприятиях продукции возрос по сравнению с 1940 г. в 5 раз, в том числе по Главхимфармпрому – в 6 раз, а по Главмедфармпрому – в 3 раза. В номенклатуре продукции, выпускаемой ХФП, за годы войны произошли качественные изменения. На восточных предприятиях Главмедфармпрома, где до войны производились лишь простейшие галеновые препараты, в течение 1942 и 1943 гг. было организовано производство таких сложных в химическом отношении лекарственных средств, как стрептоцид, сульфидин, гексенал, веронал, люминал и др. В эти же годы в союзных республиках (Ташкент, Фрунзе, Баку) были созданы новые предприятия, освоившие выпуск, наряду с галеновыми препаратами, также и сложных субстанций. По ряду наименований выпуск важнейших препаратов в 1943 г. был увеличен в несколько раз по сравнению с 1940 г.: эфир наркозный – в 2 раза, сульфидин и сульфазол – в 2 раза, новокаин – в 1,5 раза, препараты ртути – в 2 раза, препараты висмута – в 5 раз, хлорэтил в ампулах – в 7 раз. Благодаря этому план производства валовой продукции выполнен на 110,5 %.

В течение 1943 г. на заводах Главхимфармпрома было восстановлено производство 19 химико-фармацевтических препаратов (люминал, плазмоцид, трипофлавин, пирамидон, сульфидин, сульфазол и др.) и освоен выпуск 15 новых препаратов, ранее не производившихся ХФП (метилкофеин, сульфантрол, сульгин, альбucid, дисульфид, моносепт, искусственные зубы из акриловой смолы и др.).

В 1943 г. на предприятиях ХФП был осуществлен ряд мероприятий, давших положительные результаты. Так, был разработан и внедрен в производство метод известкового омыления без дефицитного едкого калия, применяемого ранее при синтезе стрептоцида на заводе № 37 вместо метода кислотного омыления; освоен метод водной очистки в производстве новокаина на алкалоидном заводе – внедрение этого метода дало в год значительную экономию спирта, соляной и серной кислот; на заводе им. Карпова и заводе № 4 им. Дзержинского в производстве препаратов висмута остродефицитная сода была заменена аммиаком. Для обеспечения производства новарсенола, ацетанилида и уксусной кислоты на предприятиях Главхимфармпрома было организовано производство ронгалита.

Несмотря на значительные успехи в производстве готовой продукции в сравнении с 1942 г., А. Г. Натрадзе открыто отмечал и недостатки, сопровождающие работу ХФП.

¹ Сбоева С. Г., Лоскутова Е. Е., Лагуткина Т. П. Летопись российской фармации. XX век. М.: ЗАО «ИПО «Полигран»; 2000. 304 с.

² Натрадзе А. Г. Химико-фармацевтическая промышленность в годы Великой Отечественной войны и ее очередные задачи. *Фармация*. 1944;2:1–8.

Так, выполнив план по валовой продукции, ХФП не справилась с выпуском изделий по номенклатуре. Руководители предприятий слишком увлеклись выполнением плана по валу и с недостаточным вниманием отнеслись к устранению некоторых организационно-технических причин, приведших к срыву производства запланированной номенклатуры лекарств. Автор отмечает также крайне медленное освоение восстанавливаемых производств и длительные задержки в запуске новых предприятий.

План заготовок основных видов лекарственных растений Лекрастрестом в 1943 г. выполнен по тоннажу на 108 %. Однако план по важнейшим видам лекарственных растений не выполнен. Лекрастрест не обеспечил выполнение плана переработки лекарственного сырья. Неудовлетворительно работали и некоторые республиканские фабрики по переработке лекарственного растительного сырья.

Война изменила географическое размещение промышленных предприятий и внесла коррективы в привычную практику материально-технического снабжения. Этот факт потребовал от заводов обратить особое внимание на использование местных сырьевых ресурсов и отходов других производств. Несмотря на большой дефицит сырья и материалов, на ряде заводов отмечено расточительное их расходование против установленных норм. Причинами перерасхода явились нарушения технологических режимов, плохое хранение сырья и прием его в работу без паспортов и веса, недостаточный контроль за состоянием аппаратуры, оборудования, коммуникаций, а также несвоевременный их планово-предупредительный ремонт.

На некоторых заводах действующие расходные нормы материалов еще не достигли довоенного уровня. Предприятия, вырабатывающие одноименную продукцию, работают с разными расходными коэффициентами и разными коэффициентами использования оборудования. Процент теоретического выхода к загружаемому сырью в редких случаях достигает 90 %, а в большинстве случаев он находится на уровне 30–60 %. Хорошо известна и причина этого: в большинстве случаев она кроется в недостаточной отработке технологического процесса и в отсутствии должного постадийного контроля.

Еще одной причиной слабой работы ХФП является нерациональное расходование сырья и недостаточная борьба руководства предприятия со всякими потерями. В результате имеет место невыполнение плана выпуска лекарственных средств, удорожание готовой продукции и, как следствие, напряженное положение в работе предприятий.

До настоящего времени некоторые руководители предприятий пренебрежительно относятся к анализу технико-экономических показателей работы

предприятия, техническим отчетам цехов и заводов в целом.

Еще одним мероприятием, способным изменить работу заводов ХФП, является внедрение в работу производств рационализации и изобретательства. Внимательное отношение к этим мероприятиям способно увеличить производительность труда, повысить экономию сырья, топлива и материалов. Руководители предприятий должны привлечь к решению этой проблемы большинство инженеров, техников, рабочих и регулярно ставить конкретные задачи, интересующие данное производство.

Необходимо обратить особое внимание руководства заводов и на достижения отраслевой науки. Трудности военного времени требуют от производственников постоянного взаимодействия заводских лабораторий с ВНИХФИ. Благодаря тесному взаимодействию науки и производства возможна разработка и быстрое внедрение в производство новых эффективных лекарственных средств, упрощение действующих методов производства и изыскание заменителей дефицитного сырья.

Еще одной трудноразрешимой проблемой является неудовлетворительное состояние производственного оборудования. В течение прошедших трех лет оборудование не пополнялось. Особенно тяжелое положение имеет место на химико-фармацевтических заводах. Изношенность имеющегося и почти полное отсутствие запасного оборудования, недостаточность запасных частей, невозможность проведения капитального и несвоевременное осуществление планово-предупредительного ремонта обязывают администрацию предприятий заняться исправлением сложившейся ситуации.

Необходимо шире внедрять на предприятиях промышленности такие формы подготовки кадров и повышения квалификации, как индивидуальное обучение, стахановские школы, техникумы и т. п.

Возвращаясь к анализу производства, А. Г. Натрадзе призывает руководителей отрасли больше интересоваться экономикой этого производства. План по снижению себестоимости на 1943 г. в ХФП был установлен в размере 4 %, ожидаемое выполнение составило 4,1 %. Однако не все возможности для снижения этого показателя в отчетном году были использованы. Необходимо скрупулезно анализировать балансы и калькуляции, предоставляемые заводами, и принимать меры, призванные снизить производственные затраты.

Планом будущего 1944 г. по предприятиям НКЗдрава СССР предусмотрено увеличение объема производства на 18 % по сравнению с 1943 г., рост производительности труда по отрасли на 17 %, снижение себестоимости продукции на 6 %, а рост прибыли на 60 % (в основном за счет снижения се-

бестоимости). Чтобы выполнить взятые на себя обязательства, А. Г. Натрадзе призывает руководителей предприятий сделать 1944 г. годом дальнейшего организационно-технологического укрепления вновь созданных на востоке химико-фармацевтических заводов, годом дальнейшего расширения номенклатуры и увеличения выпуска продукции. Для этого необходимо:

- ✓ обеспечить выполнение ежемесячного плана по выпуску акрихина и новарсенола;
- ✓ увеличить производство салициловых препаратов;
- ✓ расширить производство пирамидона, фенацетина и новокаина;
- ✓ обеспечить рост производства ампулированных препаратов;
- ✓ расширить номенклатуру выпускаемых реактивов и фармацевтического стекла;
- ✓ особое внимание следует обратить на расширение производства полупродуктов: уксусной кислоты, ацетанилида, ронгалита и др., а также поиск заменителя ацетанилида в производстве сульфамидных препаратов.

В области внедрения новых, более совершенных методов производства и в целях дальнейшего сокращения остродефицитного сырья и материалов необходимо завершить внедрение в производство метода окисления пиролюзитом вместо хромпика, метода известкового омыления взамен щелочи и серной кислоты в производстве стрептоцида, метода утилизации маточников после ацетилирования в производстве фенацетина, а также организовать производство ацетопропилового спирта, метилфурана и предложить методику извлечения салициловой кислоты из сублимационных смол.

В целях сохранения действующего парка оборудования и его пополнения необходимо:

- ✓ на всех заводах усилить контроль за капитальным и планово-предупредительным ремонтами и систематически проводить их;
- ✓ расширить, оснастить соответствующим инструментом и оборудованием ремонтно-механические мастерские на заводах, укрепить штаты квалифицированной рабочей силой;
- ✓ на крупных заводах организовать производство запасных частей и арматуры;
- ✓ организовать собственную базу по изготовлению простейшей эмалированной химической посуды и наладить восстановление изношенной;
- ✓ на стеклзаводах организовать и расширить подсобные мастерские по изготовлению форм и ремонту оборудования.

Для успешной работы промышленности в 1944 г. и выполнения всех качественных и количественных показателей плана ответственные сотрудники должны уделить серьезное внимание вопросам повыше-

ния выходов, максимальной экономии сырья и материалов. Нужно добиться, чтобы ни один килограмм сырья, полупродукта и готовой продукции не пропал даром.

Отраслевая наука (ВНИХФИ) в 1944 г. должна сделать решительный поворот в сторону более глубокой научной проработки и создания оригинальных высокоэффективных лекарственных средств и технического перевооружения промышленности на основе последних достижений науки и техники. Для этого сотрудники института должны заняться:

- ✓ решением принципиальных вопросов технологии производства и рационализацией действующих процессов;
- ✓ вопросами применения новых видов сырья и их заменителей;
- ✓ разработкой перспектив развития ХФП;
- ✓ оказанием оперативной помощи заводам в случае возникновения у них технологических затруднений и усилением консультирования заводских лабораторий.

Успешное решение поставленных задач будет зависеть от подготовки и переподготовки кадров, а поэтому необходимо:

- ✓ создать на базе имеющихся производств школы фабрично-заводского обучения (ФЗО) и ремесленные училища;
- ✓ широко поставить на заводах подготовку и повышение квалификации рабочих и инженерно-технических работников.

Так выглядел отчет по работе ХФП за 1943 г. и план на 1944 г. Принимая на себя такие обязательства, руководство отрасли, директора и главные инженеры фармацевтических заводов, инженерно-технический персонал и рабочие понимали свою роль в развитии ХФП, призванной в решающий период Великой Отечественной войны обеспечить Красную Армию и гражданскую лечебную сеть необходимыми медикаментами высокого качества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение надо отметить роль А. Г. Натрадзе в подъеме отечественной ХФП в тяжелые военные годы. С нашей точки зрения, он являлся руководителем нового поколения, занимая среднее положение между чистым производственным и отраслевым ученым. За свою недолгую трудовую жизнь к 1942 г., когда его назначили заместителем комиссара здравоохранения СССР, он смог поработать и на производственном предприятии, и в научно-исследовательском институте. Огромный опыт Александр Григорьевич приобрел, будучи руководителем передового в отрасли химико-фармацевтического завода «Акрихин». Именно в этот период на заводе внедрялись в

производство наиболее востребованные советским здравоохранением лекарственные препараты. Не стоит забывать и о базовом образовании, которое он получил в ведущем вузе у лучших преподавателей. Анализ отчетного доклада А. Г. Натрадзе показывает, что, кроме конкретных цифр по выполнению отраслевого производственного плана за 1942–1943 гг., он обращает внимание руководителей предприятий и отрасли в целом на анализ технико-экономических показателей, на финансовые вопросы, себестоимость, калькуляции, материальные балансы, предоставляемые заводами. Не остаются без внимания и кадровые вопросы, их подготовка, повышение квалификации, активное привлечение их к рационализации и изобретательству. Не забывает он и о сложной ситуации с производственным оборудованием и отраслевой

наукой (кстати, с 1948 по 1954 г. А. Г. Натрадзе руководил технологическим отделом ВНИХФИ).

К сожалению, не осталось воспоминаний о личных качествах и характере Александра Григорьевича. Однако его длительная работа в министерстве медицинской промышленности (1942–1986), защита докторской диссертации (1974), активное участие в работе Всесоюзного научного общества фармацевтов и Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева и, главное, результат его работы в ХФП СССР в тяжелые военные годы и годы восстановления ее функционирования в дальнейшем позволяют нам предположить наличие у него твердого характера, отличных организаторских способностей, а также судить о нем как о профессионале высочайшего уровня, добром и отзывчивом человеке.

Рекламная статья / Sponsored article

Ионные хроматографы L-Ion марки SILab для контроля качества на фармацевтических предприятиях



Авторы подготовили статью при финансовой поддержке компании ООО «Лабконцепт»

Метод ионной или ионообменной хроматографии (ИХ), несмотря на несколько меньшую популярность, чем традиционная ВЭЖХ, также активно применяется для контроля качества препаратов и субстанций в фармацевтической промышленности. Чаще всего целевыми соединениями являются неорганические ионы, однако ИХ также применяют для разделения органических кислот, сахаров, аминогликозидов, аминокислот и пр.

SILab L-Ion ion chromatographs for quality control in pharmaceutical companies

The authors prepared the article with the financial support of the company LLC "Labconcept"

Ion or ion-exchange chromatography (IC), although somewhat less popular than traditional HPLC, is also widely used for quality control of drugs and substances in the pharmaceutical industry. Most often, the target compounds are inorganic ions, but IC is also used to separate organic acids, sugars, aminoglycosides, amino acids, and other substances.

Использование ионной хроматографии в фармацевтической промышленности регламентировано требованиями Государственной Фармакопеи Российской Федерации (ОФС.1.2.1.2.0008), Европейской Фармакопеи и Фармакопеи США. Метод применяется при контроле воды очищенной и воды для инъекций, анализе активных фармацевтических субстанций, определении противоионов, контроле остаточных технологических примесей и проведении валидации очистки оборудования.

Особенности метода ИХ (водные среды, работа с высокими pH, кислотами и щелочами) зачастую требуют применения специализированных приборов с инертными трубопроводами, специфическими вспомогательными модулями (супрессоры, системы регенерации супрессоров, блоки подавления CO₂) и высокочувствительными кондуктометрическими детекторами. Таким образом, для лабораторий, плани-

рующих проводить соответствующие анализы, имеется необходимость в подборе качественного оборудования, полностью отвечающего требованиям метода ионообменной хроматографии. При этом, также важно, чтобы и прибор, и сопутствующее программное обеспечение отвечали рекомендациям GMP/GLP и FDA CFR 21 Part 11 по части сохранения целостности данных.

Ионные хроматографы L-Ion марки SILab

ГК «Лабконцепт» предлагает ионные хроматографы серии L-Ion марки SILab, предназначенные для решения широкого спектра аналитических задач в лабораториях контроля качества и научно-исследовательских подразделениях фармацевтических предприятий. Линейка включает моноблочные одно- и двухканальные системы, которые могут оснащаться



как химическими, так и мембранными саморегенерирующимися супрессорами, генераторами элюента, градиентными насосами, автодозаторами для образцов различного объема, а также, при необходимости, амперометрическим детектором. Помимо этого, возможна сборка схем с предварительной онлайн-очисткой или концентрированием проб на специальных колонках-ловушках.

Максимальное рабочее давление насосов достигает 42 МПа, диапазон скоростей потока составляет 0,001–12 мл/мин, а диапазон детектирования кондуктометрических детекторов очень широк – до 50 000 мкСм/см. Это позволяет без потери чувствительности за один анализ определять ионы, концентрации которых отличаются на несколько порядков.

Использование генератора элюента (доступны варианты встроенных и внешних устройств) позволяет отказаться от ручного приготовления подвижной фазы и обеспечить высокую воспроизводимость анализа. Генератор поддерживает работу с КОН, NaOH, LiOH для анионного, и MSA или HNO₃ для катионного, анализов в диапазоне концентраций 0,1–120 мМ.

Двухканальные модели хроматографов L-Ion позволяют проводить одновременное определение анионов и катионов (или проводить один и тот же анализ) на двух независимых аналитических каналах, что особенно востребовано в лабораториях с высокой загрузкой.

Управление приборами и обработка результатов осуществляются с помощью русифицированного программного обеспечения ShineLab, полностью отвечающего требованиям GMP/GLP.

ГК «Лабконцепт» более трех лет занимается поставками ионных хроматографов L-Ion для самых разных областей, среди которых есть и фармацевтическая отрасль. Чаще всего приборы требуются для определения примесей в растворах для инъекций, глазных каплях, а также для контроля чистоты различных препаратов.

Пример применения

Одним из примеров практического применения ионных хроматографов серии L-Ion является определение анионов в перекиси водорода методом ионной хроматографии с автоматическим онлайн-концентрированием. Ниже приводится описание метода, адаптированного и реализованного в лаборатории ГК «Лабконцепт» в Санкт-Петербурге по заказу одного из пользователей.

Пероксид водорода (H₂O₂) широко применяется в медицине и косметологии. Содержание неорганических анионов является важным показателем качества перекиси водорода: особое внимание уделяется контролю содержания хлоридов, фосфатов, нитратов и сульфатов, поскольку их присутствие мо-

жет существенно влиять на свойства конечного продукта.

Несмотря на наличие других методов определения анионов в перекиси, ионная хроматография признана наиболее точным и надежным из них, поскольку обеспечивает высокую селективность и чувствительность определения даже следовых содержаний анионов. Поскольку целевые соединения могут присутствовать в перекиси в очень низких концентрациях, для их определения в аналитическую схему необходимо включать этап предварительного концентрирования образцов.

Для хроматографов L-Ion доступна возможность дооснащения для работы в режиме автоматического онлайн-концентрирования, что позволяет улучшить предел обнаружения (необходимый уровень – 4 мкг/л) и снизить вероятность ошибок, связанных с ручной пробоподготовкой. При необходимости проведения онлайн-концентрирования в хроматографе собирается отдельный контур, в рамках которого образец из вials отбирается на концентрирующую колонку.

При этом на первом этапе аналиты удерживаются на колонке-концентраторе, после чего производится автоматическое переключение потоков, и сконцентрированные компоненты пробы десорбируются небольшим объемом элюента, и происходит перенос пробы на аналитическую колонку, где происходит их разделение с последующим детектированием.

Для постановки анализа в лаборатории ГК «Лабконцепт» использовался одноканальный ионный хроматограф L-Ion 16 Plus марки SIlab, оснащенный генератором элюента, двухплунжерным насосом, супрессором, кондуктометрическим детектором и насосом для автоматического онлайн-концентрирования (рисунок 1).

В качестве аналитической колонки использовали Dionex IonPac AS11-HC (250 × 4 мм), а в качестве колонки-концентратора — Dionex IonPac AG11-HC (50 × 4 мм). Анализ проводили в градиентном режиме элюирования с использованием КОН.

После подготовки проб методом твердофазной экстракции проводили автоматическое онлайн-концентрирование, что позволило достичь пределов определения порядка 4 мкг/л (рисунок 2).

Линейность метода оценивали в диапазоне 4–200 мкг/л. Для всех компонентов коэффициент линейной корреляции составил не менее $R^2 \geq 0,99$.

В результате исследования перекиси водорода на ионном хроматографе L-Ion 16 Plus (рисунок 3) были обнаружены примесные хлорид-ионы и нитрат-ионы. Результаты представлены в таблице 1.

Таким образом была подтверждена применимость их для контроля качества H₂O₂, а также условия анализа были адаптированы под работу именно на хроматографах L-Ion марки SIlab.

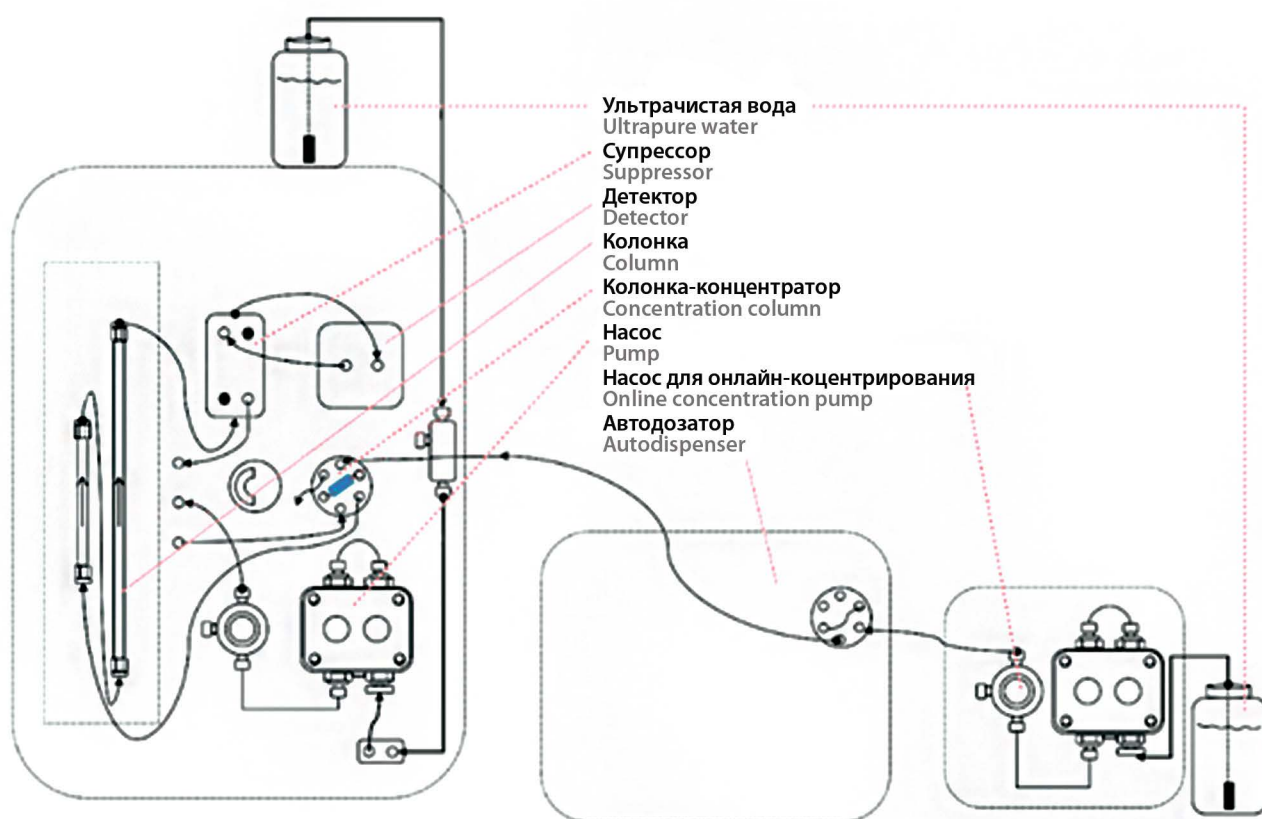


Рисунок 1. Схема ионного хроматографа L-Ion 16 Plus (SILab) с автоматическим онлайн-концентрированием

Figure 1. Schematic diagram of the L-Ion 16 Plus (SILab) ion chromatograph with automatic online sample concentration

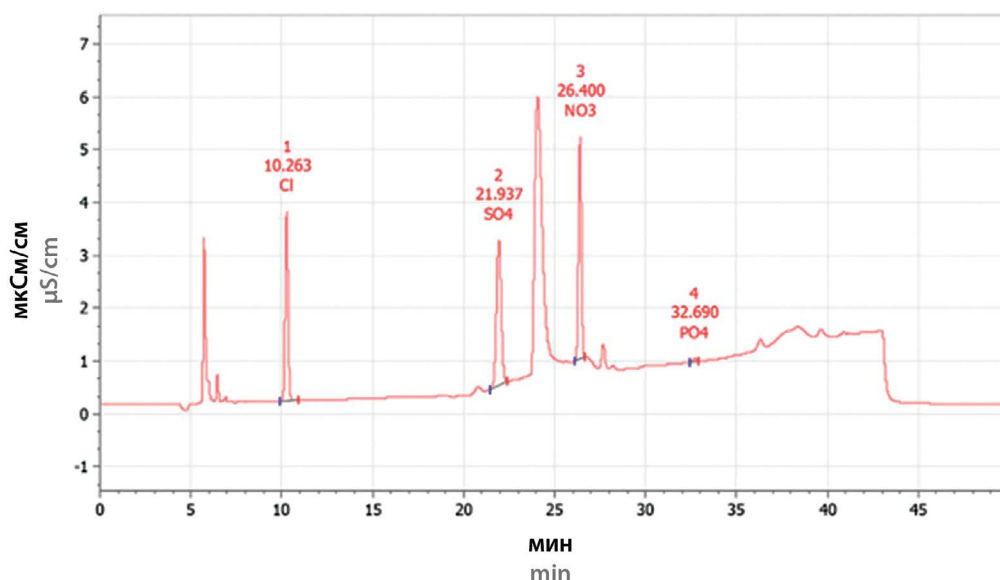


Рисунок 2. Хроматограмма стандартного раствора анионов с концентрацией хлорид-ион, сульфат-ион, нитрат-ион, фосфат-ион – 4 мкг/л

Figure 2. Chromatogram of a standard anion solution containing 4 µg/l of chloride, sulfate, nitrate and phosphate ions

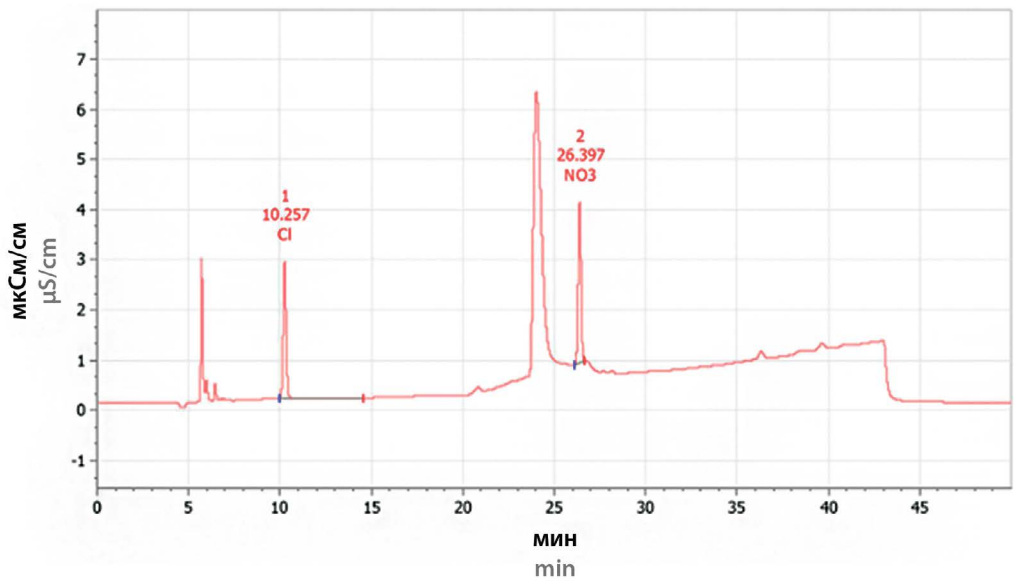


Рисунок 3. Хроматограмма испытуемого раствора перекиси водорода
Figure 3. Chromatogram of the test hydrogen peroxide solution

Таблица 1. Результаты исследования перекиси водорода

Table 1. Results of the hydrogen peroxide analysis

Анион Anion	Время удерживания, мин Retention time, min	Концентрация, мкг/л Concentration, µg/L
Хлорид Chloride	10,26	5,1
Сульфат Sulfate	–	–
Нитрат Nitrate	26,40	4,2
Фосфат Phosphate	–	–

Важно отметить, что подобные схемы могут быть собраны на базе любой модели (как одно-, так и двухканальной) ионных хроматографов серии L-Ion.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ионная хроматография является одним из наиболее эффективных методов контроля неорганических примесей в фармацевтической промышленности, и ионные хроматографы серии L-Ion отлично подходят для подобных задач, поскольку, несмотря на моноблочную конструкцию, обладают достаточной гибкостью, широкими возможностями дооснащения, а также обеспечивают высокую чувствительность, стабильность и воспроизводимость анализа при решении широкого спектра задач контроля качества.

Дополнительным преимуществом здесь является экспертная поддержка со стороны ГК «Лабконцепт», включающая разработку и адаптацию аналитических методик с возможностью демонстрации оборудования в собственной лаборатории, возможность апробации приборов, подробное обучение персонала и сервисное сопровождение на протяжении всего периода эксплуатации.

КРУПНЕЙШАЯ СЕРВИСНАЯ СЛУЖБА В РФ

СРЕДИ ПОСТАВЩИКОВ РЕШЕНИЙ ДЛЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

- ✓ 30 специалистов в штате.
- ✓ Наличие сертификатов от заводов-производителей.
- ✓ Многолетний опыт работы с высокотехнологичным аналитическим оборудованием, в том числе с приборами ушедших брендов, таких как Shimadzu, Agilent.
- ✓ Пусконаладка, обслуживание, диагностика и ремонт жидкостных и газовых хроматографов, хромато-масс-спектрометров, ИК-Фурье и УФ спектрометров и другого оборудования.

Подробнее
сервисной службе



SHIMADZU

Agilent

**EXPEC
TECHNOLOGY**

SILAB
Simply Intelligent



Санкт-Петербург

☎ +7 (812) 327-37-00
✉ lc@labconcept.ru

Уфа

☎ +7 (347) 246-23-97
✉ op_yfa@labconcept.ru

Москва

☎ +7 (495) 136-21-74
✉ msk@labconcept.ru

Екатеринбург

☎ +7 (343) 382-40-01
✉ op_ekb@labconcept.ru

Нижний Новгород

☎ +7 (831) 228-80-02
✉ op_nn@labconcept.ru

Владивосток

☎ +7 (423) 230-22-23
✉ op_dv@labconcept.ru

Казань

☎ +7 (843) 205-48-85
✉ op_kzn@labconcept.ru

labconcept.ru

Информационная статья / Informational article

«Аналитика Экспо 2026» показала, как меняется лабораторный рынок

С 22 по 24 апреля 2026 года в МВЦ «Крокус Экспо» состоялась 24-я Международная выставка лабораторного оборудования и химических реактивов «Аналитика Экспо 2026».

Analitika Expo 2026 showed how the laboratory market is changing

From April 22 to 24, 2026, the 24th International Exhibition of Laboratory Equipment and Chemical Reagents "Analitika Expo 2026" was held at the Crocus Expo IEC.



В этом году выставка традиционно выступила наглядным отражением того, как меняется рынок. Экспозиция, состав участников и содержание научно-деловой программы показали: лабораторная индустрия в России движется от этапа адаптации к этапу системного развития – с усилением локального предложения, ростом сервисной инфраструктуры и расширением спектра доступных решений.

Это подтверждают и количественные итоги выставки: «Аналитика Экспо 2026» посетили 6 386 специалистов из 75 регионов Российской Федерации и 15 стран мира.

Главный вывод: рынок стал более зрелым и устойчивым

Одним из ключевых итогов «Аналитика Экспо 2026» стало подтверждение того, что лабораторный рынок не ограничивается заменой отдельных компаний, он выстраивает новую архитектуру предложений и партнерских взаимодействий.

На выставке был представлен широкий спектр оборудования, материалов и сервисных решений, который показывает: отрасль нашла ответы на вызовы последних лет и сформировала новые точки роста. Особенно заметной стала роль российских

производителей, а также компаний, которые усиливают позиции в области инженерной поддержки, локализации технологий и комплексного оснащения лабораторий.

Не менее важным направлением стало развитие сервисного сопровождения. В 2026 году особенно четко проявился запрос рынка на дальнейшее обслуживание оборудования, ремонт, внедрение и техническую поддержку. Это означает, что для лабораторий все большее значение имеет не единичная закупка, а устойчивость всей рабочей инфраструктуры.

Экспозиция: решения, которые отвечают новым задачам рынка

В центре экспозиции был представлен более широкий набор решений для современной лабораторной среды: аналитические системы, измерительное оборудование, химические реактивы, лабораторная мебель, расходные материалы, автоматизация, биотехнологии и экологический мониторинг.

Для профессиональной аудитории это означало возможность увидеть, как сегодня складывается рынок в целом: какие решения доступны, какие технологические направления усиливаются, какие сегменты развиваются наиболее активно.

Примеры экспозиций участников

Ряд участников представил на выставке конкретные решения, отражающие направления развития рынка.

Группа компаний «Альгимед» и «Альгимед Техно» представила систему для масс-спектрометрического анализа «АЛМАСС Био», предназначенную для видовой идентификации микроорганизмов на основе MALDI-TOF. Помимо этого, в экспозиции были показаны реагенты для проточной цитометрии, наборы для выделения нуклеиновых кислот и ТАЛ-реагенты.

ГК «ЭКОС-1» представила высокочистые химические реагенты, аналитические растворы и стандартные образцы. Компания также была отмечена в рамках конкурсной программы выставки в номинации, связанной с обеспечением высокой точности измерений.

Холдинг «Химмед» представил газовый tandemный хромато-масс-спектрометр «Атомикс», а также ВЭЖХ-колонок собственного производства под тем же брендом.

Компания «Альфа-Лаб» использовала выставку как площадку для представления нового направления деятельности, связанного с поставкой химических реактивов.

Научно-деловая программа: от обсуждения проблем – к практическим решениям

Содержательная часть выставки подтвердила, что лабораторная отрасль все активнее обсуждает системные вопросы работы лабораторий.

В центре научно-деловой программы – развитие лабораторной практики, внедрение технологий и профессиональная дискуссия по отраслевым вопросам. Программа прошла на площадках Лекторий и СМАРТЛАБ ФОРУМ и объединила более 20 мероприятий с участием более 100 профильных спикеров.

Среди ключевых тем – развитие современной аналитической лаборатории в условиях растущих требований к качеству, эффективности и достоверности результатов, а также вопросы метрологического обеспечения, управления качеством, подготовки персонала и цифровизации процессов.

В числе спикеров мероприятий выступили представители Росаккредитации, Роскачества, Росстандарта, Российского экспортного центра, Фонда развития цифровой экономики, Ассоциации «Росхимреактив»,



Научного совета по аналитической химии РАН, ААЦ «Аналитика», ЦК «ЗНАНИЕ», СИБУР-Инновации, МГУ имени М. В. Ломоносова, РХТУ имени Д. И. Менделеева, фармацевтических компаний «Р-Фарм», «Фармасинтез», «Гринвэн», ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова», МНИЦ МСИ, Ассоциации «Компетентность и качество», Центра аккредитации «Стандарт», Учебного центра «Содействие» и многих других организаций.

23 апреля на площадке СМАРТЛАБ ФОРУМ состоялось традиционное награждение участников.

Победителями стали:

- ✓ За оригинальный дизайн стенда, выбор организаторов – Magus.
- ✓ За оригинальный дизайн стенда, приз посетительских симпатий – Simple PRO.
- ✓ За эффектную презентацию оборудования на стенде – «Е-ЛАБ».
- ✓ За многолетнее сотрудничество и активное участие – «Энерголаб».
- ✓ За постоянное участие и доверие к выставке – «Экротхим».
- ✓ Яркий дебют на выставке – A1 Prolab, АО «Современная лаборатория».
- ✓ За яркое возвращение и новый этап сотрудничества – «ЛАМО».
- ✓ За яркий партнерский дебют в деловой программе выставки – «Лабконцепт».
- ✓ За поддержку и развитие деловой программы выставки – ЦК «Знание».
- ✓ Лидер по привлечению посетителей среди участников выставки – «Химмед».

Выставка как среда для развития отрасли

Татьяна Нагаслаева, директор выставки «Аналитика Экспо», прокомментировала: ««Аналитика Экспо 2026» укрепила свою роль как профессиональная экосистема лабораторной отрасли, в которой встречаются технологии, экспертиза, отраслевой диалог и практические задачи бизнеса. Выставка создает среду, где формируются новые деловые связи, обсуждаются ключевые вызовы отрасли и определяются направления дальнейшего развития лабораторной практики.»



ЭВОЛЮЦИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЭПОХУ ЦИФРОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Уважаемые коллеги!

Приглашаем вас принять участие в **V Международной конференции «Эволюция клинических исследований в эпоху цифровых технологий»**, которая состоится **9-10 июня 2026 года в Ярославле в отеле «Cosmos Yaroslavl Hotel».**

В рамках конференции запланированы доклады ведущих ученых, экспертов регуляторных органов стран ЕАЭС, руководителей и специалистов фармацевтических компаний, главных исследователей, представителей биоаналитических лабораторий, независимых аудиторов, представителей разработчиков программных решений для фармацевтической отрасли, а также консалтинговых и логистических компаний.

Основные темы конференции:

- Основные тренды и перспективы развития фармацевтического рынка ЕАЭС
- Регуляторные изменения в клинических исследованиях: текущие требования и взгляд в будущее
- Цифровые технологии и искусственный интеллект как инструменты оптимизации ресурсов в фармацевтической отрасли
- Децентрализация клинических исследований
- Аудиты и инспекции: как подготовиться в новых регуляторных условиях
- Конфиденциальность персональных данных и защита данных клинических исследований
- Система менеджмента качества в условиях перехода от ICH GCP R2 к ICH GCP R3
- Управление рисками и риск-ориентированный подход в клинических исследованиях
- Разработка и исследования биоаналогов и инновационных лекарственных препаратов
- Актуальные вопросы персонализированной медицины
- Новые подходы к биоаналитическим исследованиям при разработке и регистрации лекарственных препаратов
- Практика применения реальных клинических данных
- Фармаконадзор в клинических исследованиях

Дополнительные мероприятия:

- Курсы GCP, GLP, GVP, GMP с получением сертификатов государственного образца
- Деловая игра по теме проведения инспекций и аудитов «К нам едет ревизор!»
- Бизнес-игра на развитие коммуникативных навыков «ПростоМощно»
- Вечерний интеллектуальный квиз в баре «Руки Вверх»

Сайт конференции: <https://conf.cphd.ru>

Форматы участия: очный, с возможностью онлайн подключения.

Форма регистрации и варианты участия представлены на сайте конференции:

<https://conf.cphd.ru/order/>



Polyphenolic combinations quantification through ABTS^{•+} radical cations accumulation kinetics measurement

Konstantin S. Voronin✉, Igor R. Ilyasov, Vera V. Olicheva, Anastasiya K. Zhevlakova, Vladimir L. Beloborodov, Irina A. Selivanova

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:** Konstantin S. Voronin. **E-mail:** voronin_k_s@staff.sechenov.ru

ORCID: Konstantin S. Voronin – <https://orcid.org/0000-0001-5004-7649>;
Igor R. Ilyasov – <https://orcid.org/0000-0001-9822-3322>;
Vera V. Olicheva – <https://orcid.org/0009-0004-6866-218X>;
Anastasiya K. Zhevlakova – <https://orcid.org/0000-0002-2945-9806>;
Vladimir L. Beloborodov – <https://orcid.org/0000-0003-2700-5664>;
Irina A. Selivanova – <https://orcid.org/0000-0002-2244-445X>.

Received: 14.06.2025

Accepted: 09.09.2025

Published: 27.03.2026

Abstract

Introduction. Polyphenols are widely distributed in plant world and recognized for their high antioxidant activity. Traditional methods of polyphenolic compounds quantification, such as Folin – Ciocalteu and aluminum chloride assays, measure total phenolic or flavonoid content but fail to identify individual compounds in complex mixtures. Combining the kinetic profiling of antioxidant activity manifestation for a combination of antioxidants has certain potential for the development of inexpensive and simple quantitative analysis approaches.

Aim. To develop an approach for the quantitative determination of individual polyphenols in binary combinations through the measurement of ABTS^{•+} radical cations accumulation kinetics based on a lag-time experimental strategy.

Materials and methods. We have studied formulations of flavonoid dihydroquercetin (DHQ) and lignan secoisolariciresinol (SECO) and a combination of DHQ with essential antioxidant alpha-tocopherol (α-TOH). The antioxidants induced the inhibition of ABTS^{•+} radical cations accumulation initiated by potassium persulfate, which resulted in a lag-time formation and was monitored spectrophotometrically at 730–750 nm.

Results and discussion. Both combinations demonstrated two lag-time periods pattern typical for additive type interactions between its components. Lag-time period duration depends on concentration of the component. We matched every lag-time period with specific polyphenol which allowed us to determine the content of every component of studied combinations. Developed technique measured the content of polyphenols with value of relative standard deviation (RSD) being not higher than 2 % and value of relative measurement error (δ) not exceeding 3,7 %.

Conclusion. Our study confirmed that an antioxidant capacity measurement approach could be successfully applied for content determination of individual polyphenols in complex mixtures. Developed methodology demonstrated high reproducibility and acceptable accuracy levels for binary combinations constituents' quantification.

Keywords: polyphenols, ABTS, quantification, antioxidant capacity

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. Konstantin S. Voronin – formal analysis, methodology, investigation, original draft preparation. Igor R. Ilyasov – methodology, formal analysis, investigation, review and editing. Vera V. Olicheva – investigation, visualization, review and editing. Anastasiya K. Zhevlakova – methodology review and editing. Vladimir L. Beloborodov – methodology review and editing. Irina A. Selivanova – conceptualization, supervision, review and editing.

Funding. This research was funded by Russian Science Foundation, grant № 25-25-00537, <https://rscf.ru/en/project/25-25-00537/>

For citation: Voronin K. S., Ilyasov I. R., Olicheva V. V., Zhevlakova A. K., Beloborodov V. L., Selivanova I. A. Polyphenolic combinations quantification through ABTS^{•+} radical cations accumulation kinetics measurement. *Drug development & registration*. 2026;15(2):37–42. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2120>

Количественное определение компонентов полифенольных композиций посредством измерения кинетики накопления радикал-катионов ABTS^{•+}

К. С. Воронин✉, И. Р. Ильясов, В. В. Оличева, А. К. Жевлакова,
В. Л. Белобородов, И. А. Селиванова

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: Воронин Константин Сергеевич. E-mail: voronin_k_s@staff.sechenov.ru

ORCID: К. С. Воронин – <https://orcid.org/0000-0001-5004-7649>;
И. Р. Ильясов – <https://orcid.org/0000-0001-9822-3322>;
В. В. Оличева – <https://orcid.org/0009-0004-6866-218X>;
А. К. Жевлакова – <https://orcid.org/0000-0002-2945-9806>;
В. Л. Белобородов – <https://orcid.org/0000-0003-2700-5664>;
И. А. Селиванова – <https://orcid.org/0000-0002-2244-445X>.

Статья поступила: 14.06.2025

Статья принята в печать: 09.09.2025

Статья опубликована: 27.03.2026

Резюме

Введение. Для количественной оценки полифенольных соединений и их смесей широко используют спектрофотометрические методы исследования, в том числе Фолина – Чокалтеу, спектрофотометрию с хлоридом алюминия и другие. Они позволяют с высокой воспроизводимостью определять суммарное содержание полифенолов в различных образцах в пересчете на конкретный полифенол, но не количество отдельных компонентов. Спектрофотометрию в УФ и видимой области также применяют для исследования антирадикальной емкости полифенольных соединений, которая в том числе зависит от их количественного содержания. Соответственно, методы оценки антирадикальной активности теоретически могут быть использованы для количественного определения полифенолов.

Цель. Разработать методику количественного определения отдельных компонентов полифенольных композиций посредством измерения кинетики накопления радикал-катионов ABTS^{•+}.

Материалы и методы. Исследовали бинарные композиции флавоноида дигидрокверцетина и лигнана секоизоларичезинола, а также дигидрокверцетина и альфа-токоферола. Спектрофотометрически наблюдали кинетику накопления радикал-катионов 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфокислоты) диаммониевой соли (ABTS^{•+}) в присутствии исследуемых образцов и стандартных смесей.

Результаты и обсуждение. Для исследуемых композиций выявлено образование двух периодов плато в их кинетических кривых, продолжительность которых оказалась пропорциональна содержанию компонентов композиции, что дает возможность проводить их количественное определение при соотношении периодов плато с конкретными компонентами. Разработанная методика позволяет определять количество полифенолов с относительной ошибкой (δ) не более 3,7 % и относительным стандартным отклонением (RSD) не более 2 %.

Заключение. Была показана принципиальная возможность применения метода оценки антирадикальной емкости для количественного определения полифенольных соединений в сложных смесях. Разработана методика количественного определения отдельных компонентов в бинарных смесях, которая характеризуется высокой воспроизводимостью результатов и приемлемой точностью.

Ключевые слова: полифенолы, ABTS, количественное определение, антирадикальная активность

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

Вклад авторов. К. С. Воронин – формальный анализ, методология, проведение исследования, подготовка черновика рукописи. И. Р. Ильясов – методология, формальный анализ, проведение исследования, рецензирование и редактирование. В. В. Оличева – проведение исследования, визуализация, рецензирование и редактирование. А. К. Жевлакова – рецензирование методологии и редактирование. В. Л. Белобородов – рецензирование методологии и редактирование. И. А. Селиванова – концептуализация, руководство, рецензирование и редактирование.

Финансирование. Данное исследование было профинансировано Российским научным фондом, грант № 25-25-00537, <https://rscf.ru/en/project/25-25-00537/>

Для цитирования: Воронин К. С., Ильясов И. Р., Оличева В. В., Жевлакова А. К., Белобородов В. Л., Селиванова И. А. Количественное определение компонентов полифенольных композиций посредством измерения кинетики накопления радикал-катионов ABTS^{•+}. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):37–42. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2120>

INTRODUCTION

In recent decades, the role of polyphenolic compounds in the pharmaceutical, cosmetic, and food industries has attracted significant attention [1–3], and they are considered dietary supplements and promising therapeutic agents [4, 5]. Polyphenols are widely distributed in plants and all possess an aromatic ring with hydroxyl groups, but their structure can vary significantly. They are commonly divided into several classes such as flavonoids, lignans, phenolic acids, stilbenes, etc. [6, 7]. The potential health benefits of polyphenols are often associated with their high antioxidant activity [8, 9]. There are several well-known methods for the assessment of antioxidant capacity *in vitro* such as ABTS/PP, DPPH and others [10, 11]. They are inexpensive, easy to apply and give fast, reproducible results. However, these methods are not widely used for polyphenolic content determination. In this paper, we report a novel methodology for the quantitative determination of polyphenols by using antioxidant capacity measurement approach.

Several colorimetric methods are often employed to study antioxidant plant extracts and food materials such as total phenolic content determination by Folin–Ciocalteu method [12, 13] or total flavonoid content measurement with aluminium(III) chloride solution [14, 15]. However, these approaches do not allow us to determine the content of individual polyphenols in such complex mixtures, different HPLC techniques are typically used for their identification and quantification [16]. The main challenge in applying antioxidant capacity measurements for polyphenolic compounds quantification in complex mixtures lies in obtaining data for components without prior separation. We hypothesized that individual compounds content can be selectively calculated in polyphenolic formulations due

to their different kinetics of interaction with ABTS^{•+} radical cations. We focused on binary polyphenolic combinations in this study. Our goal was to develop an approach for the quantitative determination of individual polyphenols in binary combinations through the measurement of ABTS^{•+} radical cations accumulation kinetics based on a lag-time experimental strategy.

MATERIALS AND METHODS

Materials

We have studied two binary polyphenolic formulations: manually derived combination of α -tocopherol (α -TOH) and dihydroquercetin (DHQ), as well as a polyphenolic extract of larch knotwood containing secoisolariciresinol (SECO) and dihydroquercetin (Figure 1).

Dihydroquercetin (State Standard № 10766-2016, Ametis JSC, Russia), α -tocopherol (95 %, Acros organics BVBA, Belgium), secoisolariciresinol (Sigma-Aldrich, USA, 95.0 %), its combinations and polyphenolic extract of knotwood of *Larix dahurica* Turcz. (Ametis JSC, Russia) samples were dissolved in ethanol (99.9 %, Merck KGaA, Germany) – deionized water (95:5) before the spectrophotometric study. Potassium persulfate (99 %, PP, Sigma-Aldrich, USA), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (98 %, ABTS, Sigma-Aldrich, USA). The components of phosphate buffer solution (PBS) were: potassium dihydrogen phosphate, dipotassium hydrogen phosphate, sodium chloride – Sigma-Aldrich.

Spectrophotometric assay

This approach is based on the ABTS/PP antioxidant capacity assessment method [17,18]. Spectrophotometric measurements were performed on a Cary 100 spect-

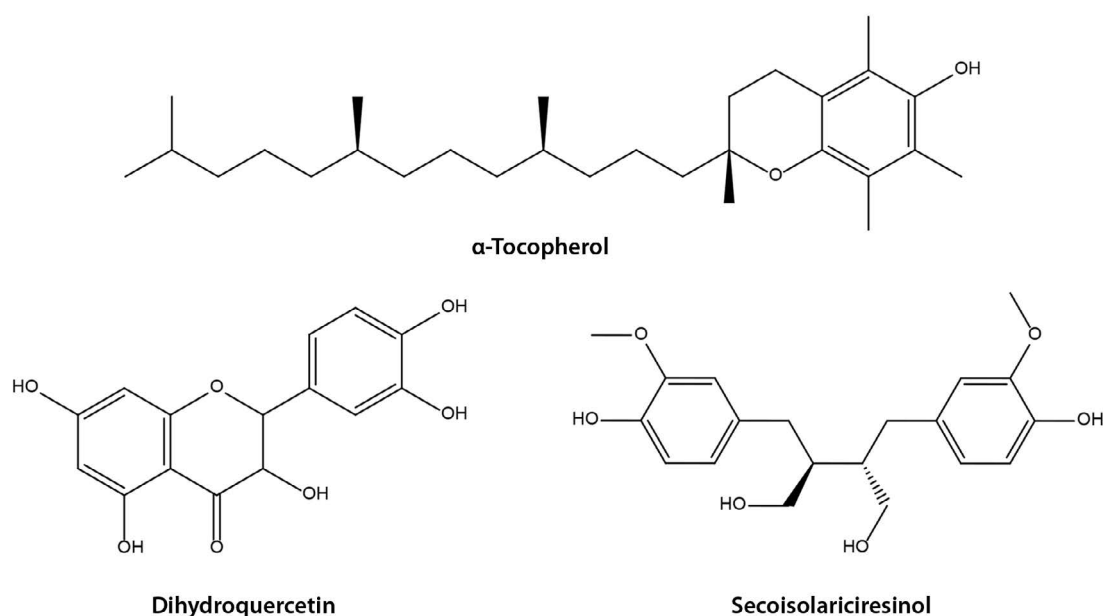


Figure 1. Chemical structure of studied compounds

rophotometer (Varian, USA) with a 1 cm path length Peltier temperature-controlled cuvette.

To record ABTS⁺ radical cations formation, 10–50 µL of polyphenolic samples solution was added to ABTS dissolved in PBS (pH 7.4). To initiate the reaction, PP solution in PBS was applied with subsequent shaking for 15 s. The final concentrations of ABTS and PP were 1.21 mM and 0.43 mM, respectively. The kinetics of the ABTS⁺ radical cations accumulation was monitored at maxima of 730–750 nm with an incubation temperature of 24 ± 1 °C until ABTS⁺ radical cations accumulation reached a steady state. In the absence of antioxidants, the accumulation of ABTS⁺ radical cations began immediately upon the addition of PP. However, when an antioxidant was introduced, a lag-time was typically observed before the accumulation of ABTS⁺ radical cations commenced.

Calculations

We used the following equations to quantify concentrations of DHQ – α-TOH combination constituents (1) and content of polyphenolic larch knotwood extract components (2):

$$C_x = \frac{tx}{ts} \cdot C_{st}, \quad (1)$$

where C_x is concentration of an individual component in testing combination solution (M), C_{st} is concentration of an standard solution (M), tx is component lag-time duration in testing combination (min), ts is lag-time duration registered for standard solution (min).

$$X = \frac{tx}{ts} \cdot C_{st} \cdot \frac{Vx}{mx} \cdot 100 \%, \quad (2)$$

where X is the content of individual component of extract (%), C_{st} is the concentration of DHQ or SECO in the standard sample (mg/mL), tx is component lag-time duration in extract (min), ts is lag-time duration registered for standard solution (min), Vx is a volume of the tested extract solution (mL), mx is a mass of extract sample (mg).

RESULTS AND DISCUSSION

The lag-time spectrophotometric assay is based on recording the kinetic curves of ABTS⁺ radical cations accumulation, initiated by potassium persulfate. The presence of an antioxidant results in ABTS⁺ radical cations accumulation delay, lag-time duration depends on the antioxidant concentration. There are interactions typical for binary combinations of antioxidants potentially affecting the shape of kinetic curves: additive, synergistic, and antagonistic interactions. While synergistic and antagonistic effects refer to difference between the combination antioxidant effect and the total effect of individual components, the additive effect is equivalent to the sum of the effects of the individual components [19]. For additive type combinations, the formation of two lag-time periods of ABTS⁺ radical cations accumulation is possible. This phenomenon was observed in a DHQ and α-TOH combination study (Figure 2).

Initially, we have tested two DHQ – α-TOH combinations with different component ratios – 1:1 and 1:6, both exhibited two lag-time periods: 4.54 min (τ_1) and 6.68 min (τ_2) for 1:1 ratio combination (Figure 2, A);

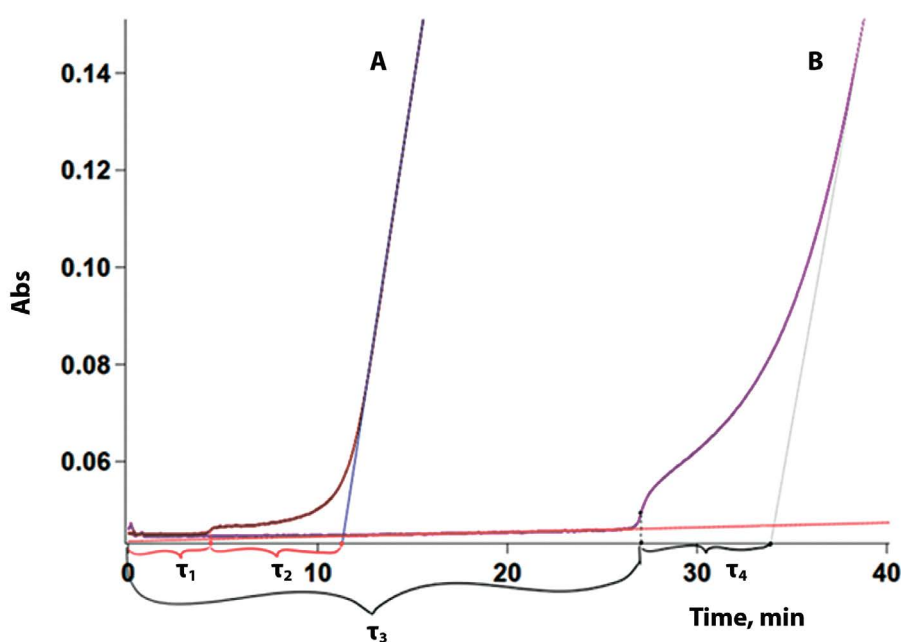


Figure 2. Kinetic curves of DHQ – α-TOH combinations:

A – molar ratio 1:1 (both 6 µM), τ_1 , τ_2 – lag-time periods; **B** – molar ratio 1:6 (6 µM of DHQ and 36 µM of α-TOH), τ_3 , τ_4 – lag-time periods

28.10 min (τ_3) and 6.43 min (τ_4) for 1:6 ratio combination (Figure 2, B). By comparing the lag-time durations of combinations with different component ratio, we can associate each lag-time period with a specific compound: τ_1 value is 6.1 times lower than τ_3 , which correlates with the sixfold decrease in α -TOH concentration; τ_2 and τ_4 values are close to each other – DHQ concentration is the same in both combinations.

We propose that matching lag-time periods with components of combination makes possible their quantification using standard solutions of individual components. The content of a component was calculated using equation 1 (Materials and methods). To evaluate this procedure we performed a quantification assay of model DHQ – α -TOH combination (1:5 ratio) with known concentrations of components. The mean concentrations of components after six independent measurements (C), relative standard deviation (RSD) and the relative measurement error (δ) were calculated (Table 1). This technique demonstrated a high level of reproducibility with a relative measurement error not exceeding 3.6 %.

Table 1. Content determination of DHQ – α -TOH combination constituents

Component name	μ , μ M	C , μ M	RSD, %	δ , %
DHQ	10.0	9.7	2.0	3.0
α -TOH	50.0	51.8	1.8	3.6

Note. μ – value of concentration was taken as a true one.

To investigate the applicability of this methodology for studying natural products, a polyphenolic extract of larch knotwood with different contents of compo-

nents were tested. They consist of two major polyphenols DHQ and SECO and are considered prospective antioxidant and antiproliferative pharmaceutical substances [20]. Model compositions of DHQ and SECO have shown kinetic curves with two lag-time periods formation (Figure 3). Testing combinations with the same DHQ (2 mg/mL) and different SECO (2 mg/mL and 3 mg/mL) revealed that the first lag-time period (τ_1) is the same for both combinations and the latter ones (τ_2 and τ_3) becomes longer for combination with higher SECO concentration. Thus, τ_1 could be attributed to DHQ and τ_2 and τ_3 – to SECO. The calculations of DHQ and SECO content were performed the same way as for DHQ – α -TOH combinations with minor modifications using equation 2 (Materials and methods).

Previously, polyphenolic extracts of larch knotwood were analyzed using a validated HPLC technique, and the obtained data on DHQ and SECO content were taken as true values (μ) in this assay [21]. The mean content ($n=6$) of DHQ and SECO (X), relative standard deviation (RSD) and relative measurement error (δ) were calculated (Table 2).

Table 2. Content determination of DHQ – SECO combinations constituents

Extract	Component name	μ , %	X , %	RSD, %	δ , %
1	DHQ	59.9	60.8	1.4	1.5
	SECO	22.4	23.2	1.2	3.6
2	DHQ	58.8	59.6	1.4	1.4
	SECO	13.6	14.1	1.2	3.7

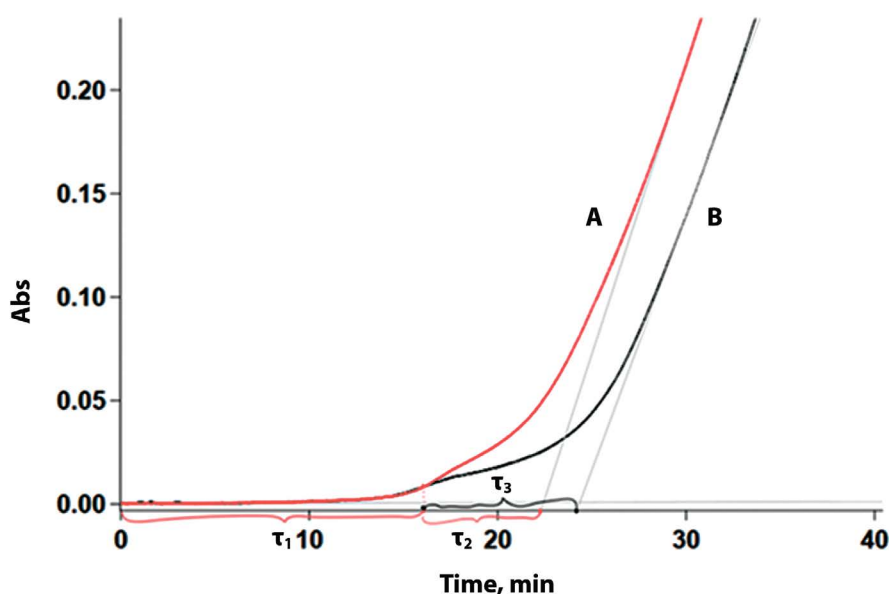


Figure 3. Kinetic curves of DHQ – SECO formulations:

A – 2 mg/mL DHQ, 2 mg/mL SECO; B – 2 mg/mL DHQ, 3 mg/mL SECO

The content calculations demonstrate the high reproducibility of the developed technique and yield results comparable to HPLC data results.

CONCLUSION

This is the first report of successfully applying an antioxidant capacity measurement approach for the quantification of individual constituents of polyphenolic compositions. Our study confirmed that the methodology based on the ABTS lag-time assay could be effectively implemented for determining the content of components in binary combinations. The quantification analysis of DHQ – α -TOH and DHQ – SECO combinations using this technique demonstrated high reproducibility (with RSD not exceeding 2 %) and acceptable accuracy levels (with δ not exceeding 3.7 %). As a result of applying the developed methodology, a patent was granted for the technique of analyzing polyphenolic compositions. We believe that our findings provide a foundation for future evaluations of this methodology, potentially extending its application to more complex combinations of polyphenols and a broader range of substances.

REFERENCES

1. Fernandes I., Pérez-Gregorio R., Soares S., Mateus N., De Freitas V. Wine flavonoids in health and disease prevention. *Molecules*. 2017;22(2):292. DOI: 10.3390/molecules22020292.
2. Fraga C. G., Croft K. D., Kennedy D. O., Tomás-Barberán F. A. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & Function*. 2019;10(2):514–528. DOI: 10.1039/C8FO01997E.
3. de Lima Cherubim D. J., Buzanello Martins C. V., Oliveira Fariña L., da Silva de Lucca R. A. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2020;9(1):33–37. DOI: 10.1111/jocd.13093.
4. Luzhanin V. G., Whaley A. K., Ponkratova A. O., Novikova V. V., Bezverkhniaia E. A. Antimicrobial activity of polyphenolic compounds. *Drug development & registration*. 2022;11(2):65–72. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-65-72.
5. Amiot M. J., Riva C., Vinet A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. *Obesity reviews*. 2016;17(7):573–586. DOI: 10.1111/obr.12409.
6. Ciupei D., Colișar A., Leopold L., Stănilă A., Diaconeasa Z. M. Polyphenols: From Classification to Therapeutic Potential and Bioavailability. *Foods*. 2024;13(24):4131. DOI: 10.3390/foods13244131.
7. Durazzo A., Lucarini M., Souto E. B., Cicala C., Caiazzo E., Izzo A. A., Novellino E., Santini A. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*. 2019;33(9):2221–2243. DOI: 10.1002/ptr.6419.
8. Ji M., Gong X., Li X., Wang C., Li M. Advanced research on the antioxidant activity and mechanism of polyphenols from Hippophae species—A review. *Molecules*. 2020;25(4):917. DOI: 10.3390/molecules25040917.
9. Deepika, Maurya P. K. Health benefits of quercetin in age-related diseases. *Molecules*. 2022;27(8):2498. DOI: 10.3390/molecules27082498.
10. Ilyasov I. R., Beloborodov V. L., Selivanova I. A., Terekhov R. P. ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(3):1131. DOI: 10.3390/ijms21031131.
11. Gulcin I. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*. 2020;94(3):651–715. DOI: 10.1007/s00204-020-02689-3.
12. Chocie P., Foss K., Jabłońska M., Ustarewska M., Sawicki T. The profile and content of polyphenolic compounds and antioxidant and anti-glycation properties of root extracts of selected medicinal herbs. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2024;79(2):468–473. DOI: 10.1007/s11130-024-01180-z.
13. Thovhogi F., Mchau G. R. A., Gwata E. T., Ntushelo N. Evaluation of leaf mineral, flavonoid, and total phenolic content in spider plant germplasm. *Molecules*. 2021;26(12):3600. DOI: 10.3390/molecules26123600.
14. Sawicki T., Starowicz M., Kłębukowska L., Hanus P. The profile of polyphenolic compounds, contents of total phenolics and flavonoids, and antioxidant and antimicrobial properties of bee products. *Molecules*. 2022;27(4):1301. DOI: 10.3390/molecules27041301.
15. Zavadskiy S. P., Krasnyuk (Jr.) I. I., Kharitonov Yu. Ya., Tarasov V. V., Kuzmenko A. N., Kozin D. A., Saidov N. B., Olshanskaya O. V., Evgrafov A. A. The physical and chemical methods for testing antioxidative activity of herbal raw material and its conversion products. *Drug development & registration*. 2017;19(2):214–221. (In Russ.)
16. Poluyanov A. M., Sokolova A. Yu., Koynova A., Kulikova S. D., Malashenko E. A., Bobkova N. V. Identification and quantitative determination of flavonoids by HPLC-UV method in the raw materials of some representatives of the genus *Rumex* of three vegetation time. *Drug development & registration*. 2023;12(3):134–142. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-3-134-142.
17. Ilyasov I., Beloborodov V., Antonov D., Dubrovskaya A., Terekhov R., Zhevlakova A., Evteev V., Selivanova I. Flavonoids with glutathione antioxidant synergy: Influence of free radicals inflow. *Antioxidants*. 2020;9(8):695. DOI: 10.3390/antiox9080695.
18. Olicheva V., Beloborodov V., Sharifi S., Dubrovskaya A., Zhevlakova A., Selivanova I., Ilyasov I. Dihydroquercetin and Related Flavonoids in Antioxidant Formulations with α -Tocopherol. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025;26(12):5659. DOI: 10.3390/ijms26125659.
19. Chen X., Li H., Zhang B., Deng Z. The synergistic and antagonistic antioxidant interactions of dietary phytochemical combinations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;62(20):5658–5677. DOI: 10.1080/10408398.2021.1888693.
20. Voronin K. S., Fenin A. A., Zhevlakova A. K., Zavadskiy S. P., Selivanova I. A. Polyphenolic Profile of Larch Knotwood. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;55(8):781–786. DOI: 10.1007/s11094-021-02494-x.
21. Voronin K. S., Fenin A. A., Zhevlakova A. K., Pyzhov V. S., Selivanova I. A. Development and Validation of a Method for Simultaneous Quantification of Dihydroquercetin and Secoisolariciresinol. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;57(5):740–744. DOI: 10.1007/s11094-023-02948-4.

Research article / Оригинальная статья

UDC 547.854; 615.281.8; 577.152.2; 004.94

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2225>



Integrated Computational Exploration of Pyrimidine-2,4-dione Derivatives as Dual HIV-1 RT/RNase H Inhibitor

Yassine El Masaoudy¹, Hafiz Muzzammel Rehman², Marwa Alaqarbeh³, Hamid Maghat¹,
Tahar Lakhliifi¹, Mohammed Bouachrine¹✉

¹ Molecular chemistry and Natural Substances Laboratory (MCNSL), Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Moulay Ismail, Meknes, Morocco

² School of Biochemistry and Biotechnology, University of the Punjab, Lahore, Pakistan

³ Applied Science Research Center, Applied Science Private University, Jordan

✉ **Corresponding author:** Mohammed Bouachrine. **E-mail:** m.bouachrine@umi.ac.ma

ORCID: Yassine El Masaoudy – <https://orcid.org/0000-0003-0134-3294>;

Hafiz Muzzammel Rehman – <https://orcid.org/0000-0002-5281-3156>;

Marwa Alaqarbeh – <https://orcid.org/0000-0002-0879-5077>;

Hamid Maghat – <https://orcid.org/0000-0002-7731-330X>;

Tahar Lakhliifi – <https://orcid.org/0000-0003-4917-475X>;

Mohammed Bouachrine – <https://orcid.org/0000-0002-8901-047X>.

Received: 07.11.2025

Accepted: 17.12.2025

Published: 08.05.2026

Abstract

Introduction. Continuous efforts to uncover new antiviral entities targeting HIV RT RNase H stem from the suffering of affected individuals and the relentless increase in death cases. The present study focused on ten molecules based on the pyrimidine-2,4-dione scaffold, which were discovered to have potent antiviral activity against HIV RT RNase H and acceptable bioavailability and pharmacokinetic properties.

Aim. The main goal of this study is to discover and evaluate promising pyrimidine-2,4-dione-derived molecules as potential inhibitors of HIV.

Materials and methods. A docking protocol was executed to investigate the binding mechanisms of the designed compounds within RNase H's active site using the AutoDock Vina program. The molecular dynamics simulation analysis for 100 ns was carried out using Desmond, and the complexes were constructed using the OPLS3-2005 force field. The frontier molecular orbital energies and related reactivity factors of the best antiviral agents were determined using the DFT-B3LYP/6-31G (d,p) calculations performed with the Gaussian program.

Results and discussion. Two molecules, Pyr06 and Pyr07, displayed a higher docking score (–10.7 kcal/mol) than the control compound (MPD: –9.8 kcal/mol) and the other designed compounds (with affinities ranging from –9.6 to –10.4 kcal/mol). On the other hand, it was noted that these two molecules formed significant hydrogen bonds and hydrophobic contacts with active site residues. Furthermore, our analysis through MD simulations for 100 ns validated the binding stability and conformation of molecules Pyr06 and Pyr07 in complexes with the 5J1E receptor. The DFT findings for both molecules, Pyr06 and Pyr07, also confirmed their docking scores and their ability to form stable complexes with RNase H.

Conclusion. The results obtained could be highly beneficial for designing and developing Pyr06 and Pyr07 as potential therapeutic drugs to combat HIV RT RNase H.

Keywords: pyrimidine-2,4-dione ring, HIV RT RNase H, molecular docking, MD simulation, DFT

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. Yassine El Masaoudy, Hafiz Muzzammel Rehman – conceptualization, data curation, writing-original draft. Marwa Alaqarbeh, Hamid Maghat, Tahar Lakhliifi – methodology, investigation, visualization, supervision. Mohammed Bouachrine – validation, writing-review and editing.

Acknowledgment. The authors are grateful to the Moroccan Association of Theoretical Chemists (MATC) for its pertinent help concerning the programs.

For citation: El Masaoudy Y., Rehman H. M., Alaqarbeh M., Maghat H., Lakhliifi T., Bouachrine M. Integrated computational exploration of pyrimidine-2,4-dione derivatives as dual HIV-1 RT/RNase H inhibitor. *Drug development & registration*. 2026;15(2):43–57. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2225>

Интегрированное компьютерное исследование производных пиримидин-2,4-диона в качестве двойных ингибиторов РНКазы Н обратной транскриптазы ВИЧ-1

Я. Эль Масауди¹, Х. М. Рахман², М. Алакарбех³, Х. Магат¹, Т. Лахлифи¹, М. Буахрин¹✉

¹ Лаборатория молекулярной химии и природных веществ, кафедра химии, факультет естественных наук, Университет Мулая Исмаила, Мекнес, Марокко

² Школа биохимии и биотехнологий, Университет Пенджаба, Лахор, Пакистан

³ Научно-исследовательский центр прикладных наук, Частный университет прикладных наук, Иордания

✉ Контактное лицо: Буахрин Мохаммед. E-mail: m.bouachrine@umi.ac.ma

ORCID: Я. Эль Масауди – <https://orcid.org/0000-0003-0134-3294>;

Х. М. Рахман – <https://orcid.org/0000-0002-5281-3156>;

М. Алакарбех – <https://orcid.org/0000-0002-0879-5077>;

Х. Магат – <https://orcid.org/0000-0002-7731-330X>;

Т. Лахлифи – <https://orcid.org/0000-0003-4917-475X>;

М. Буахрин – <https://orcid.org/0000-0002-8901-047X>.

Статья поступила: 07.11.2025

Статья принята в печать: 17.12.2025

Статья опубликована: 08.05.2026

Резюме

Введение. Постоянные усилия по поиску новых противовирусных средств, нацеленных на РНКазу Н обратной транскриптазы ВИЧ обусловлены высокой заболеваемостью и неуклонным ростом смертности. Настоящее исследование сосредоточено на десяти основанных на пиримидин-2,4-дионе молекулах, которые, как было установлено, обладают мощной противовирусной активностью против РНКазы Н обратной транскриптазы ВИЧ, а также достаточной биодоступностью и фармакокинетическими свойствами.

Цель. Поиск и оценка перспективных производных молекул пиримидин-2,4-диона в качестве потенциальных ингибиторов ВИЧ.

Материалы и методы. Для изучения механизмов связывания спроектированных соединений с активным центром РНКазы Н был использован протокол докинга с применением программы AutoDock Vina. Молекулярно динамическое моделирование продолжительностью 100 нс выполнялось в программе Desmond, комплексы были построены на основе силового поля OPLS3 2005. Энергии фронтальных молекулярных орбиталей и связанные с ними показатели реакционной способности наиболее эффективных антивирусных агентов были рассчитаны с помощью метода DFT B3LYP/6 31G(d,p), реализованного в программе Gaussian

Результаты и обсуждение. Две молекулы, Pyr06 и Pyr07, продемонстрировали более высокий показатель докинга (–10,7 ккал/моль) в сравнении с контрольным соединением (MPD: –9,8 ккал/моль) и с другими спроектированными соединениями (с аффинностями в диапазоне от –9,6 до –10,4 ккал/моль). С другой стороны, было отмечено, что эти две молекулы образуют значительное количество водородных связей и гидрофобных контактов с аминокислотными остатками активного центра. Кроме того, анализ, проведенный с помощью молекулярно динамического моделирования в течение 100 нс, подтвердил устойчивость связывания и конформацию молекул Pyr06 и Pyr07 в комплексах с рецептором 5J1E. Квантово химические расчеты DFT для обоих соединений, Pyr06 и Pyr07, также подтвердили их высокие показатели докинга и способность образовывать стабильные комплексы с РНКазой Н.

Заключение. Полученные результаты могут оказаться крайне полезными для разработки соединений Pyr06 и Pyr07 в качестве потенциальных терапевтических препаратов для борьбы с РНКазой Н обратной транскриптазы ВИЧ.

Ключевые слова: пиримидин-2,4-дионовое кольцо, РНКазы Н обратной транскриптазы ВИЧ, молекулярный докинг, молекулярно-динамическое моделирование, DFT

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

Вклад авторов. Я. Эль Масауди, Х. М. Рахман – концептуализация, обработка данных, написание исходного текста. М. Алакарбех, Х. Магат, Т. Лахлифи – методология, исследование, визуализация, наблюдение. М. Буахрин – валидация, проверка текста, редактирование.

Благодарность. Авторы выражают благодарность Марокканской ассоциации теоретических химиков (MATC) за существенную помощь в реализации программ.

Для цитирования: Эль Масауди Я., Рахман Х. М., Алакарбех М., Магат Х., Лахлифи Т., Буахрин М. Интегрированное компьютерное исследование производных пиримидин-2,4-диона в качестве двойных ингибиторов РНКазы Н обратной транскриптазы ВИЧ-1. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):43–57. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2225>

INTRODUCTION

The increasing focus on the HIV infection epidemic has been notable since AIDS became a novel public health crisis nearly forty years ago [1, 2]. According to recent reports from UNAIDS¹ and WHO², the number of individuals infected with HIV has surpassed 85.5 million since the beginning of the AIDS epidemic. As of the end of 2022, around 39 million people were grappling with HIV infections, and the disease claimed the lives of nearly 630,000 individuals. HIV strains that have developed resistance to treatment are responsible for these deaths. HIV, categorized as a retrovirus within the lentivirus family, predominantly targets immune system cells that exhibit CD4 receptors on their surface. Precisely, CD4-positive T lymphocytes serve as the foremost target for HIV infection. Integrase, protease, and reverse transcriptase are three viral enzymes enclosed within a membrane called the capsid, which surrounds the RNA genome of the virus [3, 4]. Among these enzymes, RT is essential for the HIV viral life cycle by catalyzing an important process in the cytoplasm [5]. RT is the first viral enzyme to which anti-HIV drugs are directed and represents a major source of the substantial diversity observed among HIV strains in an infected individual [6–8]. HIV RT is a multifunctional enzyme that performs several crucial roles in viral replication, illustrating its flexibility by participating in two distinct enzymatic activities: DNA polymerase (Pol) and ribonuclease H (RNase H). The DNA Pol activity of RT is responsible for copying an RNA or DNA template to generate the corresponding cDNA. This process is called reverse transcription, the mechanism by which the viral RNA genome is transcribed into DNA [9–12]. During reverse transcription, the RNase H (RH) function of RT assumes a key role in breaking down the RNA element within the RNA-DNA hybrid structure. This degradation process is paramount for successfully concluding reverse transcription and forming a DNA duplicate of the viral genome. The cooperative action of the DNA polymerase and RH activity of RT assists the efficient synthesis of cDNA from its viral RNA template. Newly synthesized DNA then integrates into the host cell genome, resulting in chronic infection and viral reservoir establishment [13]. Their profound impact on HIV replication and survival in host cells is of high importance. The RH activity of HIV RT is a new target for the development of antiretroviral agents in treatment against HIV [14]. A class of drugs called RT inhibitors, however, acts to block the enzyme by either slowing it down or inhibiting its activity. This category of drugs is comprised of nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) and non-nucleoside RT inhibitors (NNRTIs). They are known as nucleoside analogs and

block the action of HIV reverse transcriptase, which is a form of enzyme necessary for the virus to be able to replicate. They operate by integrating into the growing viral DNA strand, effectively hampering further DNA synthesis. On the other hand, NNRTIs, also referred to as non-nucleoside analogs, target RT specifically by focusing on the enzyme's DNA polymerase-dependent RNA and DNA processes. NNRTIs attach to a specific pocket within the RT enzyme, effectively obstructing its function [15–17]. Despite the effectiveness of these RT inhibitors, resistance can occur, primarily due to mutations in the RT enzyme. The development of resistance poses a challenge in HIV treatment and indicates that it requires continuous research and the discovery of new antiretroviral drugs with novel mechanisms of action.

Heterocycles are organic molecules that have a ring structure and at least one heteroatom. These types of molecules are crucial in drug discovery and development. Thus, considerable efforts have been made to develop facile and green methods for their preparation in satisfactory yield. Compounds derived from pyrimidine-2,4-dione have exhibited a diverse range of pharmacological and biological functions, including antimicrobial, anti-cancer, antitumor, antiproliferative, antiviral, and antiparasitic agents. This study investigates *in silico* methodologies to evaluate the therapeutic viability of new heterocyclic derivatives designed to target HIV RT, driven by the urgent need for new therapeutic measures against HIV RNase H.

The outcomes of our prior QSAR modeling efforts have unveiled a novel category of pyrimidine-2,4-dione derivatives characterized by heightened antiviral efficacy against HIV RT. We observed an increase in RNase H activity [18]. All eleven drug candidates showed significant and promising antiviral activity, ranging from 8.174 to 13.835, among which inhibitors Pyr02 and Pyr08 showed remarkable inhibitory activity, with pIC_{50} values of 10.088 and 13.835, respectively. We also evaluated the Lipinski parameters [19] and the pharmacokinetic (PK) and toxicological properties [20] of the proposed antiviral candidates using an *in silico* ADME/toxicity examination. The results indicated that all of these candidates, except for Pyr05, have oral bioavailability, possess favorable PK characteristics, and demonstrate an absence of AMES toxicity. Our findings in previous work showed that the most active antiviral candidates are a promising scaffold for future anti-HIV RT RNase drug design.

In the present theoretical research, candidates with acceptable bioavailability and favorable ADMET properties were investigated through molecular docking analysis to gain a better handle on the detailed mechanism of proposed binding mode, interactions, and conformation between these chemicals and the target protein of therapeutic interest. We then used molecular dynamics simulation analysis to assess the stability and flexibility of the drug candidates, or ligands, in the active site.

¹ UNAIDS. Available at: <https://www.unaids.org/en> Accessed: 07.11.2025.

² WHO. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/hiv-aids> Accessed: 07.11.2025.

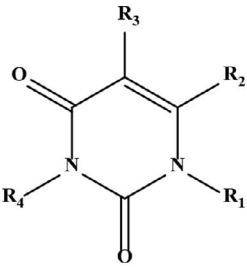
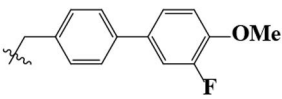
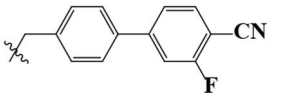
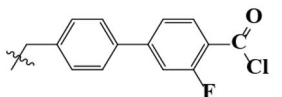
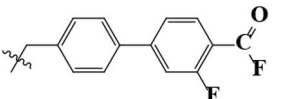
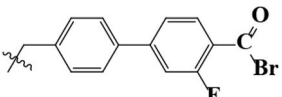
METHODOLOGY

The rapid spread of computational technologies, particularly the Computer Assisted Drug Discovery (CADD) approach, has stimulated the search for potent therapeutic drugs that could act against different diseases. This method has revolutionized drug discovery by accelerating the screening and testing of potential treatment candidates. In our previous work, we reported a series of compounds originated from pyrimidine-2,4-diones that exhibited potent antiviral activity against HIV RT RNase H by using 2D-QSAR, which was developed based on MLR and MNLR. Moreover, we conducted drug similarity and ADMET studies to assess their properties. It was found that all derivatives, except for Pyr05, adhered to Lipinski's rules, exhibited favorable ADME properties, and showed no mutagenicity based on the AMES assay [18]. The anti-HIV RT RNase H enzyme activity, drug-likeness, and ADMET predicted results of MPD and the 11 designed compounds were

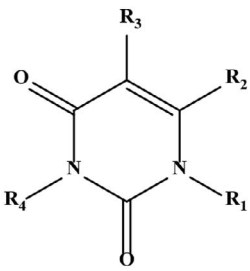
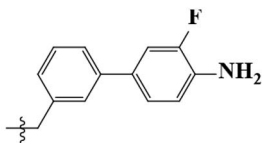
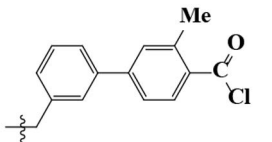
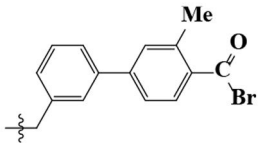
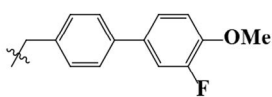
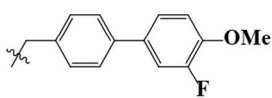
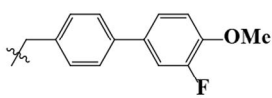
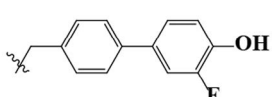
summarized in Table 1. These findings emphasize the encouraging properties of these compounds as potential antiviral agents and deserve further investigation.

In this study, we sought to gain insight into the potential of these derivatives as inhibitors targeting HIV RT RNase H by employing molecular docking based on our recent research and molecular dynamics simulations. Molecular docking is a computational approach that estimates the optimal orientation and binding abilities for small molecules in a protein's active site [21, 22]. In this work, the envisaged interaction and binding modes of the MPD, Pyr01, Pyr02, Pyr03, Pyr04, Pyr06, Pyr07, Pyr08, Pyr09, Pyr10 and Pyr11 compounds with different substituents (e.g., carboxyl [COOH], hydroxyl [OH], amino [NH₂], cyano [CN], methoxy [OMe], and haloformyl [COX] groups) in the active site of RT RNase H were analyzed using the AutoDock Vina program [23]. The 3D crystal structure of RNase H can be identified using the ID code 5J1E [24]. Using AutoDock tools [25],

Table 1. 2D chemical structures, anti-HIV RT RNase H activity, drug-likeness, and ADMET prediction of MPD and 11 proposed compounds

								
Cmpd	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	pIC ₅₀	Acceptable bioavailability	Favorable ADME properties	AMES Toxicity
MPD ^a	H		H	OH	8.119	Yes	Yes	No
Pyr01 ^b	H		H	OH	8.174	Yes	Yes	No
Pyr02	H		H	OH	10.088	Yes	Yes	No
Pyr03	H		H	OH	8.955	Yes	Yes	No
Pyr04	H		H	OH	8.871	Yes	Yes	No

End of Table 1

								
Cmpd	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	pIC ₅₀	Acceptable bioavailability	Favorable ADME properties	AMES Toxicity
Pyr05	H		H	OH	8.952	Yes	Yes	Yes
Pyr06	H		H	OH	8.636	Yes	Yes	No
Pyr07	H		H	OH	8.829	Yes	Yes	No
Pyr08 ^c	H		COCl	OH	13.835	Yes	Yes	No
Pyr09	H		COOH	OH	8.262	Yes	Yes	No
Pyr10	H		Br	OH	8.686	Yes	Yes	No
Pyr11	OH		OH	OH	8.754	Yes	Yes	No

Note. ^a MPD is the most potent derivative in the previous QSAR modeling.

^b Pyr01 is the least active designed compound as HIV RT RNase H inhibitor.

^c Pyr08 is the most active designed compound as HIV RT RNase H inhibitor.

the protein structure was primed for docking by eliminating both H₂O molecules and the co-crystallized inhibitor. Following this, the Gasteiger-Huckel charge was applied to the protein atoms after merging non-polar hydrogens with their corresponding carbon atoms. The

molecular docking process involved optimizing the grid box dimensions to 35 × 26 × 35 Å, with specific center coordinates set at -52.290, 70.325, and -85.394 for the x, y, and z axes, respectively. The best conformation of ligands was selected by considering the lowest bin-

ding energy. A re-docking protocol was carried out to validate the docking method's reliability. This involved superimposing the native co-crystallized molecule's position with its predicted docked pose and calculating the root mean square deviation (RMSD) parameter, which required a value <2 for reliability.

The ADMET prediction and molecular docking results were confirmed by conducting a 100 ns molecular dynamics simulation analysis for protein-small molecule complexes, emphasizing the binding of the protein (PDB: 5J1E) with the ligands exhibiting the highest stability. The molecular dynamics simulations were carried out using Desmond, and the complexes were constructed using the OPLS3-2005 force field [26]. The explicit solvent model SPC was employed to simulate the solvent, placing the system in an orthorhombic box. The box size was adjusted to ensure that the outermost atom of the complex was distanced by 10 Å from each side of the box. The system was neutralized by adding Na⁺ and Cl⁻ counter-ions during molecular dynamics simulation in order to mimic the physiologically relevant conditions (0.15 M salt concentration or about 0.15 M). The Molecular dynamics simulations were conducted under the NPT ensemble, with temperature and pressure fixed at 300K and 0.987atm, respectively. The evaluation of the simulated systems was based on analyzing several parameters, namely RMSD, RMSF, rGyr, intraHB, MolSA, SASA, and PSA.

Finally, density functional method studies were conducted using the B3LYP hybrid functional to estimate the frontier molecular orbital energies and related quantum chemical factors of the best antiviral agents selected through structure-based Molecular docking and Molecular dynamics simulations. The DFT calculations were executed by the Gaussian program using a 6-31G(d, p) basis set [27]. The objective was to evaluate the electronic properties and reactivity indices of these chemical structures.

RESULTS AND DISCUSSION

Binding modes of MPD and Ligands within the 5J1E receptor

Molecular docking simulations were performed for one reference complex and ten ligand-receptor ones, which in total contributed to obtaining the set of necessary details about the working principle of each pair. The results included affinity-calculated values for the most optimal combination of the enzyme active site with the docked compounds. These affinity values reflect the binding strength between the ligands and the enzyme. Furthermore, the predicted interactions between the docked molecules and essential residues at the active site are illustrated in Figures 1–7. The dotted lines depict the binding interactions between ligands and RT RNase H's active site. At the same time, Table 2 provides a summary of the corresponding favorable interactions and affinity values. The various modes and interactions of ligand-receptor binding among the MPD, Pyr01, Pyr02, Pyr03, Pyr04, Pyr06, Pyr07, Pyr08, Pyr09, Pyr10, and Pyr11 ligands within the RT RNase H's active site were analyzed using the AutoDock Vina program. All the ligands had the same structural feature that was characterized by the biphenyl part, which was joined with a pyrimidine ring containing two carbonyl groups, the pyrimidine-2,4-dione ring. Additionally, it is crucial to focus on some of the critical amino acids that played a key role in hydrogen bonding and hydrophobic interaction formation in the active site of the receptor. These amino acids are the ones that formed the intermolecular hydrogen bonds with compounds. They are as follows: LEU533, GLN507, LYS431, GLU430, TYR532, LYS424, GLN500, TRP266, LEU425, PRO421, and TRP535. The binding affinity among the wide range, from moderate to excellent binding, showed the scores from –9.6 to –10.7 kcal/mol. The ten molecule-receptor complexes possessed a higher negative binding affinity than the reference complex (–9.6 kcal/mol), except for Pyr08 (–9.6 kcal/mol) and Pyr11 (–9.8 kcal/mol).

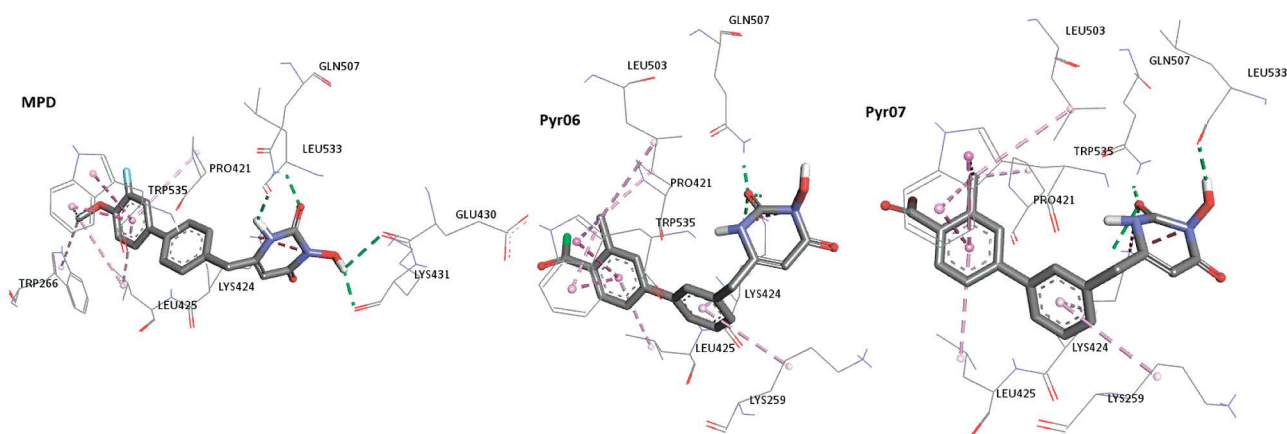


Figure 1. The 3D representation of the predicted binding modes of MPD, Pyr06, and Pyr07 inhibitors in the 5J1E receptor

Table 2. Affinity scores and binding interactions of ligands in the 5J1E receptor in comparison with MPD

Ligand	Affinity (kcal/mol)	Hydrogen bonds interactions		Hydrophobic interactions		
		Conventional H-bond	Carbon H-bond	Pi-Pi stacked	Alkyl/ Pi-alkyl	Pi-sigma
MPD	-9.8	LEU533 5.28 Å GLN507 5.42 Å LYS431 3.69 Å GLU430 5.42 Å	–	TRP535	TRP266 LEU425 PRO421	LEU425
Pyr01	-10.4	TYR532 6.07 Å LYS424 4.21 Å TRP535 5.15 Å GLN500 4.88 Å	TRP266 4.69 Å	–	–	–
Pyr02	-10.3	TYR532 5.76 Å LYS424 4.15 Å TRP535 5.25 Å GLN500 4.62 Å	TRP266 4.62 Å	–	–	LEU425
Pyr03	-10.2	TYR532 5.06 Å LYS424 4.05 Å TRP535 5.55 Å GLN500 4.48 Å	TRP266 4.62 Å	–	–	LEU425
Pyr04	-10.3	LYS424 4.11 Å TRP535 5.33 Å GLN500 4.53 Å	TRP266 4.63 Å	–	–	LEU425
Pyr06	-10.7	LYS424 5.48 Å GLN507 5.61 Å	–	–	PRO421 LEU503 LEU425 LYS259	TRP535
Pyr07	-10.7	LYS424 5.46 Å GLN507 5.63 Å LEU533 5.14 Å	–	–	PRO421 LEU503 LEU425 LYS259	TRP535
Pyr08	-9.6	LYS259 4.44 Å GLN507 5.01 Å LEU533 5.23 Å	–	TRP535	LYS424 PRO421 LEU422 LEU425 TRP266	–
Pyr09	-10.3	GLN507 6.24 Å LYS424 4.94 Å TRP535 5.42 Å	TRP266 4.60 Å GLN269 6.11 Å LYS259 5.05 Å	–	PRO421	–
Pyr10	-10.1	GLN507 5.49 Å LEU533 6.02 Å	–	TRP535	LYS259 LEU425 PRO421	–
Pyr11	-9.8	LYS424 3.62 Å	ALA534 3.73 Å	–	LEU425 PRO421 LEU422	–

The differences in binding affinity values can be attributed to variations in the number of interactions, types of interactions, and distances between each ligand and the amino acid residues.

Predicted binding modes of MPD, Pyr06 and Pyr07 with 5J1E receptor

In the present work, MPD was considered a control compound to identify the binding energy between this new series derived from pyrimidine-2,4-dione and the RNase receptor and study their binding interactions. The affinity and the interactions derived from molecular docking studies with the control compound in the 5J1E receptor are shown in Table 2. The residues of the

5J1E receptor active site that mainly interacted with the docked control compound were LEU533, GLN507, LYS431, GLU430, TRP535, TRP266, LEU425, and PRO421 (Figure 1). Additionally, the pyrimidine-2,4-dione ring of the control compound had H-bond interactions with four residues: LEU533, GLN507, LYS431, and GLU430. These interactions had bond lengths of 5.28, 5.42, 3.69, and 5.42 Å, respectively, indicated by the dotted green line. The hydroxyl group of the control compound forms an H-bond interaction with LYS431 and GLU430. The molecule of interest has a carbonyl group at the C-2 position and an NH group in the pyrimidine-2,4-dione ring; the substituents form H-bond interactions with GLN507 and LEU533, respectively. The biphenyl moiety

exhibited five hydrophobic contacts, such as π - π stacked, alkyl/ π -alkyl, and contact π -sigma interactions with TRP535, TRP266, PRO421, and LEU425.

From Table 2, the binding affinity and interaction records obtained from the molecular docking studies of the docked Pyr06 and Pyr07 ligands in the HIV RT RNase H receptor are displayed. The ligands Pyr06 and Pyr07 displayed the most negative binding affinity of -10.7 kcal/mol in comparison to the other ligands. Additionally, the same two ligands displayed similar interactions in the HIV RT RNase H receptor. Furthermore, the biphenyl moieties of both ligands engaged in a similar hydrophobic contact with amino acid residues LEU503, TRP535, LEU425, and LYS259. The same could be observed for the pyrimidine-2,4-dione ring of Pyr06 and Pyr07, which have the same H-bond interaction for the amino acid residues LYS424 and GLN507. The green dotted lines in Figure 1 illustrate the commonalities of the above interactions. For the carbonyl group located at position C-2 of the pyrimidine-2,4-dione ring of Pyr06 and Pyr07, it engaged in two different H-bond contacts with two amino acid residues. For Pyr06, the H-bond interaction occurred based on LYS424 and GLN507 at a distance of 5.48 Å and 5.61 Å, respectively. Similarly, in Pyr07, H-bond interactions occurred with LYS424 at a distance of 5.46 Å and GLN507 at a distance of 5.63 Å. Compared to Pyr06, there was one additional conventional H-bond engagement for the hydroxyl group in the pyrimidine-2,4-dione ring of Pyr07 and LEU533 at a distance of 5.14 Å.

Predicted binding modes of Pyr01 with 5J1E receptor

The affinity and the amino acid residue are important for predicted binding interactions derived from molecular docking studies with Pyr01 in the 5J1E receptor are shown in Table 2. The residues of the receptor active site that mainly interacted with the docked Pyr01 compound were TYR532, LYS424, TRP535, GLN500, and TRP266 (Figure 2). It is worth noting that although no hydrophobic contacts between the Pyr01 ligand and residues were observed, the Pyr01 ligand exhibited the second-highest negative score affinity of -10.4 kcal/mol after the Pyr06 and Pyr07 ligands. The pyrimidine-2,4-dione ring of the molecule Pyr01 established three H-bond contacts with TYR532, LYS424, and TRP535, with distances of 6.07 , 4.21 , and 5.15 Å, respectively. The hydroxyl group of the docked Pyr01 compound participated in an H-bond with TYR532. Moreover, the carbonyl group located at positions C-2 and C-4 of the pyrimidine-2,4-dione ring formed two H-bonds, one with TRP535 and the other with LYS424. Additionally, the biphenyl moiety is engaged in forming two H-bond interactions. One of the interactions is with GLN500 at a distance of 4.88 Å, and is a conventional H-bond, while the other is with TRP266 at a distance of 4.69 Å and is a carbon H-bond.

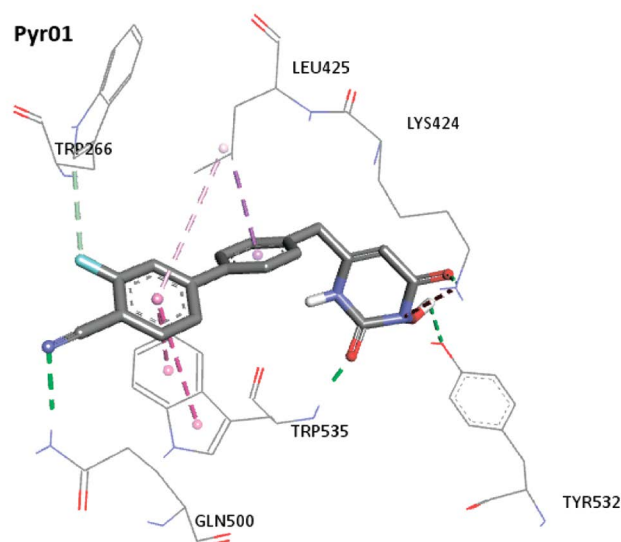


Figure 2. Predicted binding interactions between Pyr01 inhibitor and the 5J1E receptor

Predicted binding modes of Pyr02, Pyr04 and Pyr09 with 5J1E receptor

The affinity and the amino acid residues important for predicted binding interactions derived from molecular docking studies with Pyr02, Pyr04, and Pyr09 in the 5J1E receptor are shown in Table 2. The Pyr02, Pyr04, and Pyr09 ligands displayed the third-highest negative binding affinity of -10.3 kcal/mol among the other ligands. The docking results revealed that the residues of the receptor active site that mainly interacted with the docked compounds were TYR532, LYS424, TRP535, GLN500, TRP266, GLN269, LYS259, LEU425, and PRO421. Four identical residues were engaged in H-bond interactions with the docked compounds (LYS424, TRP535, GLN500, and TRP266).

Additionally, ligand Pyr02 interacts with TYR532, LYS424, TRP535, GLN500, TRP266, and LEU425 residues through H-bond interactions and hydrophobic contacts, as shown in Table 2, and Figure 3. In the case of Pyr02, the pyrimidine-2,4-dione ring interacted with the residue TYR532 through three H-bonding distances of 5.76 and 4.15 Å with LYS424 and a distance of 5.25 Å with TRP535, as shown in Table 2 and Figure 3. The pyrimidine group at N-3 in pyrimidine-2,4-dione engaged in a hydrogen bond with TYR532. In contrast, the carbonyl group located at positions C-2 and C-4 of the same ring participated in two H-bonding contacts, one with TRP535 and the other with LYS424. The biphenyl moiety of the ligand engaged in two H-bonding interactions, one with GLN500 at a distance of 4.62 Å (conventional H-bond) and another (carbon H-bond) with TRP266 at a distance of 4.62 Å. Furthermore, the biphenyl moiety also had a hydrophobic contact (π -sigma interaction) with LEU425. A detailed illustration of the interactions is depicted in Figure 3.

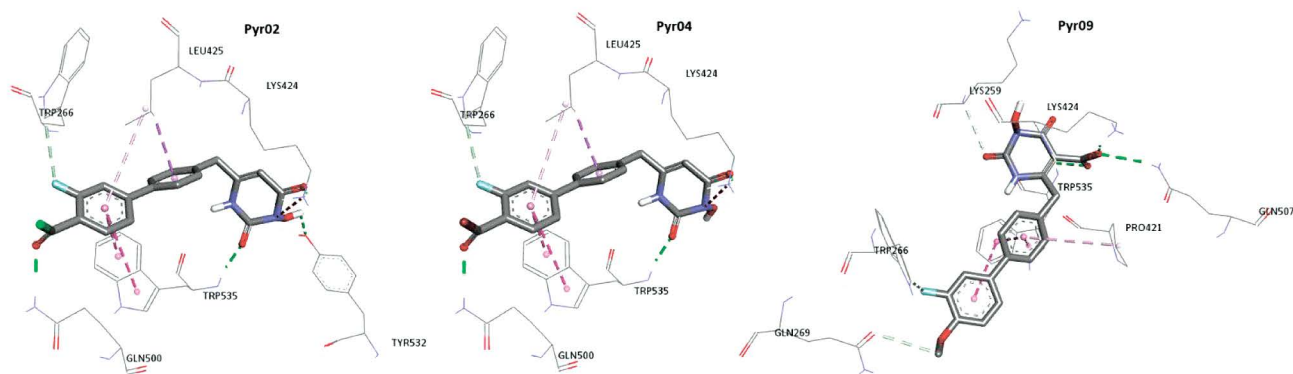


Figure 3. Predicted binding interactions between Pyr02, Pyr04, and Pyr09 inhibitors derived from the pyrimidine-2,4-dione and the 5J1E receptor

Ligand Pyr04 established its presence through H-bond interactions and hydrophobic contacts with LYS424, TRP535, GLN500, TRP266, and LEU425 residues (Figure 3). The carbonyl group positioned at C-2 and C-4 of the pyrimidine-2,4-dione ring also formed two unique hydrogen bond interactions with TRP535 and LYS424 with distances measuring 5.33 and 4.11 Å, respectively. The biphenyl participated in dual H-bonding contacts: one formed a conventional H-bond with GLN500 at a distance of 4.53 Å, while the second produced a carbon bond H-bond with TRP266 at a distance of 4.63 Å. Moreover, a hydrophobic contact was seen with LEU425. It was a Pi-sigma interaction.

Ligand Pyr09 engaged in hydrogen bond interactions and hydrophobic contacts with GLN507, LYS424, TRP535, TRP266, GLN269, LYS259, and PRO421 residues (Figure 3). The carboxylic acid moiety at C-5 of the pyrimidine-2, 4-dione ring had 3 hydrogen bonds with TRP535, LYS424, and GLN507 at distances of 5.42, 4.94, and 6.24 Å, respectively (Figure 3). In addition, a carbon-hydrogen bond was additionally formed by the carbonyl group of the same ring at C-2 with LYS259 at a distance of 5.05 Å. The biphenyl moiety showed two carbon-hydrogen bonds with GLN269 and TRP266 at distances of 6.11 and 4.60 Å, as well as one hydrophobic contact – a pi-alkyl interaction with PRO421.

Predicted binding modes of Pyr03 with 5J1E receptor

Table 2 shows the affinity and important interactions of the molecular docking study with the Pyr03 in the RT RNaseH receptor (Figure 4). Pyr03 with –10.2 kcal/mol has the most negative binding affinity value and is presented in fourth place among the ligands. The docking analysis shows that the docked Pyr03 ligand has an important interaction with specific receptors for the active site. These receptors are TYR532, LYS424, TRP535, GLN500, TRP266, and LEU425. The pyrimidine-2,4-dione ring of the Pyr03 has undergone three separate H-bonds, which are the first H-bond with TYR532 at 5.06 Å, the second H-bond with LYS424 at

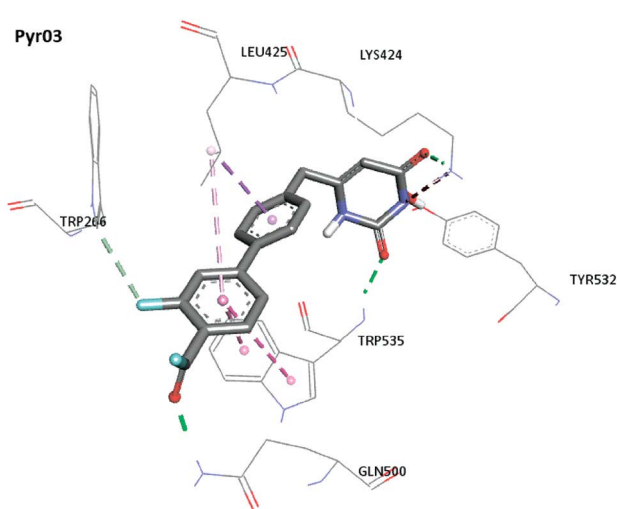


Figure 4. Predicted binding interactions between Pyr03 inhibitor the 5J1E receptor

4.05 Å, and the third H-bond with TRP535 at 5.55 Å. The hydroxyl group at the position N-3 of the pyrimidine-2,4-dione ring was involved in H-bonding with the TYR532 receptor, while a C=O at positions C-2 and C-4 of the same ring benefitted from two H-bonds, one with TRP535 and another one with LYS424. The biphenyl moiety of the Pyr03 made two H-bonds; one is the conventional H-bonding at the distance of 4.48 Å with the GLN500, and another is a sigma interaction between the carbon atom and the hydrogen bond with the distance of 4.62 Å. Further, the biphenyl moiety of the Pyr03 makes a hydrophobic contact with the LEU425.

Predicted binding modes of Pyr10 with 5J1E receptor

Table 2 demonstrates the binding logics and crucial interactions of molecular docking with Pyr10 in the RT RNase H receptor. Pyr10 recorded the fifth-highest binding logic of –10.1 kcal/mol in the ligand evaluation. Docking analysis indicated critical contact residues for

the interaction between the docked compound Pyr10 and the active site 5J1E receptor (Figure 5). The residues include GLN507, LEU533, TRP535, LYS259, LEU425, and PRO421. The Pyr10's pyrimidine-2,4-dione ring made two H-bonds: one with LEU533 at 6.02 Å and one with GLN507 at 5.49 Å. In the pyrimidine ring, the carbonyl group at the C-2 position established a conventional H-bond with GLN507, while the NH-group at the aromatic ring established a conventional hydrogen bond with LEU533. The biphenyl features made extensive contact with the TRP535, LYS259, LEU425, and PRO421 via pi-pi stacked and alkyl/pi-alkyl contacts.

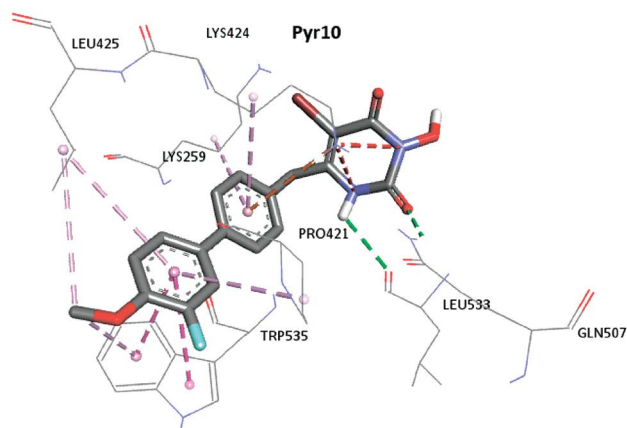


Figure 5. Predicted binding interactions between Pyr10 inhibitor and the 5J1E receptor

Predicted binding modes of Pyr11 with 5J1E receptor

The binding affinity and critical interactions between ligand Pyr11 and specific residues within the active site of the 5J1E receptor are displayed in Table 2. Pyr11 ligand exhibited the sixth-highest negative binding affinity of -9.8 kcal/mol. 5J1E receptor active site residues that mainly interacted with the docked Pyr11 compound were LYS424, ALA534, LEU425, PRO421, and LEU422 (Figure 6). The pyrimidine-2,4-dione ring of the inhibitor Pyr11 established two H-bonding interactions with LYS424 (conventional H-bond) and ALA534 (carbon H-bond), with distances of 3.62 and 3.73 Å, respectively. The carbonyl group located at positions C-2 and C-4 of the pyrimidine-2,4-dione ring formed two H-bonds, one with LYS424 and the other with ALA534. Furthermore, the biphenyl moiety made hydrophobic contacts (Pi-alkyl interactions) with LEU425, PRO421, and LEU422.

Predicted binding modes of Pyr08 with 5J1E receptor

The Pyr08 ligand interacted with several residues through H-bonds and hydrophobic contacts (Figure 7). Particularly, it made contacts with LYS259, GLN507, LEU533, TRP535, LYS424, PRO421, LEU422, LEU425, and TRP266. The pyrimidine-2,4-dione ring of inhibitor Pyr8

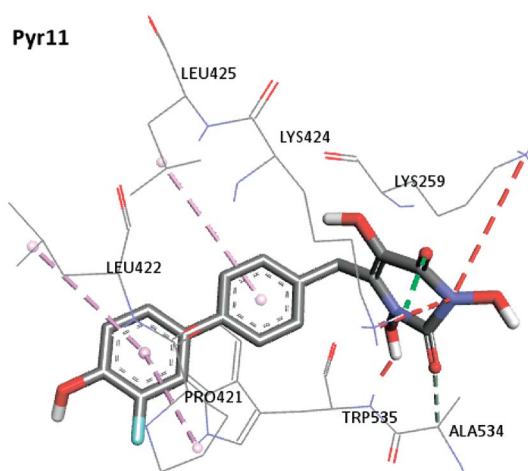


Figure 6. Predicted binding interactions between Pyr11 inhibitor and the 5J1E receptor

formed three conventional hydrogen bond contacts with LYS259, GLN507, and LEU533 at distances of 4.44, 5.01, and 5.23 Å, respectively. The carbonyl of the position C-2 of the pyrimidine-2,4-dione ring formed an H-bond with GLN507, and the NH of the pyrimidine-2,4-dione ring made an H-bond with LEU533. Furthermore, the oxygen of the COCl group formed an H-bond with LYS259. Lastly, the biphenyl moiety of Pyr8 made hydrophobic contacts with TRP535, LYS424, PRO421, LEU422, LEU425, and TRP266.

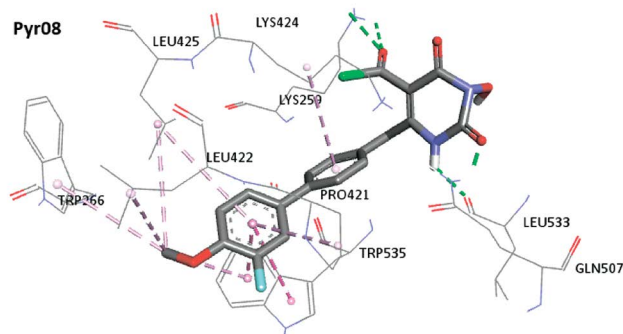


Figure 7. Predicted binding interactions between Pyr08 inhibitor and the 5J1E receptor

The superposition method

The precision of the results from the molecular docking protocol was confirmed by utilizing the superposition approach, as the docking technique underwent validation through a redocking procedure into the HIV RT RNase H crystal structure (PDB code 5J1E). This validation process revealed a noteworthy success rate when comparing the redocking outcomes with the co-crystallized conformation, resulting in an RMSD value of 1.053 Å. The alignment of the docked small molecule's orientation was found to be highly accurate and perfectly matching the bioactive conformation of the co-crystallized small molecule, as depicted in Figure 8.

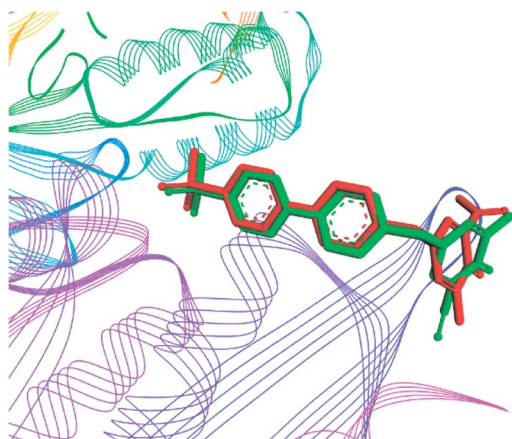


Figure 8. The superposition of the native small molecule (red) and the redocked small molecule (green)

Molecular dynamics simulation

The Molecular analysis results indicate that, except for Pyr08, all the ligands studied showed more excellent stability in the receptor (PDB code: 5J1E) than the control ligand (MPD: -9.8 kcal/mol). Pyr06 and Pyr07 were the most stable compounds in the receptor's binding site, suggesting that they have a more substantial binding energy for the protein and are more likely to interact regularly and stably with the receptor than the other ligands, including the control ligand. To examine the interactions of the best-binding docked compounds (Pyr06 and Pyr07) within the receptor's binding pocket and to evaluate the conformational stability of both anchored complexes formed by 5J1E receptor and Pyr06 and Pyr07 molecules (5J1E-Pyr06 and 5J1E-Pyr07), molecular dynamics simulations were conducted.

RMS deviation (RMSD) tracks how the overall conformation of the system evolves, highlighting changes from the initial structure. On the other hand, the RMS fluctuation (RMSF) parameter was considered to articulate the system's stability, the mobility of individual atoms, and the flexibility of residues during protein-compound interactions. The peaks in the RMSF plot indicate the fluctuating regions of the protein during the molecular dynamics simulation analysis.

The recorded RMSD values of the 5J1E-Pyr06-complex and 5J1E-Pyr07-complex are shown in Figures 9 and 10, respectively. As can be seen from Figure 9, the RMS deviation parameter of the 5J1E-Pyr06 led to an initial deviation ranging from 3–6 Å until nearly 40 ns, after which the system attained equilibrium, and the deviation stabilized between 6–7 Å. Similarly, the RMS deviation of the 5J1E-Pyr07 displayed a deviation from 2.4 to 4.0 Å until 35 ns, following which the RMSD stabilized, and the system equilibrated until 100 ns (Figure 10). After looking at the trajectories, it was found that both systems remained stable, with ligands staying within the binding pockets, engaging in significant interactions, and maintaining consistent backbones. The

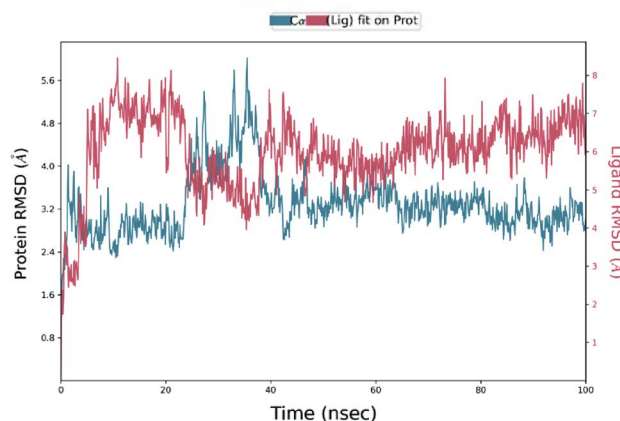


Figure 9. RMS deviation plot of 5J1E-Pyr06-Complex

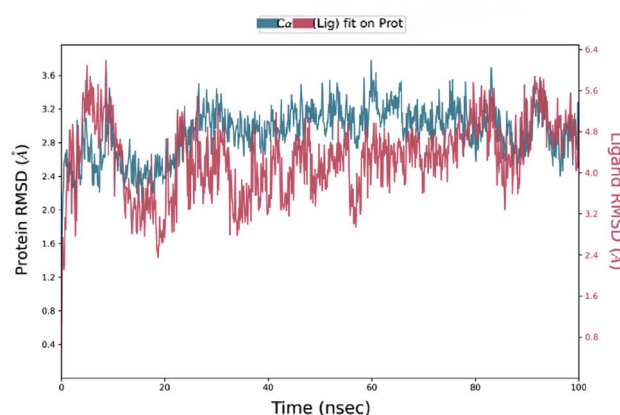


Figure 10. RMS deviation plot of 5J1E-Pyr07-Complex

observed deviation could be attributed to conformational changes. Likewise, recorded RMSF values below 3 Å revealed remarkable stability of both complexes. There was no significant fluctuation in regions where the ligand interacted with the 5J1E receptor, as depicted by the green lines in Figures 11 and 12. The examination focused on the ligand in the complex to discern its impact on the overall protein.

The six analyzed parameters (RMSD, rGyr, intraHB, MolSA, SASA, and PSA) allow us to assess the stability of ligands Pyr06 and Pyr07 in the receptor's binding pocket during the 100 ns of simulation. Thus, ligand RMSD is a metric that quantifies the amount of structural variance of a compound from a reference conformation, frequently their initial structure. It provides information on how much the ligands have moved from the initial conformation during the simulation. In general, lower RMSD means the ligands keep the structure closer to the reference structure, which means intraHB bonds within ligand pieces are of a more specific type sensitive to different ligand parts' heat. These IntraHBs are responsible for the molecule's shape and activity. The existence of intraHBs can affect multiple molecular properties like structure, reactivity, function, etc. MolSA is the total area of the surface of a molecule that is being

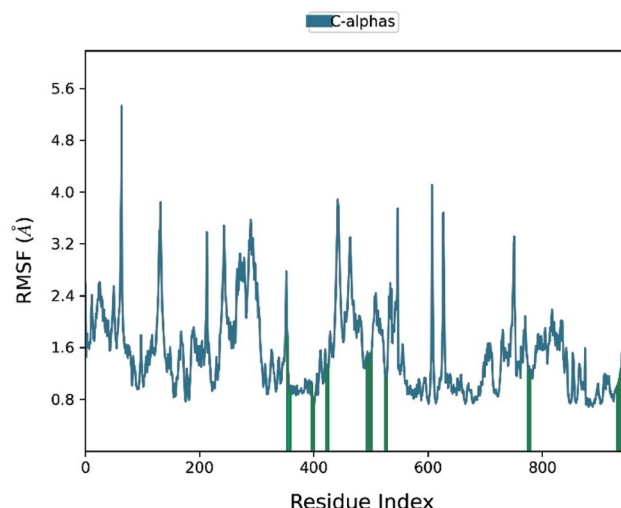


Figure 11. RMS fluctuation plot of 5J1E-Pyr06-Complex

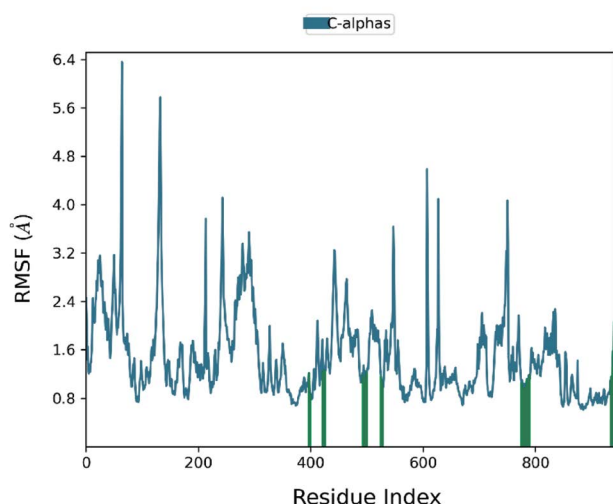


Figure 12. RMS fluctuation plot of 5J1E-Pyr07-Complex

allowed or denied access to its environment. MolSA is often taken as a theoretical calculation using minimum probe radius and based on the probe-accessible surface. The value of MolSA gives an idea about the molecule's openness to the environment and the interactions possible with the neighboring molecules. SASA is a measurement of the percent of a molecule's surface that is solvent-accessible. This parameter will give the idea of whether the part of a molecule is exposed or hidden within the environment. Since understanding the specific areas of a molecule is more common, changes in SASA will indicate potential interactions, particularly in the binding site. PSA is to measure the solvent-accessible superficial area of a compound composed of polar atoms. It concentrates on regions conducive to polar interactions, including hydrogen bonding. Plots of the six properties mentioned below of the ligands Pyr06 and Pyr07 are depicted in Figures 13 and 14, respectively. As shown in Figure 13, the RMSD of the mo-

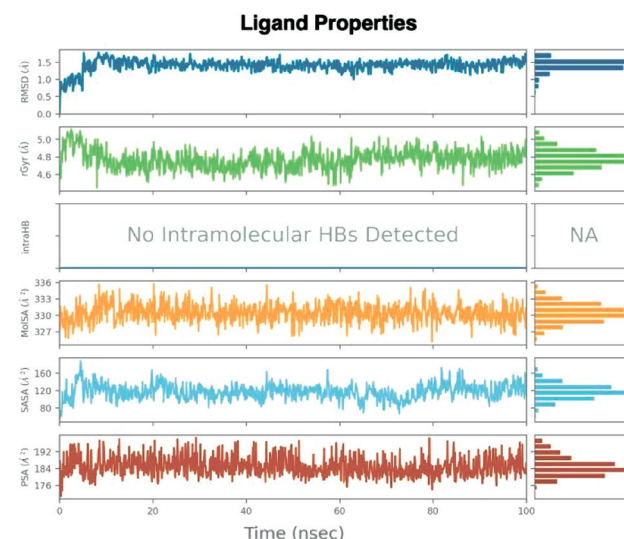


Figure 13. Variation in the small molecule's properties in 5J1E-Pyr06-complex as a function of time during a 100 ns MD simulation

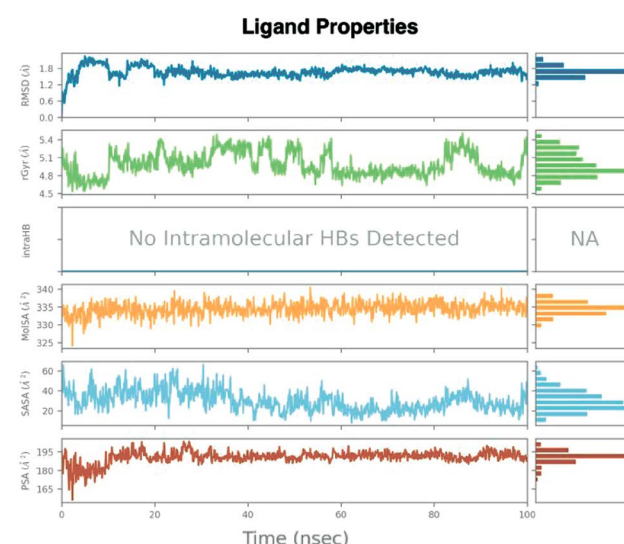


Figure 14. Variation in the small molecule's properties in 5J1E-Pyr07-complex as a function of time during a 100 ns MD simulation

lecule Pyr06 remained nearly 1.5 Å and maintained consistency throughout the 100 ns duration. The constant rGyr values of the molecule Pyr06, ranging from 4.6 to 4.8 Å, indicate stability in the spatial distribution of the molecule, suggesting a stable behavior in its interaction with the 5J1E receptor. Additionally, the graphs for the MolSA, SASA, and PSA parameters reveal the coherence of the Pyr06 molecule across the entire MD analysis, with curves remaining steady and smooth across the 100 ns period, indicating the ligand's stability inside the binding pocket throughout the trajectory of the protocol of MD analysis. Along the same lines, for the 5J1E-Pyr07 complex, the ligand's RMSD was consistent-

ly maintained at 1.8 Å throughout the simulation. The estimated rGyr values of the Pyr07 molecule ranged from 4.8 to 5.4 Å until the simulation's conclusion, indicating constant values reflective of its stable behavior in interaction with the 5J1E receptor. It is also important to notice that during the simulation the Pyr07 molecule remained stable, which is apparent from the MolSA, SASA, and PSA parameter plots. As seen from Figure 14, there are small fluctuations in the Pyr07 line over all three parameters, and the values remained invariable during the whole simulation.

DFT analysis

In this theoretical work, we estimated the quantum reactivity parameters of the best antiviral agents (Pyr06 and Pyr07) using the DFT-B3LYP/6-31G(d,p) calculation. The obtained parameters are fundamental for determining the strength of the interactions of the specified agents in the 5J1E receptor binding pocket. This means that the larger the E_{LUMO} value, the better the molecule is to act as an acceptor, whereas the larger the E_{HOMO} value, the better the molecule is to act as a donor. Also, there is the difference between LUMO and HOMO, which is denoted as ΔE figuit is the energy gap between the mentioned orbitals. The lower the difference between the two, the more reactive the compound. The electronegativity, which is denoted as χ , describes the entities' ability to attract electrons to themselves. Ionization potential, which is denoted as I , is about the energy required to remove an electron from a certain compound, and electron affinity, denoted as A , is about the energy released when a molecule gains electrons. The corresponding formula for them is $\chi = (I + A)/2$. Hardness, denoted as η , which is not a well-used term, is the ability of a molecule to resist deformation during a reaction. One can define it as $\eta = (I - A)/2$. Electrophilicity, denoted as ω , is a measure of a molecule's affinity to pair a bond – one can define it as $\omega = \chi^2/2\eta$. Dipole moment, denoted as DM, is practically the polarity measurement of an entity, and q is the charge separation,

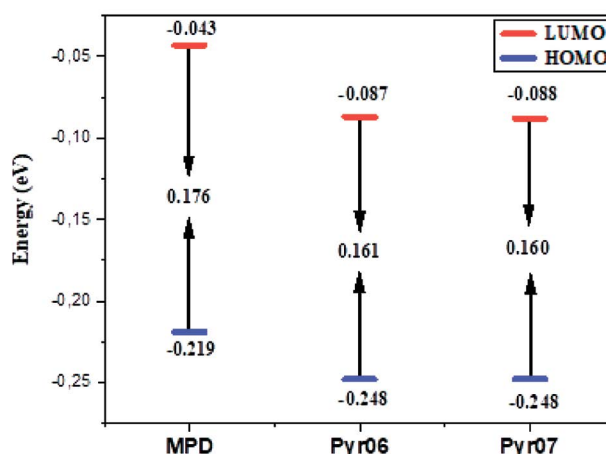


Figure 15. The FMO energy values of the studied compounds (MPD, Pyr06, and Pyr07)

and d is the distance between the charges. A higher DM indicates a higher polarity and a stronger interaction with electric fields. Figures 15 and 16 display the energy values and the contour plots of the FMOs of the tested agents, respectively, calculated at the B3LYP/6-31G(d,p) level. Table 3 presents the results of the DFT calculation.

As can be observed in Figure 16 and Table 3, the frontier molecular orbital energies for the studied compounds are MPD: $E_{\text{LUMO}} = -0.043$ eV, $E_{\text{HOMO}} = -0.219$ eV; Pyr6: $E_{\text{LUMO}} = -0.087$ eV, $E_{\text{HOMO}} = -0.248$ eV; and Pyr07: $E_{\text{LUMO}} = -0.088$ eV, $E_{\text{HOMO}} = -0.248$ eV, respectively. Additionally, the gap values for the MPD, Pyr06, and Pyr07 were also found to be high, i.e., $\Delta E = 0.176$ eV, 0.160 eV, and 0.161 eV, as presented in Table 3. FMO energies and their gap are key parameters used to judge molecule stability. Therefore, the negative characteristics of LUMO and HOMO energies show that the molecules' energy is minimized. The HOMO-LUMO energy gap reveals the electronic structure, with a decrease indicating a more active molecule. As shown in Table 3, results

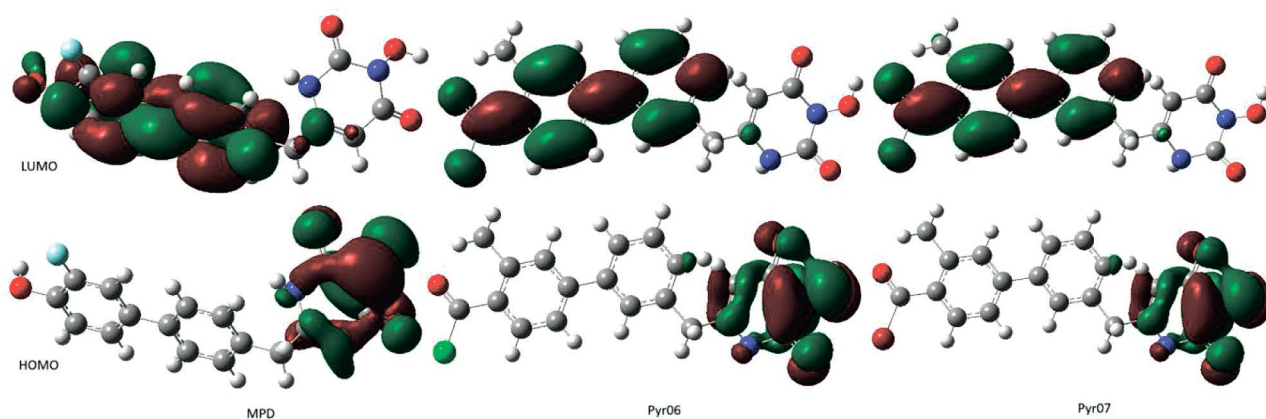


Figure 16. Contour plots of the E_{HOMO} and E_{LUMO} for the studied compounds MDB, Pyr06, and Pyr07

Table 3. The results of the DFT calculation of the quantum chemical parameters of the compounds MPD, Pyr06, and Pyr07

Cmpd	DM ^d	E ^e _{LUMO}	A ^e	E ^e _{HOMO}	I ^e	ΔE ^e	η ^e	χ ^e	ω ^e
MPD	6.124	-0.043	0.043	-0.219	0.219	0.176	0.088	0.131	0.098
Pyr06	6.186	-0.087	0.087	-0.248	0.248	0.161	0.081	0.168	0.174
Pyr07	6.891	-0.088	0.088	-0.248	0.248	0.160	0.080	0.168	0.176

Note. ^d MPD The values of the dipole moment in debye (D).

^e The values of the FMO energies and global reactivity indices in electronvolt (eV).

indicate that Pyr06 and Pyr07 exhibit less chemical reactivity and thus are more stable. The highest dipole moment from Pyr07, 6.891 D, is high, followed by Pyr06, 6.186 D, and MPD, 6.124 D. These results can mean that Pyr07 has the most polarity. Table 3 also shows the quantum chemical parameters acquired from FMOE, for instance, the mathematical formulas above, namely, electronegativity, electrophilicity, and hardness, which Pyr06 and Pyr07 have. Table 3 also demonstrates that the Pyr06 and Pyr07 electrode and electronegativity assessments are higher than those of MPD, indicating that they have the potential to attract or acquire electrons from other molecules. The results obtained by the DFT calculation of the electronic properties and reactivity indices are consistent with the outcomes of the structure-based computational methods employed in this study.

CONCLUSION

In summary, we successfully conducted structure-based computational evaluations on ten therapeutic compounds derived from pyrimidine-2,4-dione with enhanced antiviral activity and favorable ADMET properties, including molecular docking and dynamics simulations. Our molecular docking investigations indicated that the ten ligand-5J1E complexes possessed a higher negative binding affinity than the reference complex (-9.6 kcal/mol), except for the Pyr08-5J1E complex. These studies revealed that two compounds, Pyr06 and Pyr07, exhibited the most negative binding affinity, displaying -10.7 kcal/mol compared to the other ligands. The selected compounds strongly bind to the 5J1E receptor's active site, forming hydrogen bonds and engaging in hydrophobic contacts with crucial amino acid residues (LYS424, GLN507, PRO421, LEU503, LEU425, and LYS259). These interactions are vital for inhibiting the enzyme's activity. Moreover, the MD simulation showed that Pyr06 and Pyr07 were remarkably more stable when bound to the enzyme's active site. Finally, the results obtained from the FMO energies and associated reactivity parameters, using the DFT method, were consistent with the findings of the structure-based computational evaluations used in this research. Hence, our findings imply that the Pyr06 and Pyr07 compounds from pyrimidine-2,4-dione provide an essential structure-based pharmacophore that can be explored to design better drug agents for the HIV RT RNase H receptor.

REFERENCES

- Centers for Disease Control (CDC). Update: acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) – United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 1984;32(52):688–691.
- Takasawa A., Morimoto I., Wake A., Haratake J., Fujii K., Okada Y., Oda S., Hashimoto H., Eto S. Autopsy findings of Addison's disease caused by systemic cytomegalovirus infection in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Internal Medicine*. 1995;34(6):533–536. DOI: 10.2169/internalmedicine.34.533.
- Février M., Dorgham K., Rebollo A. CD4+ T cell depletion in human immunodeficiency virus (HIV) infection: role of apoptosis. *Viruses*. 2011;3(5):586–612. DOI: 10.3390/v3050586.
- Woodham A.W., Skeate J.G., Sanna A.M., Taylor J.R., Da Silva D.M., Cannon P.M., Kast W.M. Human immunodeficiency virus immune cell receptors, coreceptors, and cofactors: implications for prevention and treatment. *AIDS Patient Care and STDs*. 2016;30(7):291–306. DOI: 10.1089/apc.2016.0100.
- Singh A.K., Das K. Insights into HIV-1 reverse transcriptase (RT) inhibition and drug resistance from thirty years of structural studies. *Viruses*. 2022;14(5):1027. DOI: 10.3390/v14051027.
- Arts E.J., Hazuda D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012;2(4):a007161. DOI: 10.1101/cshperspect.a007161.
- Cihlar T., Fordyce M. Current status and prospects of HIV treatment. *Current Opinion in Virology*. 2016;18:50–56. DOI: 10.1016/j.coviro.2016.03.004.
- Wang L., Tang J., Huber A.D., Casey M.C., Kirby K.A., Wilson D.J., Kankanala J., Xie J., Parniak M.A., Sarafianos S.G., Wang Z. 6-Arylthio-3-hydroxypyrimidine-2,4-diones potently inhibited HIV reverse transcriptase-associated RNase H with antiviral activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2018;156:652–665. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.07.039.
- Chen A.Y., Adamek R.N., Dick B.L., Credille C.V., Morrison C.N., Cohen S.M. Targeting metalloenzymes for therapeutic intervention. *Chemical Reviews*. 2019;119(2):1323–1455. DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00201.
- Ilna T.V., Brosenitsch T., Sluis-Cremer N., Ishima R. Retroviral RNase H: structure, mechanism, and inhibition. In: Cameron C.E., Arnold J.J., editors. *The Enzymes. Viral Replication Enzymes and their Inhibitors Part B. Volume 50*. New York: Academic Press; 2021. P. 227–247. DOI: 10.1016/bs.enz.2021.07.007.
- Sluis-Cremer N. Retroviral reverse transcriptase: structure, function and inhibition. In: Cameron C.E., Arnold J.J., editors. *The Enzymes. Viral Replication Enzymes and their Inhibitors Part B. Volume 50*. New York: Academic Press; 2021. P. 179–194. DOI: 10.1016/bs.enz.2021.06.006.

12. Hu W.-S., Hughes S.H. HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012;2(10):a006882. DOI: 10.1101/cshperspect.a006882.
13. Julias J.G., McWilliams M.J., Sarafianos S.G., Arnold E., Hughes S.H. Mutations in the RNase H domain of HIV-1 reverse transcriptase affect the initiation of DNA synthesis and the specificity of RNase H cleavage *in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(14):9515–9520. DOI: 10.1073/pnas.142123199.
14. Gerbouin O., Grellet J. Virus de l'immunodéficience humaine: cycle viral et épidémiologie. *Actualités Pharmaceutiques*. 2017;56(564):1–2. DOI: 10.1016/j.actpha.2016.12.001.
15. Spence R.A., Kati W.M., Anderson K.S., Johnson K.A. Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by nonnucleoside inhibitors. *Science*. 1995;267(5200):988–993. DOI: 10.1126/science.7532321.
16. Hang J.Q., Li Y., Yang Y., Cammack N., Mirzadegan T., Klumpp K. Substrate-dependent inhibition or stimulation of HIV RNase H activity by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs). *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2007;352(2):341–350. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.11.018.
17. Cihlar T., Ray A.S. Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after zidovudine. *Antiviral Research*. 2010;85(1):39–58. DOI: 10.1016/j.antiviral.2009.09.014.
18. El Masaoudy Y., Tabti K., Koubi Y., Maghat H., Lakhliifi T., Bouachrine M. In silico design of new pyrimidine-2,4-dione derivatives as promising inhibitors for HIV reverse transcriptase-associated RNase H using 2D-QSAR modeling and (ADME/Tox) properties. *Moroccan Journal of Chemistry*. 2023;11(2):300–337. DOI: 10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v11i2.35455.
19. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997;23(1–3):3–25. DOI: 10.1016/S0169-409X(96)00423-1.
20. Pires D.E.V., Blundell T.L., Ascher D.B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;58(9):4066–4072. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00104.
21. Yang C., Chen E.A., Zhang Y. Protein–ligand docking in the machine-learning era. *Molecules*. 2022;27(14):4568. DOI: 10.3390/molecules27144568.
22. Kamal I.M., Chakrabarti S. MetaDOCK: a combinatorial molecular docking approach. *ACS Omega*. 2023;8(6):5850–5860. DOI: 10.1021/acsomega.2c07619.
23. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010;31(2):455–461. DOI: 10.1002/jcc.21334.
24. Wang L., Tang J., Huber A.D., Casey M.C., Kirby K.A., Wilson D.J., Kankanala J., Parniak M.A., Sarafianos S.G., Wang Z. 6-Biphenylmethyl-3-hydroxypyrimidine-2,4-diones potently and selectively inhibited HIV reverse transcriptase-associated RNase H. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2018;156:680–691. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.07.035.
25. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Bellew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. 2009;30(16):2785–2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
26. Desmond Molecular Dynamics System. D.E. Shaw Research. Maestro-Desmond Interoperability Tools. New York: Schrödinger; 2023.
27. El Masaoudy Y., Lakhliifi T., Maghat H., Bouachrine M. 4-Oxoquinoline Ribonucleosides as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors: A combination of DFT, QSAR Study, Docking Simulation, and ADMET Prediction. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*. 2025;21:12–31. DOI: 10.48419/IMIST.PRSM/rhazes-v21.55495.



Разработка состава лекарственной формы с помощью методологии поверхности отклика

О. А. Зырянов¹✉, Г. Э. Бркич¹, Н. В. Пятигорская¹, Б. Б. Сысуев², М. И. Лавров³, Р. Ф. Аббасов⁴

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 Автономная некоммерческая организация дополнительного профессионального образования «Евразийская академия надлежащих практик» (АНО «ЕАНП»). 119049, Россия, г. Москва, вн. тер. г. Муниципальный округ Якиманка, Ленинский пр-т, д. 9

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (МГУ имени М. В. Ломоносова). 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1

⁴ Министерство здравоохранения Азербайджанской Республики. Азербайджанская Республика, г. Баку, AZ1022, ул. академика Мирасадуллы Миргасымова, д. 1А

✉ Контактное лицо: Зырянов Олег Анатольевич. E-mail: zurianov2009@gmail.com

ORCID: О. А. Зырянов – <https://orcid.org/0000-0001-9038-8720>;

Г. Э. Бркич – <https://orcid.org/0000-0002-3469-9062>;

Н. В. Пятигорская – <https://orcid.org/0000-0003-4901-4625>;

Б. Б. Сысуев – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>;

М. И. Лавров – <https://orcid.org/0000-0002-9005-3223>;

Р. Ф. Аббасов – <https://orcid.org/0009-0008-0470-9355>.

Статья поступила: 29.05.2025

Статья принята в печать: 01.07.2025

Статья опубликована: 27.03.2026

Резюме

Введение. Матричные таблетки обладают большим потенциалом в качестве пероральной системы доставки лекарственного средства благодаря своей простоте, снижению риска системной токсичности и минимальной вероятности эффекта разделения дозы. Основываясь на дизайне экспериментов DoE, методология поверхности отклика охватывает генерацию полиномиальных уравнений и отклика в экспериментальной области для определения оптимального состава лекарственной формы. Традиционно разработчики подбирают оптимальные составы, изменяя одну переменную за раз, и этот метод отнимает много времени. Однако многие эксперименты не достигают своей цели, поскольку они не продуманы и не разработаны должным образом, и даже лучший анализ данных не может компенсировать отсутствие планирования. Поэтому важно понимать влияние переменных в составе фармацевтического продукта на качество, используя минимальное количество экспериментальных испытаний и переменных для разработки оптимизированного состава с помощью установленных статистических инструментов.

Цель. Разработка состава матричной таблетки модифицированного высвобождения на основе производного 3,6,9-триазатрициклотетрадекана с помощью методологии поверхности отклика

Материалы и методы. Объектом исследования является соединение – кандидат в лекарственное средство QM-25, производное 3,6,9-триазатрициклотетрадекана. Для разработки состава матричной таблетки на основе QM-25 применяли полный 2³-факторный эксперимент. Матричные таблетки были получены методом прямого прессования на ротационном прессе после надлежащего смешивания подходящих соотношений различных гидрофильных полимеров в качестве модификаторов высвобождения с другими вспомогательными веществами. С целью вычисления прочности на раздавливание приготовленных матричных таблеток использовался тестер твердости таблеток. Исследования высвобождения *in vitro* проводились на аппарате для растворения II «Лопастная мешалка» при 50 об/мин и температуре 37 ± 0,5 °C в две стадии для лекарственных препаратов 2 группы в соответствии с ОФС.1.4.2.0014 Государственной фармакопеи РФ XV издания. Полнота высвобождения состава через 2 ч 45 мин в % и твердость таблетки на раздавливание в Н были выбраны как отклики системы факторного плана. Для выбора оптимального состава и оценки влияния эффектов различных переменных на измеренные отклики было использовано уравнение математической модели, включающее независимые переменные и их взаимодействия для различных измеренных откликов, сгенерированных дизайном 2³. Аппроксимация данных и регрессионные параметры были вычислены с использованием встроенного модуля «Анализ данных» ПО Microsoft Excel. Для построения уравнения регрессии в ПО Microsoft Excel осуществлялось построение матрицы с помощью функции корреляции.

© Зырянов О. А., Бркич Г. Э., Пятигорская Н. В., Сысуев Б. Б., Лавров М. И., Аббасов Р. Ф., 2026

© Zyryanov O. A., Brkich G. E., Pyatigorskaya N. V., Sysuev B. B., Lavrov M. I., Abbasov R. F., 2026

Результаты и обсуждение. Представлен алгоритм методологии поверхности отклика на основе регрессионной модели. Каждый коэффициент отклика пространства проектных параметров изучался на предмет его статистической значимости. Были выделены факторы, имеющие значения в интервале $p < 0,05$. С помощью регрессионной модели были установлены коэффициенты регрессии основных факторов, оказывающих влияние на высвобождение и прочность на раздавливание в уравнении модели, были выведены уравнения зависимости факторов от откликов, парное влияние количества альгината натрия и карбомера 940 на единицу лекарственной формы. Влияние основных эффектов (факторов) на исследованные составы было проанализировано с помощью пространства проектных параметров с визуализацией в трехмерном пространстве. Для выбора оптимального состава с желаемыми откликами был применен метод численной оптимизации, основанный на подходе получения желаемых значений, что позволило осуществить выбор оптимальных значений содержания вспомогательных веществ на единицу модельного состава лекарственной формы.

Заключение. С помощью метода проектирования – построения пространства проектных параметров – было изучено влияние множества параметров состава матричной таблетки с помощью небольшого количества экспериментов. Математическая связь между факторами X и показателями отклика Y была установлена с помощью вычисленной модели регрессии для твердой лекарственной формы на основе производного 3,6,9-триазатрициклотетрадекана. Вычисленные факторные зависимости с помощью модели регрессии позволили установить оптимальный модельный состав твердой лекарственной формы с модифицированным высвобождением для дальнейших экспериментальных исследований, значения прочности на раздавливание которого находились в доверительном интервале, допустимом для таблеток с использованным диаметром пуансона, а результаты кинетики растворения демонстрировали характер поведения модифицированного высвобождения.

Ключевые слова: методология поверхности отклика, пространство проектных параметров, производное 3,6,9-триазатрициклотетрадекана, фармацевтическая разработка

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

Вклад авторов. О. А. Зырянов – сбор, анализ и обобщение данных, вклад в концепцию, редактирование текста рукописи. Г. Э. Бркич – разработка концепции, написание и редактирование текста рукописи. Н. В. Пятигорская – утверждение окончательного варианта статьи для публикации. Б. Б. Сысуйев – критический пересмотр текста. М. И. Лавров – подготовка и редактирование текста рукописи. Р. Ф. Аббасов – проведение экспериментальных исследований. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Зырянов О. А., Бркич Г. Э., Пятигорская Н. В., Сысуйев Б. Б., Лавров М. И., Аббасов Р. Ф. Разработка состава лекарственной формы с помощью методологии поверхности отклика. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):58–70. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2108>

Development of dosage form composition using response surface methodology

Oleg A. Zyryanov¹✉, Galina E. Brkich¹, Natalia V. Pyatigorskaya¹, Boris B. Sysuev²,
Mstislav I. Lavrov³, Ramil F. Abbasov⁴

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 Autonomous non-profit organization "Eurasian Academy of Good Practices". 9, Leninsky prospekt, vet. g. Yakimanka Municipal District, Moscow, 119049, Russia

³ Lomonosov Moscow State University. 1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia

⁴ Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan. 1A, Akademika Mirasadulla Mirgasymova str., AZ1022, Baku, Republic of Azerbaijan

✉ **Corresponding author:** Oleg A. Zyryanov. **E-mail:** zurianov2009@gmail.com

ORCID: Oleg A. Zyryanov – <https://orcid.org/0000-0001-9038-8720>;

Galina E. Brkich – <https://orcid.org/0000-0002-3469-9062>;

Natalia V. Pyatigorskaya – <https://orcid.org/0000-0003-4901-4625>;

Boris B. Sysuev – <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>;

Mstislav I. Lavrov – <https://orcid.org/0000-0002-9005-3223>;

Ramil F. Abbasov – <https://orcid.org/0009-0008-0470-9355>.

Received: 29.05.2025

Accepted: 01.07.2025

Published: 27.03.2026

Abstract

Introduction. Matrix tablets have great potential as an oral drug delivery system due to their simplicity, reduced risk of systemic toxicity and minimal likelihood of dose splitting effects. Based on the DoE design of experiments, the response surface methodology involves generating polynomial equations and response in the experimental domain to determine the optimal formulation of a dosage form. Traditionally, developers select optimal formulations by changing one variable at a time, which is

a time-consuming method. However, many experiments fail to achieve their goal because they are not thought out and designed properly, and even the best data analysis cannot compensate for the lack of planning. Therefore, it is important to understand the impact of variables in a pharmaceutical product formulation on quality using a minimum number of experimental trials and variables to develop an optimized formulation using established statistical tools.

Aim. Development of a modified release matrix tablet formulation based on 3,6,9-triazatricyclotetradecane derivative using response surface methodology.

Materials and methods. The object of the study is the drug candidate compound QM-25, a derivative of 3,6,9-triazatricyclotetradecane. A 2^3 full factorial experiment was used to develop the composition of the matrix tablet based on QM-25. The matrix tablets were obtained by direct compression on a rotary press after proper mixing of suitable ratios of various hydrophilic polymers as release modifiers with other excipients. A tablet hardness tester was used to measure the crushing strength of the prepared matrix tablets. The *in vitro* release studies were carried out on a dissolution apparatus II "Paddle mixer", at 50 rpm and a temperature of 37 ± 0.5 °C in two stages for drugs of group 2 in accordance with OFS.1.4.2.0014. The completeness of the formulation release after 2 hours 45 minutes in % and the tablet crushing strength in N were selected as the responses of the factorial design system. To select the optimal formulation and to evaluate the influence of the effects of different variables on the measured responses, a mathematical model equation was used, including independent variables and their interactions for the different measured responses generated by the design 2^3 . Data approximation and regression parameters were calculated using the built-in Data Analysis module of Microsoft Excel. To construct the regression equation in Microsoft Excel, a matrix was constructed using the correlation function.

Results and discussion. The algorithm of the response surface methodology based on the regression model is presented. Each response coefficient of the design parameter space was studied for its statistical significance. Factors with values in the interval $p < 0.05$ were identified. Using the regression model, regression coefficients of the main factors affecting release and crushing strength were established in the model equation, equations for the dependence of factors on responses, and the paired effect of the amount of sodium alginate and carbomer 940 per unit of the dosage form were derived. The influence of the main effects (factors) on the studied formulations was analyzed using the design parameter space with visualization in three-dimensional space. To select the optimal composition with the desired responses, a numerical optimization method was used based on the approach to obtaining the desired values, which made it possible to select the optimal values of the content of excipients per unit of the model composition of the dosage form.

Conclusion. Using the design method – construction of the design parameter space, the influence of many parameters of the matrix tablet composition was studied using a small number of experiments. The mathematical relationship between the X factors and the Y response indices was established using the calculated regression model for the solid dosage form based on the 3,6,9-triazatricyclotetradecane derivative. The calculated factor dependencies using the regression model allowed us to establish the optimal model composition of the solid dosage form with modified release for further experimental studies, the crushing strength values of which were in the confidence interval acceptable for tablets with the used punch diameter, and the dissolution kinetics results demonstrated the nature of the modified release behavior.

Keywords: response surface methodology, design parameter space, 3,6,9-triazatricyclotetradecane derivative, pharmaceutical development

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. Oleg A. Zyryanov – collection, analysis and generalization of data, contribution to the concept, editing the text of the manuscript. Galina E. Brkich – concept development, writing and editing of the manuscript. Natalia V. Pyatigorskaya – approval of the final version of the article for publication. Boris B. Sysuev – critical revision of the text. Mstislav I. Lavrov – preparation and editing of the manuscript. Ramil F. Abbasov – conducting experimental studies. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Zyryanov O. A., Brkich G. E., Pyatigorskaya N. V., Sysuev B. B., Lavrov M. I., Abbasov R. F. Development of dosage form composition using response surface methodology. *Drug development & registration*. 2026;15(2):58–70. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2108>

ВВЕДЕНИЕ

При разработке любого фармацевтического продукта, в том числе такого как матричная таблетка с модифицированным высвобождением, важным аспектом является выбор состава с необходимым качеством за короткий период времени, с минимальным количеством экспериментальных исследований.

Матричные таблетки обладают большим потенциалом в качестве пероральной системы доставки лекарственного средства (ЛС) благодаря своей простоте, снижению риска системной токсичности и минимальной вероятности эффекта разделения дозы [1, 2]. Они исключают сложные производственные процедуры, такие как гранулирование во время производства, а скорость высвобождения ЛС контролируется

ется в основном типом и пропорцией полимера, используемого в составе [3, 4]. Гидрофильные матрицы, как правило, получают из гидрогелей, которые обладают способностью поглощать воду и набухать, образуя гелеобразную структуру [5]. Набухший гель действует как резервуар, который медленно высвобождает активную фармацевтическую субстанцию (АФС), уже диспергированную в гидрогелевых матрицах.

С течением лет использование комбинаций полимеров в качестве смесей для увеличения скорости высвобождения АФС стало более популярным, что может позволить разработчикам создавать лекарственные формы с замедленным высвобождением, которые могут показывать улучшение характера поведения по сравнению с отдельными полимерными компонентами [2, 6]. Лекарственные формы с модифицированным высвобождением имеют много преимуществ, включая увеличение продолжительности терапевтического эффекта, снижение токсичности, которая возникает из-за высокого пика концентрации в плазме, а также минимизацию колебаний концентрации в системном кровотоке [7].

Составы с контролируемым высвобождением имеют значительное преимущество перед прямым высвобождением для лечения психических расстройств. Контролируемое высвобождение способно обеспечить отсутствие колебаний концентрации действующих веществ в плазме крови в течение приема, что особенно важно в терапии долгосрочных психических расстройств [8, 9].

Методология поверхности отклика используется для проектирования и оптимизации различных составов, при этом требует небольшого числа экспериментов [10, 11]. Она менее трудоемка и более экономически эффективна, чем традиционные методы разработки лекарственных форм. Основываясь на дизайне экспериментов, методология поверхности отклика охватывает генерацию полиномиальных уравнений и отклика в экспериментальной области для определения оптимальной формулы состава [7]. Традиционно разработчики подбирают различные составы, изменяя одну переменную за раз, и этот метод отнимает много времени. Однако многие эксперименты не достигают своей цели, поскольку они не продуманы и не разработаны должным образом, и даже лучший анализ данных не может компенсировать отсутствие планирования [8, 12]. Поэтому важно понимать влияние переменных в составе фармацевтического продукта на качество, используя минимальное количество экспериментальных испытаний и переменных для разработки оптимизированного состава с помощью установленных статистических инструментов.

Целью исследования являлась разработка состава матричной таблетки модифицированного высвобождения на основе производного 3,6,9-триазатрициклотетрадекана с помощью методологии поверхности отклика.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для разработки состава матричной таблетки с модифицированным высвобождением было использовано соединение – кандидат в лекарственное средство QM-25 [13], структурная формула которого представлена на рисунке 1. Первичные, предварительно установленные данные соединения-кандидата QM-25 представлены в таблице 1¹.

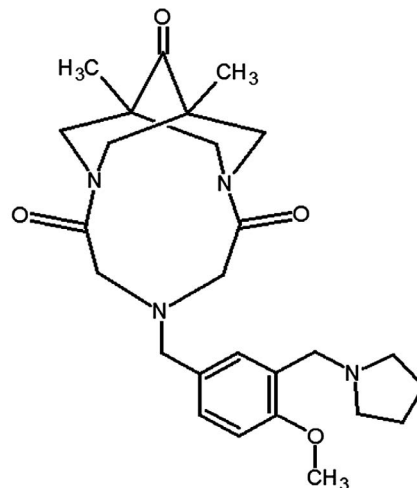


Рисунок 1. Структурная формула соединения-кандидата QM-25

Figure 1. Structural formula of candidate compound QM-25

Потенциальное соединение-кандидат QM-25 демонстрировало быструю элиминацию, при этом анализе структуры не наблюдалось нарушений правила Липински, количество вращающихся связей – 5, число кольцевых связей – 4, отсутствуют участки в структуре вероятных пресистемных превращений. Необходимость в снижении колебаний терапевтической концентрации в плазме крови, медленное и постоянное высвобождение соединения-кандидата QM-25 из ЛС послужили основой выбора в качестве объекта разработки полимерной композиции матричной таблетки с модифицированным высвобождением, которая растворяется в течение более длительного периода времени в ЖКТ. Экспериментальная эффективная доза для человека на единицу лекарственной формы составляла 5 мг.

Для разработки состава матричной таблетки на основе QM-25 применяли 2³-факторный дизайн. Количество каждого из гидрофильных полимеров в по-

¹ Запольский М. Э., Морозова М. А., Бенишвили А. Г., Лавров М. И., Строганов О. В. Производное 3,6,9-триазатрициклотетрадекана и его применение для лечения депрессии. Патент РФ на изобретение № 2700595 С1. 30.07.2019. № 2019124095. Доступно по: https://www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUPAT&rn=2&DocNumber=2700595&TypeFile=html. Ссылка активна на 29.06.2025.

Таблица 1. Предварительно установленные данные соединения – кандидата в ЛС QM-25

Table 1. Preliminary data on the drug candidate compound QM-25

Шифр Cipher	ИЮПАК IUPAC	Биологическая мишень Biological target	Период полувыведения $T_{1/2}$, мин Elimination half-life $T_{1/2}$, min		
			Человек Human	Крыса Rat	Мышь Mouse
QM-25	6-[4-метокси-3-(пирролидин-1-илметил)бензил]-1,11-диметил-3,6,9-триазатрицикло[7.3.1.13,11]тетрадекан-4,8,12-трион 6-[4-methoxy-3-(pyrrolidin-1-ylmethyl)benzyl]-1,11-dimethyl-3,6,9-triazatricyclo[7.3.1.13,11]tetradecane-4,8,12-trione	Модулятор киназных / AMPA-рецепторов гиппокампа ЦНС Modulator of kainate / AMPA receptors of the hippocampus of the central nervous system	138,09	322,66	251,95

лимерной смеси, а именно альгината натрия (Фактор А) («АМК-Групп», Россия), гидроксипропилметилцеллюлозы (Фактор Б) (Kingmax Cellulose Co., Ltd., Китай) и карбомера 940 (Фактор С) (Newgreen Herb Co., Ltd., Китай), было выбрано в качестве основных переменных факторов, которые варьировались на двух уровнях кодов (низком «-1» и высоком «+1»). Все вспомогательные вещества, используемые в экспериментальных исследованиях, соответствовали рекомендациям и требованиям, включенным в справочник вспомогательных веществ, используемых при производстве лекарственных средств¹.

Содержание лактозы моногидрата (АО «База № 1 Химреактивов», Россия), микрокристаллической целлюлозы 101 (MingTai Chemical Co., LTD., Тайвань), стеарата магния («АМК-Групп», Россия) не использовались в методологии поверхности отклика в связи с их одинаковым содержанием в каждом составе (таблица 2).

Таблица 2. Содержание вспомогательных веществ, не используемых в методологии поверхности отклика

Table 2. Contents of excipients not used in the response surface methodology

№	Компонент Component	Содержание на единицу лекарственной формы, мг Content per 1 dosage form, mg
1	Лактозы моногидрат Lactose monohydrate	70,00
2	Микрокристаллическая целлюлоза 101 Microcrystalline cellulose 101	20,00
3	Стеарат магния Magnesium stearate	3,00

¹ Совет Евразийской экономической комиссии от 11.06.2019 «О справочнике вспомогательных веществ, используемых при производстве лекарственных средств». Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_326845/92d3e3d03094ed76da5c15fa72b687f1cebd5931/ Ссылка активна на 29.06.2025.

Различные составы матричных таблеток были подготовлены в соответствии с испытанием 2³-факторного дизайна методологии поверхности отклика.

Каждой комбинации состава был присвоен уникальный код для идентификации. Матричные таблетки были получены методом прямого прессования на ротационном прессе Fast Tab 3000 (Италия) после надлежащего смешивания подходящих соотношений различных гидрофильных полимеров в качестве модификаторов высвобождения с другими вспомогательными веществами. QM-25, полимеры и другие вспомогательные вещества сначала пропускали через сито с размером отверстий 100 мкм на лабораторном Cisa RP 200N (Китай), затем равномерно смешивали и спрессовывали на однопуансонном таблеточном прессе с использованием круглых и плоских пуансонов без риски 6 мм, давление прессования 250 МПа.

Все экспериментальные исследования были проведены в соответствии с требованиями и рекомендациями Государственной фармакопеи РФ² и ФЕАЭС³. Полнота высвобождения состава через 2 ч 45 мин в % и твердость таблетки на раздавливание в Н были выбраны как отклики системы факторного плана. Экспериментальные исследования проводились на 12 единицах каждого модельного состава.

С целью вычисления прочности на раздавливание приготовленных матричных таблеток использовался тестер твердости таблеток ЕНТ-5PR Electrolab (Индия).

Исследование высвобождения QM-25 *in vitro* проводилось на аппарате для растворения II «Лопастная мешалка» (Electrolab, Индия) при скорости 50 об/мин и температуре 37 ± 0,5 °С в две стадии для лекарственных препаратов 2 группы в соответствии

² Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> Ссылка активна на 29.06.2025.

³ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 25 октября 2022 г. № 150 «О внесении изменений в Фармакопею Евразийского экономического союза». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/352073417>. Ссылка активна на 29.06.2025.

с ОФС.1.4.2.0014 (Методика 1). В качестве среды растворения использовались 750 мл 0,1 М НСl (рН = 1,2 ± 0,1) (стандарт-титр ОАО «Уральский завод химических реактивов») в течение первых 2 ч, а затем среда с рН = 6,8 ± 0,1 в течение следующих 45 мин с добавлением натрия фосфата (ОАО «Уральский завод химических реактивов», Россия). Среда была предварительно деаэрирована. Аликвоты объемом 5 мл отбирались из сосуда для растворения через определенные промежутки времени и заменялись эквивалентным объемом свежей среды. Собранные образцы растворения фильтровались с использованием фильтровальной бумаги и затем использовались для определения количественного содержания с помощью ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. Условия проведения представлены в таблице 3.

Таблица 3. Условия хроматографического определения

Table 3. Conditions for chromatographic determination

Параметр Parameter	Значение Value
Колонка Column	Waters Symmetry C8, 150 × 3,9 мм, 5 мкм, или аналогичная Waters Symmetry C8, 150 × 3.9 mm, 5 μm or equivalent
Подвижная фаза А Mobile phase A	Фосфатный буферный раствор : ацетонитрил, 17:3 Phosphate buffer solution : acetonitrile, 17:3
Подвижная фаза Б Mobile phase B	Ацетонитрил Acetonitrile
Температура колонки Column temperature	15–25 °C
Скорость потока Flow rate	1,0 мл/мин 1.0 mL/min
Детектор Detector	УФ, 250 нм UV, 250 nm
Объем вводимой пробы Injection volume	10 мкл 10 μL
Время хроматографирования Chromatography time	15 мин (10 мин анализ + 5 мин уравнивание) 15 min (10 min analysis + 5 min equilibration)

Для выбора оптимального состава и оценки влияния эффектов различных переменных на измеренные отклики было использовано математическое уравнение модели, включающее независимые переменные и их взаимодействия для различных измеренных откликов, сгенерированных 2³-факторным дизайном, следующим образом:

$$YY'' = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i X_i + \sum_{i=1}^n b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n b_{ij} X_i X_j,$$

где b_0 – постоянный параметр (посторонний шум системы, значение которого можно взять за 0); n –

количество факторов; b_i , b_{ii} и b_{ij} – коэффициенты регрессии первого, квадратичного и взаимодействующего членов соответственно; X_i и X_j – значение фактора (объясняющие ряды).

Аппроксимация данных и регрессионные параметры были вычислены с использованием встроенного модуля «Анализ данных» программного обеспечения (ПО) Microsoft Excel. Для построения уравнения регрессии в ПО Microsoft Excel осуществлялось построение матрицы с помощью функции корреляции.

В экспериментальных исследованиях использовалось верифицированное и квалифицированное оборудование.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего было предложено 8 составов матричных таблеток модифицированного высвобождения на основе соединения-кандидата QM-25 с помощью 2³-факторного дизайна для трех независимых переменных: количества альгината натрия (Фактор А, мг), количества гидроксипропилметилцеллюлозы (Фактор Б, мг), количества карбомера 940 (Фактор С, мг), которые варьировались на двух разных уровнях (высоком и низком). Влияние этих независимых переменных на кумулятивное высвобождение лекарственного средства через 2 ч 45 мин в % и прочность на раздавливание в Н были исследованы в качестве параметров отклика оптимизации и выбора оптимального состава. Значения прочности на раздавливание находились в доверительном интервале, допустимом для таблеток с данным диаметром¹. Результаты кинетики растворения для всех модельных составов матричных таблеток были просуммированы для кислотной и буферной стадии растворения. Результаты 12 повторностей для каждого экспериментального исследования были статистически аппроксимированы. Результаты представлены в таблице 4.

Для описания математической взаимосвязи между факторами и показателями отклика были вычислены описательные статистические величины: минимальное, среднее и максимальное значения в ряду, среднее квадратичное отклонение, медиана, асимметрия распределения относительного среднего значения. В таблице 5 представлены рассчитанные значения для каждого отклика.

В таблице 6 и 7 представлены рассчитанные коэффициенты корреляции в матрице, которая показывает некоторое значение на пересечении столбцов в ячейке, отражающее силу зависимости между факторными переменными. Матрица имеет симметричный вид, для удобства применено цветное форматирование.

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> Ссылка активна на 29.06.2025.

Таблица 4. Факторные конструкции типа 2³ и их наблюдаемые значения откликов
Table 4. Factorial designs of type 2³ and their observed response values

Код состава Composition code	Альгинат натрия, мг Sodium alginate, mg	Код эффекта Effect code	Гидроксипропилметилцеллюлоза, мг Hydroxypropyl methylcellulose, mg	Код эффекта Effect code	Карбомер 940, мг Carbomer 940, mg	Код эффекта Effect code	Отклик Response	
	Фактор А Factor A		Фактор Б Factor B		Фактор С Factor C		% высвобождения, ± RSD %, release, ± RSD	Прочность на раздавливание, Н, ± RSD Crushing strength, N, ± RSD
QM-1	15,00	−1	0,00	−1	0,00	−1	74,65 ± 1,34	31,28 ± 0,34
QM-2	30,00	+1	20,00	+1	20,00	+1	48,50 ± 1,35	44,12 ± 0,25
QM-3	30,00	+1	0,00	−1	0,00	−1	65,09 ± 1,33	34,51 ± 0,14
QM-4	30,00	+1	20,00	+1	0,00	−1	55,40 ± 1,27	37,65 ± 0,08
QM-5	15,00	−1	20,00	+1	20,00	+1	50,30 ± 1,23	40,20 ± 0,23
QM-6	15,00	−1	0,00	−1	20,00	+1	73,44 ± 1,15	38,24 ± 0,14
QM-7	30,00	+1	0,00	−1	20,00	+1	58,23 ± 1,19	38,57 ± 0,11
QM-8	15,00	−1	20,00	+1	0,00	−1	59,46 ± 1,18	33,44 ± 0,12

Таблиц 5. Рассчитанные значения статистических величин для каждого отклика
Table 5. Calculated values of statistical quantities for each response

Статистическая величина Statistical value	Фактор А Factor A	Фактор Б Factor B	Фактор С Factor C	Высвобождение, % Release, %	Прочность на раздавливание, Н Crushing strength, N
Минимальное значение Minimum value	15,00	0,00	0,00	48,50	31,28
Максимальное значение Maximum value	30,00	20,00	20,00	74,65	44,12
Среднее значение Mean value	22,50	10,00	10,00	59,38	37,25
Медиана Median	22,50	10,00	10,00	58,85	37,95
Среднее квадратичное отклонение Standard deviation	8,0178	10,6904	10,6904	8,4537	4,0786
Асимметрия распределения относительного среднего значения Asymmetry of distribution of relative mean value	0,0000	0,0000	0,0000	0,5382	0,1801
Число интервалов Number of intervals	28,13	20,00	20,00	68,59	40,21

Таблица 6. Корреляционная матрица для отклика «Высвобождение, %»

Table 6. Correlation matrix for the response «Release, %»

	Фактор А Factor A	Фактор Б Factor B	Фактор С Factor C	Высвобождение, % Release, %
Фактор А Factor A	1,0000	0,0148	0,0110	–0,6025
Фактор Б Factor B	0,0148	1,0000	0,0025	–0,9561
Фактор С Factor C	0,0110	0,0025	1,0000	–0,6996
Высвобождение, % Release, %	–0,6025	–0,9561	–0,6996	1,0000

Таблица 7. Корреляционная матрица для отклика «Прочность на раздавливание, Н»

Table 7. Correlation matrix for the response «Crushing strength, N»

	Фактор А Factor A	Фактор Б Factor B	Фактор С Factor C	Прочность на раздавливание, Н Crushing strength, N
Фактор А Factor A	1,0000	0,0076	–0,0053	0,1718
Фактор Б Factor B	0,0076	1,0000	0,0027	–0,0388
Фактор С Factor C	–0,0053	0,0027	1,0000	0,3951
Прочность на раздавливание, Н Crushing strength, N	0,1718	–0,0388	0,3951	1,0000

Матрица корреляции не имеет смысла для модели нелинейной регрессии, поскольку она показывает только силу линейной зависимости. Рассмотрим интерпретацию полученных значений, приведенных в таблицах 6, 7. При значении коэффициента корреляции, стремящемся к 1, прослеживается сильная линейная связь, в то время как при его значении, стремящемся к –1, прослеживается сильная обратная связь переменных. Из представленных в таблице значений можно увидеть, что между факторами существует корреляционная связь. В частности, между факторными переменными Б и С сформирована сильная обратная корреляционная связь в ответ на отклик «Высвобождение, %» (минимальное значение имела корреляционная связь переменной А относительно Б и С), в то время как между этими же факторами существует линейная корреляционная связь

в ответ на отклик «Прочность на раздавливание, Н». Сильнее всех сила связи у фактора С, имеющая значение 0,3951, и обратная связь у фактора С со значением –0,0388.

Сильная обратная корреляционная связь показывает, что значения точек находятся в практически идентичном диапазоне, и при отсутствии массива значений одной из этих факторных переменных можно предсказать значения другой (при уменьшении значений одной факторной переменной увеличиваются значения другой по определенной функции).

Данный пример демонстрирует эффект мультиколлинеарности, в нашем случае это означает, что выбор для дальнейшего построения пространства проектных параметров следует сделать в пользу одной из этих факторных переменных и использовать для расчетных данных только один фактор из этой пары.

Проанализируем значения в столбце «Высвобождение, %» и «Прочность на раздавливание, Н», которые отражают, насколько сильно оказывает влияние каждая факторная переменная на отклик. Так, факторная переменная А из представленных значений для прочности на раздавливание имеет более низкое значение по сравнению с остальными, что говорит о ее слабом влиянии на отклик. Из дальнейших расчетных данных для отклика выбора оптимального состава по показателю «Прочность на раздавливание, Н» эту факторную переменную следует исключить.

Отметим, что наблюдается влияние парных комбинаций факторов АБ, АС и ВС на систему отклика «Прочность на раздавливание, Н» и «Высвобождение, %». Для идентификации оказываемого воздействия на систему было необходимо понять, влияние на функцию отклика оказывают сами факторные переменные или их парные комбинации. Для этого были рассчитаны значения парных влияний с помощью произведения факторных переменных друг на друга путем умножения значений одной факторной переменной на соответствующую как в кодированных, так и натуральных величинах. Результаты регрессионного анализа представлены в таблицах 7, 8.

Каждый коэффициент отклика изучался на предмет его статистической значимости. Были выделены факторы, имеющие значения в интервале <0,05 (выделены зеленым цветом). Р-значения факторных переменных, находящиеся в интервале >0,05, были исключены из эксперимента, что связано с высоким риском дальнейшей ошибки.

Результаты регрессионного анализа свидетельствовали, что существенное влияние на высвобождение QM-25 из состава матрицы оказывают фактор Б и его парное влияние АБ (Р-значение <0,05), в то время как на показатель прочности на раздавливание сильнее всего оказывало влияние парное сочетание факторов АБ и ВС.

Таблица 7. Результаты регрессионного анализа влияния факторов на «Высвобождение, %»
Table 7. Results of regression analysis of the influence of factors on «Release, %»

Регрессионная статистика Regression statistics									
Множественный R Multiple R								0,999454112	
R-квадрат R-square								0,998908522	
Нормированный R-квадрат Adjusted R-square								0,992359654	
Стандартная ошибка Standard Error								0,738926586	
Наблюдения Observations								8	
Дисперсионный анализ Analysis of variance									
	df	SS	MS	F	Значимость F Significance of F				
Регрессия Regression	6	499,7046	83,28409583	152,531482	0,061900297				
Остаток Residual	1	0,546012	0,5460125						
Итого Total	7	500,2506							
	Коэффициенты Coefficients	Стандартная ошибка Standard Error	t-статистика t-statistic	P-значение P-value	Нижние 95 % Lower 95 %	Верхние 95 % Upper 95 %	Нижние 95,0 % Lower 95.0 %	Верхние 95,0 % Upper 95 %	
Отклик Response	83,42625	1,454578	57,35424623	0,01109866	64,94407854	101,9084215	64,94407854	101,9084215	
Фактор А Factor A	-0,6025	0,060333	-9,986225948	0,073537974	-1,369104761	0,164104761	-1,3691047	0,164104761	
Фактор Б Factor B	-0,9561	0,086647	-11,03473816	0,037535172	-2,057077268	0,144827268	-2,057077	0,144827268	
Фактор С Factor C	-0,6996	0,086647	-8,074444955	0,078444343	-1,800577268	0,401327268	-1,8005772	0,401327268	
Парное влияние АБ Paired influence AB	0,0148	0,003483	4,263157895	0,014667875	-0,029409946	0,059109946	-0,0294099	0,059109946	
Парное влияние АС Paired influence AC	0,0110	0,003483	3,162679426	0,19495898	-0,03324328	0,055276613	-0,03324328	0,055276613	
Парное влияние ВС Paired influence BC	0,0025	0,002612	0,961722488	0,512420273	-0,03068246	0,03570746	-0,03068246	0,03570746	

Таблица 8. Результаты регрессионного анализа влияния факторов на «Прочность на раздавливание, Н»
Table 8. Results of regression analysis of the influence of factors on «Crushing strength, N»

Регрессионная статистика Regression statistics									
Множественный R Multiple R								0,996337052	
R-квадрат R-square								0,992687521	
Нормированный R-квадрат Adjusted R-square								0,948812647	
Стандартная ошибка Standard Error								0,922774349	
Наблюдения Observations								8	
Дисперсионный анализ Analysis of variance									
	df	SS	MS	F	Значимость F Significance of F				
Регрессия Regression	6	115,594975	19,26582917	22,6254214	0,159557014				
Остаток Residual	1	0,8515125	0,8515125						
Итого Total	7	116,4464875							
	Коэффициенты Coefficients	Стандартная ошибка Standard Error	t-статистика t-statistic	P-значение P-value	Нижние 95 % Lower 95 %	Верхние 95 % Upper 95 %	Нижние 95,0 % Lower 95.0 %	Верхние 95,0 % Upper 95 %	
Отклик Response	39,02875	1,816483123	15,98074302	0,03978480	5,948143535	52,1093564	5,94814353	52,1093564	
Фактор А Factor A	0,171833333	0,07534421	2,280644167	0,26306816	-0,78550562	1,12917229	-0,7855056	1,12917229	
Фактор Б Factor B	-0,038875	0,108204884	-0,359272139	0,78042278	-1,41374840	1,33599840	-1,4137484	1,33599840	
Фактор С Factor C	0,395125	0,108204884	3,651637395	0,17016625	-0,97974840	1,76999840	-0,9797484	1,76999840	
Парное влияние АБ Paired influence AB	0,007616667	0,00435	1,750957854	0,03303486	-0,04765532	0,06288865	-0,0476553	0,06288865	
Парное влияние АС Paired influence AC	-0,005316667	0,00435	-1,222222222	0,43654896	-0,06058865	0,04995532	-0,0605886	0,04995532	
Парное влияние ВС Paired influence BC	0,0027625	0,0032625	0,846743295	0,05527107	-0,03869149	0,04421649	-0,0386914	0,04421649	

Таким образом, подставив коэффициенты регрессии основных факторов, оказывающих влияние на высвобождение и прочность на раздавливание в уравнение модели, получим уравнения зависимости факторов от откликов:

Прочность на раздавливание (Н) =
 $29,0287 + 0,0076 \cdot AB + 0,0027 \cdot BC$;
Высвобождение (%) =
 $83,4262 - 0,9561 \cdot B + 0,0148 \cdot AB$.

Влияние основных эффектов (факторов) на исследованные составы было выявлено с помощью методологии поверхности отклика [14]. Трехмерные графики поверхности отклика и соответствующие им контурные и графики для оценки влияния независимых переменных (факторов) на каждый исследованный ответ (отклик) представлены на рисунках 2 и 3. По осям абсцисс указаны кодированные величины как одиночного влияния фактора Б, так и парного веса каждого фактора АВ и ВС, которые оказывают существенное влияние на высвобождение и прочность на раздавливание таблетки.

Для выбора оптимального состава с желаемыми откликами был принят метод численной оптимизации, основанный на подходе получения желаемых значений. Выбранные оптимальные значения содержания, используемые для разработки матричных таблеток на основе QM-25, формируют следующие неравенства в кодированных величинах:

Значение фактора Б < -0,5.
 $-1 \leq \text{Парное влияние факторов АВ} \leq 1$.
 $-0,4 \leq \text{Парное влияние факторов ВС} \leq 1$.

Для выполнения данных неравенств путем пересчета кодированных величин факторов для дальнейших исследований был выбран модельный состав лекарственной формы с кодом QM-6, который представлен в таблице 9.

Таблица 9. Предварительный состав лекарственной формы на основе QM-25

Table 9. Preliminary composition of the dosage form based on QM-25

№ п/п № Item	Компонент Component	Содержание, мг Content, mg
1	QM-25	5,00
2	Альгинат натрия Sodium alginate	15,00
3	Карбомер 940 Carbomer 940	20,00
4	Лактозы моногидрат Lactose monohydrate	70,00
5	Микрокристаллическая целлюлоза 101 Microcrystalline cellulose 101	20,00
6	Стеарат магния Magnesium stearate	3,00
Итого, мг Total, mg		133,00

Вследствие взаимодействия переменных факторов, действительно, эффекты индивидуальных факторов до некоторой степени могут утрачивать свою интерпретируемость. Приведенные данные представляют собой усредненную величину, связанную

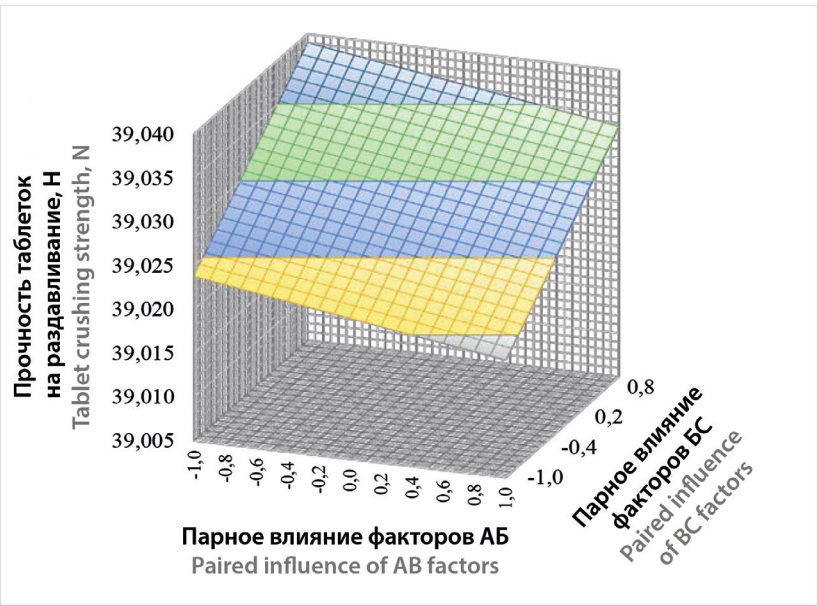


Рисунок 2. Влияние факторов АВ и ВС на прочность таблеток на раздавливание

Figure 2. Influence of factors AB and BC on tablet crushing strength

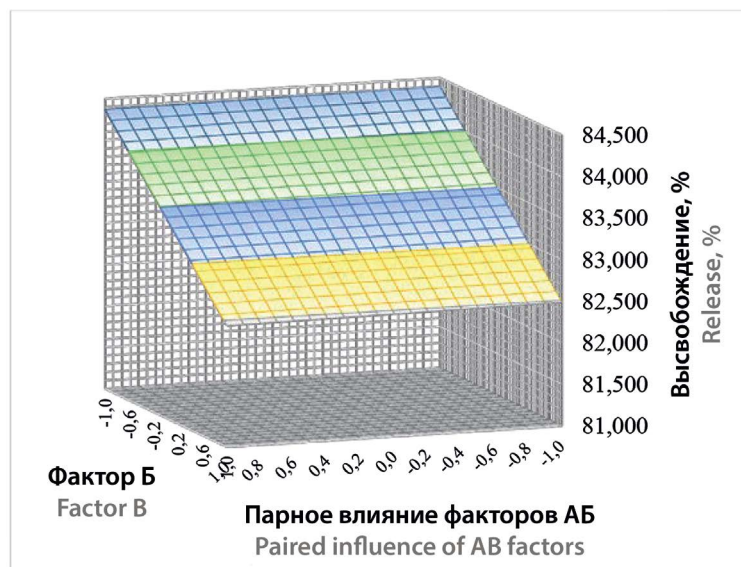


Рисунок 3. Влияние факторов АБ и Б на высвобождение

Figure 3. Influence of factors AB and B on the release

со всеми факторами, и, соответственно, нивелируют значительный совместный эффект воздействия переменных.

Если отношение сигнал/шум велико, это указывает на то, что фактор оказывает влияние на определенную вариабельность отклика в границах области экспериментирования и его следует включить в модель процесса. Если отношение невелико, то влияние фактора признается незначительным и его исключают из модели. Все статистические данные, включенные в модель, необходимо тестировать по значению p .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью метода проектирования – построения пространства проектных параметров – было изучено влияние множества параметров состава матричной таблетки с помощью небольшого количества экспериментов. Были установлены факторы состава матричной таблетки, которые вносят существенный вклад в высвобождение действующих веществ и прочность на раздавливание: парное влияние количества альгината натрия и карбомера 940 на единицу лекарственной формы. Математическая связь между показателями и факторами отклика была установлена с помощью вычисленной модели регрессии для твердой лекарственной формы на основе производного 3,6,9-триазатрициклотетрадекана. Вычисленные факторные зависимости с помощью модели регрессии позволили установить оптимальный модельный состав твердой лекарственной формы с модифицированным высвобождением для дальнейших экспериментальных исследований, значения прочности на раздавливание которого находились в доверитель-

ном интервале, допустимом для таблеток с использованным диаметром пуансона, а результаты кинетики растворения демонстрировали характер поведения модифицированного высвобождения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Uner M. Design of hydralazine hydrochloridematrix tablets based on various polymers and lipids. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2012;46:75–87.
2. Moin A., Shivakumar H. G. Formulation of sustained-release diltiazem matrix tablets using hydrophilic gum blends. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2010;9(3):283–291.
3. Mandal U., Gowda V., Ghosh A., Selvan S., Solomon S., Pal T. K. Formulation and optimization of sustained release matrix tablet of metformin HCl 500 mg using response surface methodology. *Yakugaku Zasshi*. 2007;127(8):1281–1290. DOI: 10.1248/yakushi.127.1281.
4. Abdel-Rahman S. I., Mahrous G. M., El-Badry M. Preparation and comparative evaluation of sustained release metoclopramide hydrochloride matrix tablets. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2009;17(4):283–288. DOI: 10.1016/j.jsps.2009.10.004.
5. Joshi N. C., Ahmad Z., Mishra S. K., Singh R. Formulation and evaluation of matrix tablet of Tramadol hydrochloride. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2011;45(4):360–363.
6. Nayak A. K., Pal D. Development of pH-responsive tamarind seed polysaccharide-alginate composite beads for controlled diclofenac sodium using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2011;49(4):784–793. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2011.07.013.
7. Shivakumar H. N., Patel P. B., Desai B. G., Ashok P., Arulmozhi S. Design and statistical optimization of glipizide loaded lipospheres using response surface me-

- thodology. *Acta Pharmaceutica*. 2007;57(3):269–285. DOI: 10.2478/v10007-007-0022-8.
8. Malakar J., Nayak A. K., Goswami S. Use of Response Surface Methodology in the Formulation and Optimization of Bisoprolol Fumarate Matrix Tablets for Sustained Drug Release. *ISRN Pharmaceutics*. 2012;730624. DOI: 10.5402/2012/730624.
 9. De Leon J. The future (or lack of future) of personalized prescription in psychiatry. *Pharmacological Research*. 2009;59(2):81–89. DOI: 10.1016/j.phrs.2008.10.002.
 10. Gurba-Bryśkiewicz L., Maruszak W., Smuga D. A., Dubiel K., Wieczorek M. Quality by Design (QbD) and Design of Experiments (DOE) as a Strategy for Tuning Lipid Nanoparticle Formulations for RNA Delivery. *Biomedicines*. 2023;11(10):2752. DOI: 10.3390/biomedicines11102752.
 11. Politis N., Colombo P., Colombo G., Rekkas D. M. Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2017;43(6):889–901. DOI: 10.1080/03639045.2017.1291672.
 12. Аладышева Ж. И., Беляев В. В., Береговых В. В. Промышленная фармация. Путь создания продукта. М.: Российской академия наук; 2019. 394 с. [Aladysheva Zh. I., Belyaev V. V., Beregovykh V. V. Industrial Pharmacy. The Path to Product Creation. Moscow: Russian Academy of Sciences; 2019. 394 p. (In Russ.)]
 13. Lavrov M. I., Stroganov O. V., Zamoyski V. L., Grigoriev V. V., Zapolskiy M. E., Sysolyatin S. V., Malykhin V. V., Surmachev V. N., Palyulin V. A. Synthesis of an allosteric modulator of ionotropic glutamate receptors. *Mendelev Communications*. 2020;30(2):156–158. DOI: 10.1016/j.mencom.2020.03.008.
 14. Зырянов О. А., Бркич Г. Э., Пятигорская Н. В., Маршалова М. М., Аладышева Ж. И., Николенко Н. С. Планирование эксперимента фармацевтической разработки. М.: ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); 2024. 124 с. [Zyryanov O. A., Brkich G. E., Pyatigorskaya N. V., Marshalova M. M., Aladysheva Zh. I., Nikolenko N. S. Planning of a pharmaceutical development experiment. Moscow: I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University); 2024. 124 p. (In Russ.)]

VII КОНФЕРЕНЦИЯ GLP-PLANET



Дата проведения:

1–3 июля 2026 года

Место проведения:

**Санкт-Петербург,
Отель «Санкт-Петербург»**



Rus-LASA



GLP-PLANET ежегодно объединяет специалистов научно-исследовательских центров, представителей контрактных исследовательских организаций и фармацевтических компаний, разработчиков, экспертов в области биоэтики и ветеринарных специалистов, представителей регулятора, педагогов высших учебных заведений и технических специалистов.



Программа предстоящей конференции включает тематические сессии, мастер-классы и круглые столы.

По итогам конференции выпускается коллективная монография «Консультант GLP-PLANET. Мнение фармацевтической отрасли».

Для участия в конференции необходимо пройти регистрацию.

Подробности и форма регистрации доступны на официальном сайте мероприятия.

Конференция проводится в гибридном формате: возможно очное и онлайн участие.

РЕГИСТРАЦИЯ



ПРОГРАММА



КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

ТЕЛЕФОН:

+7 (981) 041-01-45

ЭЛЕКТРОННАЯ ПОЧТА:

sci.secretary@glp-planet.com

3

ДНЯ НАУЧНОЙ
ПРОГРАММЫ

12

ТЕМАТИЧЕСКИХ
СЕССИЙ

8

МАСТЕР-
КЛАССОВ

**НЕ УПУСТИТЕ ВОЗМОЖНОСТЬ СТАТЬ ЧАСТЬЮ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА И ВНЕСТИ СВОЙ ВКЛАД
В РАЗВИТИЕ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ!**



Термочувствительные полимеры в системах доставки лекарств (обзор)

Д. О. Маслов✉, М. С. Золотарева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА – Российский технологический университет» (ПТУ МИРЭА). 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

✉ **Контактное лицо:** Маслов Дмитрий Олегович. **E-mail:** maslovv1921@mail.ru

ORCID: Д. О. Маслов – <https://orcid.org/0000-0003-0486-2444>;
М. С. Золотарева – <https://orcid.org/0000-0002-1597-6992>.

Статья поступила: 18.04.2025

Статья принята в печать: 02.10.2025

Статья опубликована: 03.04.2026

Резюме

Введение. Водорастворимые полимеры, чувствительные к температуре, перспективны для использования в фармацевтической разработке для создания «умных» систем доставки лекарств.

Текст. В данной обзорной статье рассматриваются три группы термочувствительных полимеров: с нижней критической температурой растворения (LCST) и с верхней критической температурой растворения (UCST), а также полимеры, проявляющие оба типа поведения. В статье приведена их классификация, особенности разработки, примеры применения и модификаций для придания необходимых свойств.

Заключение. Полимеры с LCST- и UCST-поведением являются перспективными материалами для разработки термочувствительных систем доставки лекарственных средств, которые уже используются в биомедицине.

Ключевые слова: термочувствительные полимеры, UCST, LCST, умные полимеры, доставка лекарств

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

Вклад авторов. Д. О. Маслов проводил сбор и систематизацию материала, осуществлял работу с табличными материалами, отвечал за подготовку рукописи. М. С. Золотарева отвечала за редактирование текста статьи, научное консультирование и формулирование концептуальной идеи публикации.

Для цитирования: Маслов Д. О., Золотарева М. С. Термочувствительные полимеры в системах доставки лекарств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):72–80. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2085>

Thermosensitive polymers in drug delivery systems (review)

Dmitriy O. Maslov✉, Mariia S. Zolotareva

MIREA – Russian Technological University. 86, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia

✉ **Corresponding author:** Dmitriy O. Maslov. **E-mail:** maslovv1921@mail.ru

ORCID: Dmitriy O. Maslov – <https://orcid.org/0000-0003-0486-2444>;
Mariia S. Zolotareva – <https://orcid.org/0000-0002-1597-6992>.

Received: 18.04.2025

Accepted: 02.10.2025

Published: 03.04.2026

Abstract

Introduction. Water-soluble polymers that are sensitive to temperature are promising for use in pharmaceutical development to create "smart" drug delivery systems.

Text. This review article discusses three groups of thermosensitive polymers: those with a lower critical solution temperature (LCST) and those with an upper critical solution temperature (UCST), as well as polymers exhibiting both types of behavior. The article presents their classification, development features, application examples and modifications to give the necessary properties.

Conclusion. Polymers with LCST and UCST behavior are promising materials for the development of thermosensitive drug delivery systems that are already used in biomedicine.

Keywords: thermosensitive polymers, UCST, LCST, smart polymers, drug delivery

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. Dmitriy O. Maslov collected and systematized the material, worked with tabular materials, and was responsible for preparing the manuscript. Mariia S. Zolotareva was responsible for editing the text of the article, providing scientific advice, and formulating a conceptual idea for publication.

For citation: Maslov D. O., Zolotareva M. S. Thermosensitive polymers in drug delivery systems. *Drug development & registration*. 2026;15(2):72–80. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2085>

ВВЕДЕНИЕ

Водорастворимые полимеры, чувствительные к температуре, являются перспективными материалами-кандидатами для биомедицинских применений, таких как биоактивные поверхности, селективная белковая хроматография, контролируемая биоадгезия, доставка лекарств, вызванная гипертермией, тканевая инженерия и т. д. [1–8].

Особенностью термочувствительных полимеров является то, что они характеризуются критической температурой растворения – это температура, при которой полимер претерпевает фазовый переход (объемный фазовый переход или фазовый переход золь – гель) (рисунок 1) [6, 9, 10]. Этот процесс связан с нарушением смешиваемости на фазовой диаграмме бинарной смеси полимер/растворитель.

В соответствии с характером фазового перехода обычно выделяют три вида термочувствительных полимеров: полимеры с нижней критической температурой растворения (LCST), полимеры с верхней критической температурой растворения (UCST) и полимеры, проявляющие оба вида свойств (имеют и LCST, и UCST) [11–13]. Дегидратация полимерной фазы при температуре перехода происходит из-за того, что взаимодействия полимер – полимер становятся термодинамически более выгодными, и это сопровождается обратимым разрушением полимерных цепей от удлинённых спиралей до сжатых шариков [14, 15].

Фактически, когда речь идет о процессе разделения фаз, LCST представляет собой температуру минимума бинодальной кривой фазовой диаграммы. Ниже этого минимума существует только одна фаза, независимо от концентрации полимера (рисунок 1, Б). С другой стороны, UCST представляет собой температуру максимума бинодальной кривой, выше которой существует одна фаза (рисунок 1, Г). Температура фазового перехода, напротив, представляет собой температуру, при которой происходит фазовое разделение в рассматриваемых условиях композиции полимер/растворитель, и может быть расположена в любой точке бинодальной кривой. Температуру фа-

зового перехода часто называют точкой помутнения (T_{cp}) [16], поскольку образование концентрированной полимерной фазы, диспергированной в разбавленной полимерной фазе, приводит к изменению дифференциального показателя преломления смеси и, следовательно, к образованию мутной суспензии [14, 15].

Термочувствительные полимеры, демонстрирующие LCST

Среди водорастворимых термочувствительных полимеров наиболее распространены полимеры, обладающие LCST-поведением. В этом случае разделение фаз происходит из-за разрыва водородных связей между полимерными цепями и молекулами воды (взаимодействия полимер – полимер становятся термодинамически более выгодными). Фазовый переход полимеров LCST происходит за счет энтропии [1, 9, 15], а поведение LCST обусловлено особым балансом между гидрофильной и гидрофобной частями мономера. Таким образом, температура перехода для LCST-полимеров зависит от способности полимера образовывать водородные связи с водой [17]. Статистическая сополимеризация с гидрофильными или гидрофобными мономерами является распространенной и простой стратегией для настройки температуры перехода LCST-полимеров до желаемого значения, а также для введения определенных функциональных возможностей в полимерные цепи. С другой стороны, температура перехода для четко определенных LCST-блок-сополимеров, содержащих по меньшей мере один термочувствительный блок, довольно нечувствительна к природе второго мономера. Это объясняется тем, что блоки в сополимере разделены и влияние одного из них на количество водородных связей другого практически отсутствует [9].

Изучению LCST-поведения полимерных композиций посвящено множество работ, в частности по подходам к их синтезу, пониманию взаимосвязи между структурой полимеров и температурой фазовых переходов, реальному применению в биомедицине, для создания зондов или в катализе (рисунок 2) [15].

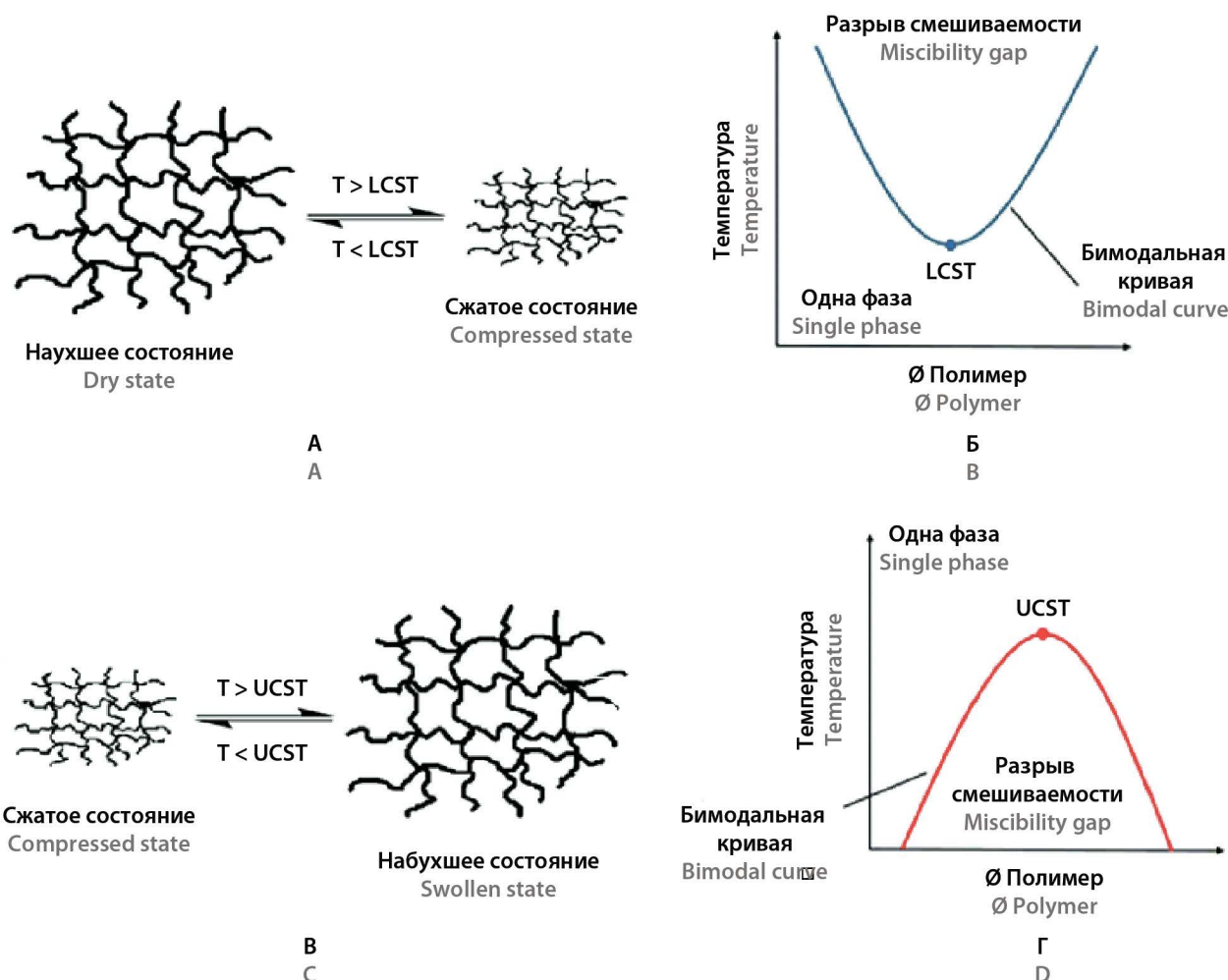


Рисунок 1. Термореактивное поведение полимерно-сополимерной системы (А, В) и их фазовые диаграммы для смесей, показывающие: (Б) LCST и (Г) UCST [6]

Figure 1. Thermoresponsive behavior of the polymer-copolymer system (A, C) and their phase diagrams for mixtures showing: (B) LCST and (D) UCST [6]

Среди полимеров с LCST-поведением наиболее часто встречаются полимеры на основе ПНИПАМ (поли(N-изопропилакриламид)), ПЭО (поли(2-этил-2-оксазолин)), ПЭГ (полиэтиленгликоль), полуксамеров, ПЭГ – поли(молочной-со-гликолевой) кислоты – ПЭГ (ПЭГ-ПЛГА-ПЭГ), которые чаще всего используются для разработки систем доставки лекарственных средств.

Гидрофильные группы полимера ПНИПАМ (рисунок 3), обладающего LCST-поведением, при взаимодействии с молекулами воды образуют устойчивые водородные связи при температурах ниже LCST. Макромолекулярные цепи в воде полностью растягиваются, и система получается однородной и прозрачной. При повышении температуры водородные связи между молекулами воды и гидрофильными группами нарушаются, гидрофобное взаимодействие начинает преобладать, а макромолекулярные цепи запутываются из-за плотного состояния. Далее они отделяются друг от друга и приобретают нерастворимую форму на макроуровне [4, 10].

Стоит отметить, что ПНИПАМ не подходит для применения *in vivo*, поскольку его LCST ниже температуры тела человека, а мицеллы, содержащие ПНИПАМ в качестве оболочки, быстро агрегируют после инъекции. Поэтому НИПАМ сополимеризуют с гидрофильными мономерами для получения полимеров с температурой LCST выше 37 °C.

Полуксамеры (плюроники) – это группа синтетических полимеров с термообратимыми свойствами, которыми можно управлять через состав, молекулярную массу (ММ) и концентрацию при физиологических температурах. Они представляют собой триблочные сополимеры поли(оксида этилена) (ПЭО) и поли(оксида пропилена) (ППО) с регулируемой гидрофильностью и гидрофобностью. Полуксамер 407 является наиболее изученным для разработки системы доставки лекарств за счет низкой критической концентрации гелеобразования и минимальной токсичности [4, 10].

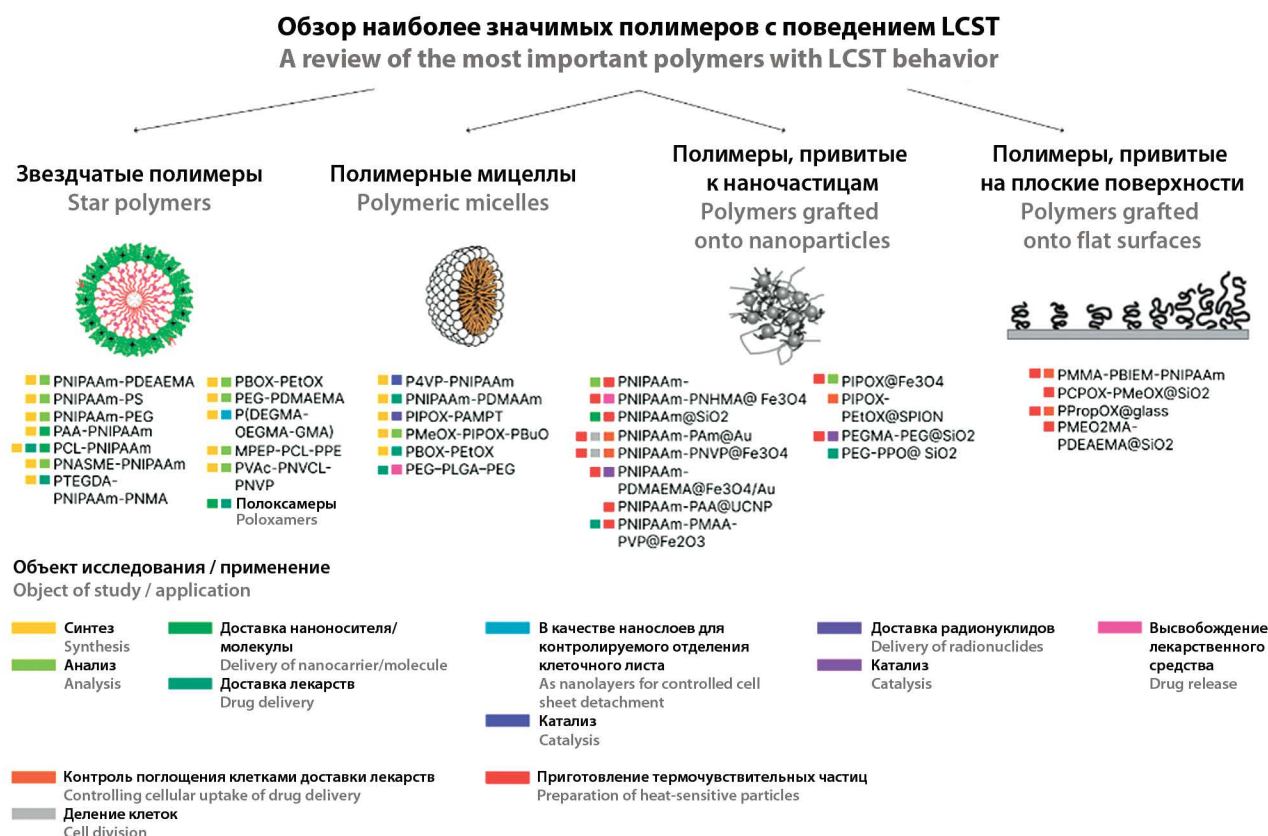


Рисунок 2. Обзор наиболее значимых полимеров с поведением LCST, упорядоченных по расположению полимеров: звездчатые полимеры, полимерные мицеллы, а также полимеры, ковалентно привитые к наночастицам и плоским поверхностям [15]

Figure 2. Overview of the most significant polymers with LCST behavior, ordered by polymer arrangement: star polymers, polymer micelles, as well as polymers covalently grafted to nanoparticles and flat surfaces [15]

сичности. Помимо использования в разработке систем доставки лекарств, его изучали с целью разработки каркасов для регенерации тканей. Однако плюроновые гидрогели обладают такими недостатками, как плохая стабильность и прочность и быстрое высвобождение лекарства [18].

Сополимеризация полиэтиленгликоля (ПЭГ) и биосовместимых полиэфигов позволяет создавать термочувствительные гидрогели с LCST-поведением. Их термочувствительность можно улучшить, регулируя состав и длину гидрофильного ПЭГ-блока и гидрофобного полиэфирного блока. Широко изучены гидрогели на основе триблок-сополимеров ПЭГ – поли(молочная-со-гликолевая) кислота – ПЭГ (ПЭГ-ПЛГА-ПЭГ) АВА-типа (А=ПЭГ, В=ПЛГА). При повышении температуры они переходят из состояния золь в гель и обратно. Физиологическая температура (37 °C) находится в пределах гелевого окна ПЭГ-ПЛГА-ПЭГ, что позволяет использовать его для приготовления термочувствительного геля *in situ*. Триблочные сополимеры ПЛГА-ПЭГ-ПЛГА типа ВАВ также демонстрируют обратимое превращение золь – гель – золь при повышении температуры [19].

Термочувствительные полимеры, проявляющие UCST

Полимеры с UCST изучаются менее широко, они полностью растворимы при температуре выше UCST и нерастворимы ниже этой температуры (рисунок 4) [20].

Полимеры, демонстрирующие UCST-поведение, можно разделить на две группы: 1) разделение фаз происходит из-за разрушения водородных связей; 2) разделение фаз происходит из-за диполь-дипольных взаимодействий (ионное взаимодействие) [9].

К полимерам с UCST-поведением первой группы относятся, например, поли-(N-акрилоилглицинамид) (ПНАГА) (рисунок 4, А) и его производные и сополимеры, уреидо-производные полимеры (рисунок 4, Б) и сополимеры поли(акриламид-со-акрилонитрил) (рисунок 4, В) [17, 20, 21]. У данного вида полимеров водородные связи между боковыми группами ответственны за их термочувствительность. Поведение UCST называется энтальпийно обусловленным, поскольку взаимодействия полимер – полимер и растворитель – растворитель сильнее, чем

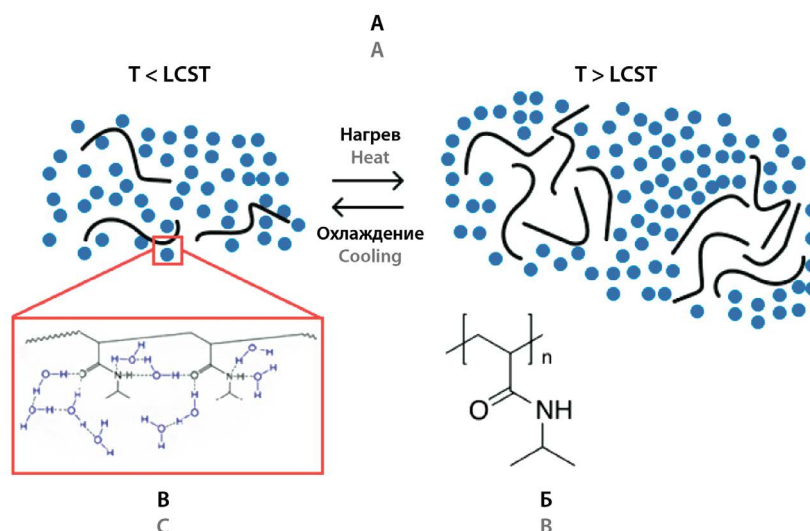


Рисунок 3. Гидрофильные группы полимера ПНИПАМ:

A – цепи ПНИПАМ (черные), зависящие от температуры, окруженные молекулами воды (синие); **Б** – химический состав ПНИПАМ; **В** – возможные водородные связи [4, 10]

Figure 3. Hydrophilic groups of the polymer PNIPAM:

A – PNIPAM chains (black), temperature-dependent, surrounded by water molecules (blue); **B** – the chemical composition of PNIPAM; **C** – possible hydrogen bonds [4, 10]

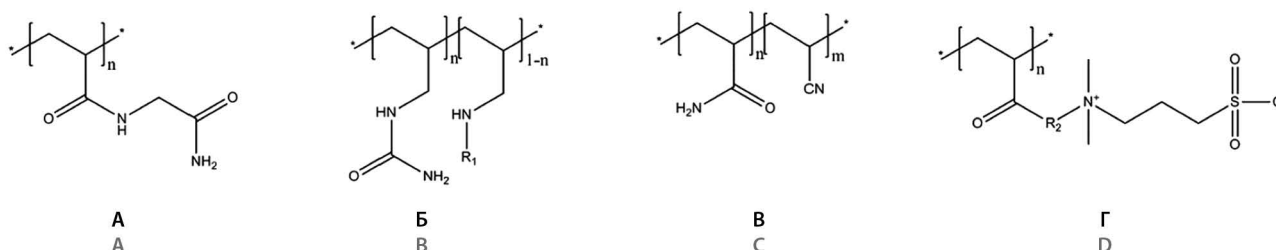


Рисунок 4. Химическая структура типичных термочувствительных полимеров, водные растворы которых обладают UCST-поведением [9].

A – поли(N-акрилоилглицинамид); **Б** – производные поли(аллиламин-со-аллилмочевины), $R_1 = H, CO(CH_2)_2COOH$ или $COCH_3$; **В** – поли(акриламид-со-акрилонитрил); **Г** – поли(сульфобеттаинметакрилат), $R_2 = O(CH_2)_2, NH(CH_2)_3$ или $O(CH_2)_{11}$

Figure 4. Chemical structure of typical thermosensitive polymers, whose aqueous solutions exhibit UCST behavior [9].

A – poly (N-acryloylglycinamide); **B** – derivatives of poly (allylamine-co-allylurea), $R_1 = H, CO(CH_2)_2COOH$ or $COCH_3$; **C** – poly(acrylamide-co-acrylonitrile); **D** – poly(sulfobetaine methacrylate), $R_2 = O(CH_2)_2, NH(CH_2)_3$ or $O(CH_2)_{11}$

полимер – растворитель, и гидрофобный эффект перестает преобладать [9]. Для достижения нужной величины UCST часто применяют метод статистической сополимеризации с гидрофильными или гидрофобными мономерами. Однако основные проблемы, связанные с этими термочувствительными полимерами, обусловлены высокой чувствительностью температуры перехода UCST-полимеров к незначительным колебаниям pH, концентрации полимера, гидролизу полимера или присутствию других веществ, что приводит к значительным колебаниям температуры перехода. Например, в случае ПНАГА введение не-

скольких ионных групп способно полностью подавить его UCST [21].

К полимерам второй группы относятся, например, ПСБМА (поли(сульфобеттаинметакрилат)). Они в своем составе имеют сильно заряженные катионные и анионные группы, но их общий заряд обычно остается нейтральным (рисунок 4, Г). Высокий дипольный момент этих цвиттерионных полимеров приводит к возникновению меж- и внутримолекулярных диполь-дипольных взаимодействий, которые приводят к самоассоциации полимерных цепей и к образованию сверхсжатого неассоциированного состояния.

Как правило, ниже температуры помутнения цвиттерионные полимеры образуют в воде агрегированную спиральную структуру, образующую двухфазную систему, за счет электростатического внутри- и межмолекулярного взаимодействия между противоположно заряженными ионными группами. При повышении температуры выше точки помутнения это взаимодействие ослабевает и происходит растворение спирального полимера [9]. При достаточно высокой температуре (UCST) дипольные взаимодействия разрушаются, образуя полностью сольватированные и изолированные полимерные цепи. Основное различие между этими двумя конформационными состояниями заключается в общей смачиваемости этих полицвиттерионных щеток – полимерных щеток, состоящих из цепей, содержащих цвиттерионные груп-

пы. (рисунок 5) [22]. В связанном состоянии эти материалы обладают сильной, электростатически индуцированной гидратацией и гидрофильностью, которая, как правило, достаточно высока, чтобы избежать адсорбции белка. Широко распространенными являются наноносители на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ). С другой стороны, в несвязанном состоянии вода становится плохим растворителем, и гидрофильность этих цвиттерионных щеток снижается, что также приводит к меньшему набуханию полимера [9, 23].

Чувствительность полимеров типа UCST к очень многим параметрам повлияла на их использование в биомедицине, например в синтезе систем доставки лекарственных систем, а также для инкапсулирования противоопухолевых лекарственных средств (рисунок 6) [8, 15].

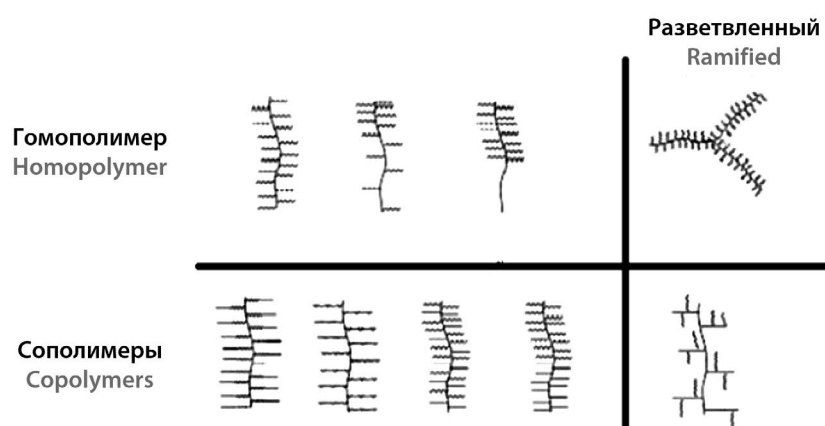


Рисунок 5. Классификация молекулярных щеток по топологии ветвления и химическому составу боковых цепей [22]

Figure 5. Classification of molecular brushes by branching topology and chemical composition of side chains [22]

Основные термочувствительные полимеры с UCST поведением Basic thermosensitive polymers with UCST behavior

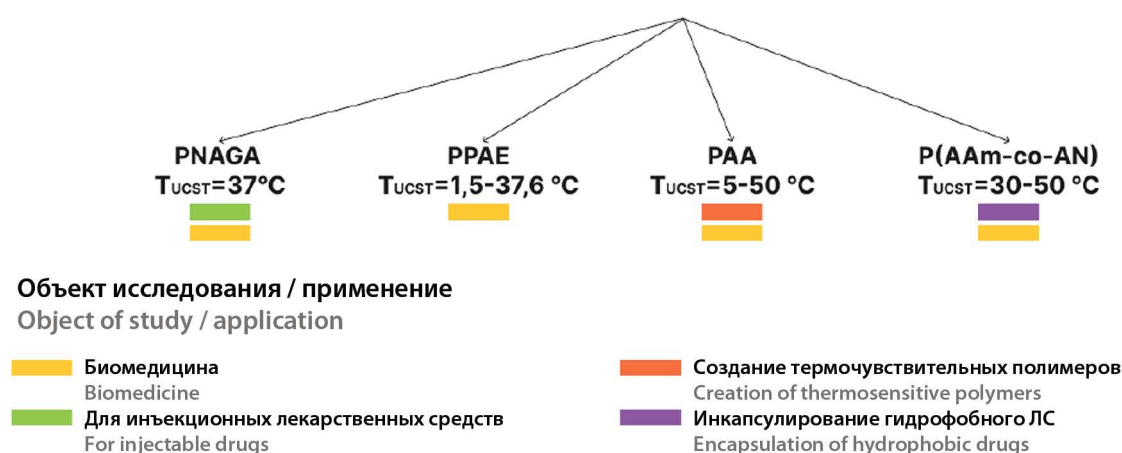


Рисунок 6. Основные термочувствительные полимеры с UCST-поведением и области их применения

Figure 6. The main thermosensitive polymers with UCST behavior and their applications

Таблица 1. Особенности термочувствительных полимеров, демонстрирующих LCST- и UCST-поведение
Table 1. Features of thermosensitive polymers exhibiting LCST and UCST behavior

Поведение полимеров Behavior of polymers	Полимеры с LCST Polymers with LCST	Полимеры с UCST Polymers with UCST		Полимеры и UCST, и LCST Polymers, both UCST and LCST
		Разрушение водородных связей Destruction of hydrogen bonds	Ионное взаимодействие Ionic interaction	
Причина перехода The reason for the transition	Разрушение водородных связей Destruction of hydrogen bonds	Разрушение водородных связей Destruction of hydrogen bonds	Ионное взаимодействие Ionic interaction	Разрушение водородных связей Destruction of hydrogen bonds
Примеры полимеров Examples of polymers	ПНИПАМ, ПЭО, ПЭГ, полоксамер, ПЛГА-ПЭГ-ПЛГА PNIPAM, PEO, PEG, poloxamer, PLGA-PEG-PLGA	ПНАГА, ППА, ПАК, ПА PNAGA, PAP, PAK, PA	ПСБМА PSBMA	П(НАГАР-со-ДААМ) P(NAGAR-co-DAAM)
Подходы к увеличению температуры перехода Approaches to increasing the transition temperature	Добавление гидрофильных мономеров Addition of hydrophilic monomers	Добавление гидрофобных мономеров. Увеличение ММ гомополимеров. Increase in the MW of homopolymers.	Введение различных анионов и катионов Introduction of various anions and cations	Уменьшение молярной доли более гидрофобных звеньев Reduction of the molar fraction of more hydrophobic units
Особенности Features	Переход из набухшего состояния в сжатое The transition from a swollen state to a compressed one	Фазовое разделение происходит при охлаждении ниже температуры фазового перехода Phase separation occurs when cooling below the phase transition temperature	Фазовое разделение происходит при охлаждении ниже температуры фазового перехода Phase separation occurs when cooling below the phase transition temperature	Растворимы во всем диапазоне температур They are soluble over the entire temperature range
Основные проблемы The main problems	Высокая полидисперсность High polydispersity	Чувствительность к незначительным колебаниям pH, электролитам, концентрации полимера Sensitivity to minor pH fluctuations, electrolytes, polymer concentration, polymer hydrolysis	Чувствительность к незначительным колебаниям pH, электролитам, концентрации полимера Sensitivity to minor pH fluctuations, electrolytes, polymer concentration, polymer hydrolysis	Температура перехода сильно зависит от состава The transition temperature strongly depends on the composition
Использование в разработке лекарственных препаратов Use in drug development	Системы доставки, в т.ч. противораковые препараты, генная терапия, инсулин Delivery systems, including anti-cancer drugs, gene therapy, and insulin	Доставка нейтральных или ионных лекарственных средств. Системы доставки инъекционных лекарственных средств. Разработка противоопухолевых препаратов Delivery of neutral or ionic medicines. Injection drug delivery systems. Development of anticancer drugs	Доставка нейтральных или ионных лекарственных средств. Системы доставки инъекционных лекарственных средств. Разработка противоопухолевых препаратов Delivery of neutral or ionic medicines. Injection drug delivery systems. Development of anticancer drugs	Контролируемое высвобождение лекарств; гидрогели Controlled drug release; hydrogels

Среди основных полимеров, используемых для разработки систем доставки, можно выделить ПНАГА [15, 17, 24], ППА (пропиониласпарагиновая кислота) [11, 25], ПА (поли(акриловая кислота)) [26, 27], ПАК (поли(акриламид-коакрилонитрил)) [18, 28–30]. В основном они используются для доставки гидрофобных лекарственных средств и обеспечивают длительную системную циркуляцию. Такие полимеры должны быть нетоксичными и иметь температуру фазового перехода, равную температуре тела человека. Для этого обычно проводят их химическую модификацию – сополимеризацию и модификацию концевых групп для настройки гидрофильно-гидрофобного баланса полимерных цепей – или достигают этого путем воздействия физических факторов, таких как смешивание различных полимеров, концентрация полимера, ионная сила для регулирования соотношения полимер – полимер, полимер – растворитель и растворитель – растворитель [16].

Термочувствительные полимеры, проявляющие UCST-, и LCST-свойства

Данная группа полимеров демонстрируют оба типа поведения в зависимости от температуры. К ним относится поли(N-акрилоилглицинамид-со-диацетон-акриламид) (П(НАГАР-со-ДААМ)). Сегменты сополимера, образованные за счет водородной связи между звеньями NAGA и DAAM, действуют как гидрофильные компоненты. Термочувствительные характеристики сополимеров представлены в широком диапазоне концентраций, различных составов, степени полимеризационного замещения, целевых концентраций и в зависимости от присутствия электролитов. Появление термических переходов типа UCST и LCST для одного и того же типа сополимера при различных режимах получения, как ожидается, облегчит их применение из-за простоты сополимеризации [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полимеры с LCST, UCST и полимеры, проявляющие двойное поведение, являются перспективными материалами для разработки термочувствительных систем доставки лекарственных средств (таблица 1), которые уже используются в биомедицине. Основными трудностями при их разработке являются модификация полимера, обеспечивающая необходимую биодоступность, стабильность и контролируемое высвобождение для системы доставки лекарственного средства. В перспективе при решении имеющихся затруднений возможна разработка систем, которые реагируют на многочисленные внешние раздражители «интеллектуальным» и предсказуемым образом.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gandhi A., Paul A., Sen S.O., Sen K.K. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;10(2):99–107. DOI: 10.1016/j.ajps.2014.08.010.
- Bajpai A.K., Bajpai J., Saini R., Gupta R. Responsive Polymers in Biology and Technology. *Polymer Reviews*. 2010;51(1):53–97. DOI: 10.1080/15583724.2010.537798.
- Fitzpatrick S.D., Fitzpatrick L.E., Thakur A., Jafar Mazumder M.A., Sheardown H. Temperature-sensitive polymers for drug delivery. *Expert Review of Medical Devices*. 2014;9(4):339–351. DOI: 10.1586/erd.12.24.
- Tan S., Saito K., Hearn M.T.W. Stimuli-responsive polymeric materials for separation of biomolecules. *Current Opinion in Biotechnology*. 2018;53:209–223. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.02.011.
- Hoffman A.S. Stimuli-responsive polymers: Biomedical applications and challenges for clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(1):10–16. DOI: 10.1016/j.addr.2012.11.004.
- Jain K.K. Drug Delivery System. Basel: Jain PharmaBio-tech; 2014.
- Tian H.-Y., Yan J.-J., Wang D., Gu C., You Y.-Z., Chen X.-S. Synthesis of Thermo-Responsive Polymers With Both Tunable UCST and LCST. *Macromolecular Rapid Communications*. 2011;32(8):660–664. DOI: 10.1002/marc.201000713.
- Zarrintaj P., Jouyandeh M., Ganjali B.S. Hadavand D.S., Mozafari M., Sheiko S.S., Vatanikhah-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.
- Sponchioni M., Palmiero U.C., Moscatelli D. Thermo-responsive polymers: Applications of smart materials in drug delivery and tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*. 2019;102:589–605. DOI: 10.1016/j.msec.2019.04.069.
- Xin S. A review of thermoresponsive drug delivery systems based on LCST/UCST polymer nanofibers. *Journal of Physics: Conference Series*. 2023;2539. DOI: 10.1088/1742-6596/2539/1/012032.
- Di Y., Ma X., Li C., Liu H., Fan X., Wang M., Deng H., Jiang T., Yin Z., Deng K. A New Thermosensitive Poly(N-propionyl-aspartic acid/ethylene glycol) with No Cytotoxicity and Tunable UCST. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2014;115:365–371. DOI: 10.1002/macp.201300687.
- Boustta M., Colombo P.-E., Lenglet S., Poujol S., Vert M. Versatile UCST-based thermoresponsive hydrogels for loco-regional sustained drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2014;174:1–6. DOI: 10.1016/j.jconrel.2013.10.040.
- Käfer F., Liu F., Stahlschmidt U., Jérôme V., Freitag R., Karg M., Agarwal S. LCST and UCST in One: Double Thermoresponsive Behavior of Block Copolymers of Poly(ethylene glycol) and Poly(acrylamide-co-acrylonitrile). *Langmuir*. 2015;31(32):8940–8946. DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b02006.
- Seuring J., Agarwal S. Polymers with Upper Critical Solution Temperature in Aqueous Solution. *Macromolecular Rapid Communications*. 2012;33(22):1898–1920. DOI: 10.1002/marc.201200433.
- Flemming P., Münch A.S., Fery A., Uhlmann P. Constrained thermoresponsive polymers – new insights into fundamentals and applications. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 2021;17:2123–2163. DOI: 10.3762/bjoc.17.138.
- Zhang Q., Weber C., Schubert U.S., Hoogenboom R. Thermoresponsive polymers with lower critical solution temperature: from fundamental aspects and measuring techniques to recommended turbidimetry conditions. *Materials Horizons*. 2017;4:109–116. DOI: 10.1039/c7mh00016b.

17. Bansal K.K., Upadhyay P.K., Saraogi G.K., Rosling A., Rosenholm J.M. Advances in thermo-responsive polymers exhibiting upper critical solution temperature (UCST). *Express Polymer Letters*. 2019;13:974–992. DOI: 10.3144/expresspolymlett.2019.85.
18. Chen I.-C., Su C.-Y., Chen P.-Y., Hoang C., Tsou Y.-S., Fang H.-W. Investigation and Characterization of Factors Affecting Rheological Properties of Poloxamer-Based Thermo-Sensitive Hydrogel. *Polymers*. 2022;14(24):5353. DOI: 10.3390/polym14245353.
19. Yu Y., Cheng Y., Tong J., Zhang L., Wei Y., Tian M. Recent advances in thermo-sensitive hydrogels for drug delivery. *Journal of Materials Chemistry B*. 2021;9(13):2979–2992. DOI: 10.1039/d0tb02877k.
20. Bordat A., Soliman N., Chraït I. B., Manerlax K., Yagoubi N., Boissenot T., Nicolas J., Tsapis N. The crucial role of macromolecular engineering, drug encapsulation and dilution on the thermoresponsiveness of UCST diblock copolymer nanoparticles used for hyperthermia. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2019;142:281–290. DOI: 10.1016/j.ejpb.2019.07.001.
21. Sun W., An Z., Wu P. UCST or LCST? Composition-Dependent Thermoresponsive Behavior of Poly(N-acryloylglycinamide-co-diacetone acrylamide). *Macromolecules*. 2017;50(5):2175–2182. DOI: 10.1021/acs.macromol.7b00020.
22. Shunjin P., Bhushan B. Smart polymer brushes and their emerging applications. *RSC Advances*. 2012;2(23):8557–8578. DOI: 10.1039/c2ra20451g.
23. Talelli M., Hennink W.E. Thermosensitive polymeric micelles for targeted drug delivery. *Nanomedicine*. 2011;6(7):1245–1255. DOI: 10.2217/nnm.11.91.
24. Xu Z., Liu W. Poly(N-acryloyl glycinamide): a fascinating polymer that exhibits a range of properties from UCST to high-strength hydrogels. *Chemical Communications*. 2018;54:10540–10553. DOI: 10.1039/c8cc04614j.
25. Yingying D., Xin M., Chunxiu L., Hongmei L., Xueying F., Meng W., Heying D., Ting J., Ziming Y., Kuilin D. A New Thermosensitive Poly(N-propionyl-aspartic acid/ethylene glycol) with No Cytotoxicity and Tunable UCST. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2014;215(4):365–371. DOI: 10.1002/macp.201300687.
26. Zhao C., Dolmans L., Zhu X.X. Thermoresponsive Behavior of Poly(acrylic acid-co-acrylonitrile) with a UCST. *Macromolecules*. 2019;52(12):4441–4446. DOI: 10.1021/acs.macromol.9b00794.
27. Jia Y.-G., Yu Q., Ma Z., Zhang M., Zhu X.X. Tunable Upper Critical Solution Temperatures for Acrylamide Copolymers with Bile Acid Pendants. *Biomacromolecules*. 2017;18(8):2663–2668. DOI: 10.1021/acs.biomac.7b00860.
28. Черникова Е. В., Сивцов Е. В. Полимеризация с обратной передачей цепи по механизму присоединения–фрагментации: фундаментальные основы и практическая реализация. *Высокомолекулярные соединения. Серия Б*. 2017;59(2):93–123. DOI: 10.7868/s2308113917020139. [Chernikova E. V., Sivtsov E. V. Polymerization with reversible chain transfer by the attachment–fragmentation mechanism: fundamental principles and practical implementation. *High molecular weight compounds Serie B*. 2017;59(2):93–123. (In Russ.) DOI: 10.7868/s2308113917020139.]
29. Hou L., Wu P. Understanding the UCST-type transition of P(AAm-co-AN) in H₂O and D₂O: dramatic effects of solvent isotopes. *Soft Matter*. 2015;11(35):7059–7065. DOI: 10.1039/c5sm01745a.
30. Li W., Huang L., Ying X., Jian Y., Hong Y., Hu F., Du Y. Antitumor Drug Delivery Modulated by A Polymeric Micelle with an Upper Critical Solution Temperature. *Angewandte Chemie International Edition*. 2015;54(10):3126–3131. DOI: 10.1002/anie.201411524.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.451; 658.562

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2076>



Применение рискориентированного подхода для определения критических параметров процесса получения лиофилизата на основе производного ЛХС-1269

А. В. Ланцова¹, Е. В. Санарова¹, О. Л. Орлова¹, А. П. Колпаксиди¹, Н. А. Оборотова¹, Л. Л. Николаева^{1, 2}✉, З. С. Шпрах¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России). 115522, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119048, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ Контактное лицо: Николаева Людмила Леонидовна. E-mail: alima91@yandex.ru

ORCID: А. В. Ланцова – <https://orcid.org/0000-0002-0650-2023>;
Е. В. Санарова – <https://orcid.org/0000-0002-5592-5137>;
О. Л. Орлова – <https://orcid.org/0000-0002-4558-0083>;
А. П. Колпаксиди – <https://orcid.org/0000-0001-9388-1019>;
Н. А. Оборотова – <https://orcid.org/0000-0002-6986-3942>;
Л. Л. Николаева – <https://orcid.org/0000-0001-8003-8241>;
З. С. Шпрах – <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>.

Статья поступила: 08.04.2025

Статья принята в печать: 19.05.2025

Статья опубликована: 03.04.2026

Резюме

Введение. Сохранение основных параметров качества лекарственного средства (ЛС) – залог его успешного применения в клинической практике. Продуктивное использование результатов выявления и оценки рисков позволяет гарантировать эффективность и безопасность ЛС за счет предупредительных мер по выявлению и устранению потенциальных угроз для качества при его разработке и производстве.

Цель. Цель исследования – выявление критических точек технологического процесса получения лиофилизированной лекарственной формы соединения из класса индолокарбазолов ЛХС-1269 с использованием рискориентированного подхода.

Материалы и методы. Для анализа рисков в технологии получения лиофилизата на основе ЛХС-1269 применяли инструменты и методы анализа управления рисками, представленные в руководствах ICH Q8, Q9, Q10, Государственной фармакопеи РФ XV изд. и ГОСТР ИСО 31000-2019.

Результаты и обсуждение. При идентификации рисков производственного процесса выявлены основные критические параметры процесса и критические контрольные точки, среди которых наибольшее значение оказывают соблюдение режима растворения фармацевтической субстанции и вспомогательных веществ, фильтрации полученного раствора и его лиофилизации, а также контроль по основным показателям качества, характерным для лиофилизатов для парентерального применения.

Заключение. Применение выбранного подхода позволило выявить и оценить возможные риски для качества продукции на разных стадиях производства ЛС «ЛХС-1269, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 25 мг» и разработать стратегию по устранению или смягчению данных рисков и достижению необходимых целей, а именно получения качественного, эффективного и безопасного ЛС.

Ключевые слова: ЛХС-1269, лиофилизат, фармацевтическая разработка, анализ опасности, критические контрольные точки, критический параметр процесса

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

© Ланцова А. В., Санарова Е. В., Орлова О. Л., Колпаксиди А. П., Оборотова Н. А., Николаева Л. Л., Шпрах З. С., 2026

© Lantsova A. V., Sanarova E. V., Orlova O. L., Kolpaksidi A. P., Oborotova N. A., Nikolaeva L. L., Shprakh Z. S., 2026

Вклад авторов. А. В. Ланцова – планирование исследования и обработка результатов. Е. В. Санарова, О. Л. Орлова, Л. Л. Николаева – проведение критического анализа рисков, обработка полученных результатов, написание статьи. А. П. Колпаксиди – подготовка графического материала. Н. А. Оборотова и З. С. Шпрах – внесение значимых исправлений в содержание работы, окончательное утверждение публикуемой рукописи.

Для цитирования: Ланцова А. В., Санарова Е. В., Орлова О. Л., Колпаксиди А. П., Оборотова Н. А., Николаева Л. Л., Шпрах З. С. Применение рискориентированного подхода для определения критических параметров процесса получения лиофилизата на основе производного ЛХС-1269. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):81–91. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2076>

Application of a risk-based approach to determine critical parameters of the process of obtaining a lyophilisate based on a derivative of LCS-1269

Anna V. Lantsova¹, Ekaterina V. Sanarova¹, Olga L. Orlova¹, Alexander P. Kolpaksidi¹, Natalia A. Oborotova¹, Lyudmila L. Nikolaeva^{1,2✉}, Zoya S. Shprakh¹

¹ Federal State Budgetary Institution "N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 23, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russia

² I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

✉ **Corresponding author:** Lyudmila L. Nikolaeva. **E-mail:** alima91@yandex.ru

ORCID: Anna V. Lantsova – <https://orcid.org/0000-0002-0650-2023>;
Ekaterina V. Sanarova – <https://orcid.org/0000-0002-5592-5137>;
Olga L. Orlova – <https://orcid.org/0000-0002-4558-0083>;
Alexander P. Kolpaksidi – <https://orcid.org/0000-0001-9388-1019>;
Natalia A. Oborotova – <https://orcid.org/0000-0002-6986-3942>;
Lyudmila L. Nikolaeva – <https://orcid.org/0000-0001-8003-8241>;
Zoya S. Shprakh – <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>.

Received: 08.04.2025

Accepted: 19.05.2025

Published: 03.04.2026

Abstract

Introduction. Maintaining the basic quality parameters of a drug is the key to its successful use in clinical practice. Productive use of the results of risk identification and assessment allows us to guarantee the effectiveness and safety of medicines through preventive measures to identify and eliminate potential threats to quality during their development and production.

Aim. The aim of the study was to identify critical points in the technological process of obtaining a lyophilized dosage form of a compound from the class of indolocarbazoles LCS-1269 using a risk-based approach.

Materials and methods. To analyze the risks in the technology for obtaining a lyophilisate based on LCS-1269, the risk management analysis tools and methods presented in the ICH Q8, Q9, Q10, State Pharmacopoeia of Russia XV ed. and ISO 31000-2019 guidelines were used.

Results and discussion. When identifying risks of the production process, the main critical process parameters and critical control points were identified, among which the most important are compliance with the mode of dissolution of the pharmaceutical substance and excipients, filtration of the resulting solution and its lyophilization, as well as control over the main quality indicators characteristic of lyophilized dosage forms for parenteral use.

Conclusion. The application of the selected approach made it possible to identify and assess possible risks to product quality at different stages of production of the drug "LCS-1269, lyophilisate for preparation of injection solution 25 mg" and to develop a strategy to eliminate or mitigate these risks and achieve the necessary goals, namely, obtaining a high-quality, effective and safe medicinal product.

Keywords: substance LCS-1269, lyophilisate, pharmaceutical development, hazard analysis, critical control points, critical process parameter

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 V. Lantsova – planning the study and processing the results. Ekaterina V. Sanarova, Olga L. Orlova, Lyudmila L. Nikolaeva – conducting a critical risk analysis, processing the obtained results, writing the article. Alexander P. Kolpaksidi – preparation of graphic material. Natalia A. Oborotova and Zoya S. Shprakh – significant corrections to the content of the work, final approval of the published manuscript.

For citation: Lantsova A. V., Sanarova E. V., Orlova O. L., Kolpaksidi A. P., Oborotova N. A., Nikolaeva L. L., Shprakh Z. S. Application of a risk-based approach to determine critical parameters of the process of obtaining a lyophilisate based on a derivative of LCS-1269. *Drug development & registration*. 2026;15(2):81–91. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2076>

ВВЕДЕНИЕ

В производственном процессе лекарственных средств (ЛС) неизменно фигурирует определенная степень риска, влияющая на безопасное клиническое применение. Качество ЛС должно обеспечиваться в течение всего жизненного цикла, а сохранение основных параметров качества ЛС – залог его успешного применения в клинической практике. Внедрение риск-анализа гарантирует производство высококачественных, эффективных и безопасных ЛС благодаря применению упреждающих мер по выявлению и устранению вероятных угроз для качества как на этапе фармацевтической разработки, так и в фазе переноса технологий [1]. Очень часто модификация технологического процесса (ТП) при увеличении объемов производства вызывает корректировку состава лекарственной формы (ЛФ) и содержания вспомогательных веществ (ВВ) по сравнению с заявленными при регистрации значениями. Такие модификации могут оказывать влияние на безопасность, эффективность и качество ЛС и должны контролироваться и сводиться до минимума (61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»).

В 2005 г. было принято руководство ICH Q9 «Управление рисками качества», которое с марта 2008 г. включено в качестве приложения № 20 в правила GMP. Данный документ вводит основные правила использования риск-анализа для обеспечения качества ЛС, а также продуктов биологического и биотехнологического происхождения на протяжении всего жизненного цикла производства, включая этапы получения и введения сырья/субстанций, добавления растворителей, наполнителей и других ВВ. При этом в качестве пути, который позволил бы заранее оценить влияние ряда факторов, включая технологические, на качество готовых ЛФ, а также степень этого влияния и таким образом продуманно учитывать и планировать выполнение требований GMP, а также предупредительных и корректирующих мероприятий, предполагается использовать анализ рисков.

В зависимости от назначения существуют различные подходы идентификации и оценки рисков [2–5].

Так, при подборе состава такролимуса в виде микроэмульсий с помощью анализа видов, последствий и критичности отказов (Failure Mode, Effect and Criticality Analysis, FMECA) определяли критические параметры рецептуры и ТП. При этом было установлено, что процентное содержание масла, поверхностно-активных веществ, ВВ, скорость добавления фосфатно-солевого буфера и давление в микрофлюидизере являются факторами высокого риска, так как могут привести к агрегации, коалесценции или даже разделению фаз [2].

С помощью методологии анализа опасности и пригодности к эксплуатации (Hazard and Operability Studies, HAZOP) были выявлены технические решения по снижению профессиональных рисков при производстве полигидроксикапролатов из промышленных отходов [6].

При комплексной оценке ТП производства лиофилизата на основе пептида ГК-2 выявлено, что наибольший риск получения некачественного продукта возможен при нарушении процесса приготовления раствора, фильтрации, замораживания, первичной и вторичной сушки, а также укупорки флаконов [7].

Избрание определенного способа оценки определяется полнотой информации о продукте и процессе, практическим опытом в производстве продукта и др. Стандартная схема анализа рисков показана на рисунке 1.

По данным рисунка 1, изучение рисков включает три этапа: установление, анализ и оценку. Рискам присваивается оценка в баллах, и строится матрица/диаграмма «причина – следствие» для установления приоритетов, при этом результаты представляют собой образцы, чтобы отделить критические и значительные риски от незначительных [8–10].

Целью данной статьи является выявление критических точек ТП получения лиофилизата на основе соединения из класса индокарбазолов ЛХС-1269 с использованием рискориентированного подхода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа рисков в технологии получения лиофилизата на основе ЛХС-1269 применяли инструменты и методы анализа управления рисками, а также процессный подход. Ход исследования был основан на идентификации критических параметров процесса (КПП) и критических контрольных точках (ККТ), а также установлении допустимых диапазонов в показателях качества для предотвращения возникновения опасностей. При этом опирались на руководства ICH Q8, Q9, Q10, Государственную фармакопею (ГФ) РФ XV изд. и ГОСТ Р ИСО 31000-2019.

Объекты исследования: ЛХС-1269, «ЛХС-1269, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 25 мг» (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России) [11, 12], а также ВВ и растворители, входящие в состав ЛФ и используемые в ТП.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На базе экспериментальных лабораторий в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» был синтезирован целый ряд высокоактивных индокарбазолов, на основе одного из которых разработана парентеральная ЛФ «ЛХС-1269, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 25 мг». Технология получения лиофилизата, включающая 6 последовательных стадий, описана в статье [11].

Технология получения лиофилизата подобрана с учетом чувствительности лиофилизации к малейшим изменениям температурного режима, давления и других факторов¹, а также с применением основных

¹ Методические рекомендации № 99/145 «Упаковка стерильных лекарственных средств» утвержденные Минздравом РФ 2 декабря 1999 г. Доступно по: <https://base.garant.ru/4180101/?ysclid=m2vxn8mipy818017156>. Ссылка активна на 20.10.2024.

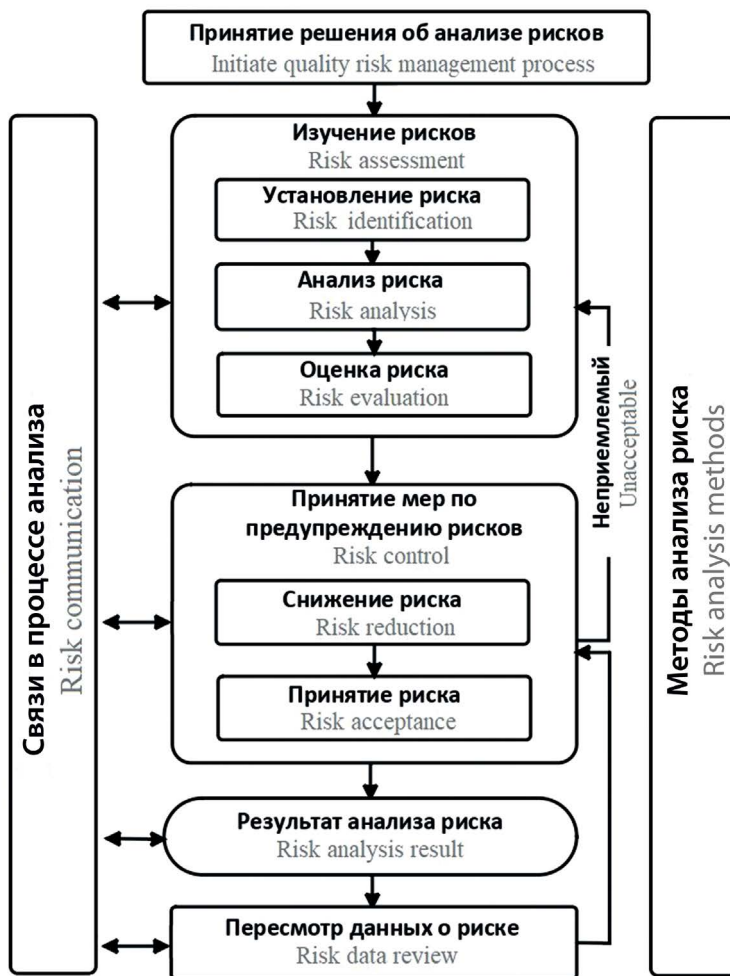


Рисунок 1. Типовая схема процесса анализа рисков по ICH Q9

Figure 1. Overview of a typical quality risk management process according to ICH Q9

элементов концепции «качество путем разработки» (Quality by Design, QbD) [13] и в соответствии с требованиями раздела «Фармацевтическая разработка» регистрационного досье на ЛС.

Идентификацию рисков и установление их уровня начали с определения КПП и ККТ всего производственного процесса.

КПП в технологии получения лиофилизата связаны со свойствами активной субстанции, наполнителей, криопротектора, растворителей и растворов, применяемых для сублимации и для регидратации. Состав ВВ и их количество влияют на выбор температурных режимов заморозки и сублимационной сушки на стадии лиофилизации [8, 10].

На этапе фармацевтической разработки ЛФ для труднорастворимой субстанции ЛХС-1269 было изучено влияние различных соразтворителей на растворимость ЛХС-1269. Изучили около 30 модельных составов и установили, что в качестве основного растворителя для субстанции ЛХС-1269 необходимо использовать спиртовой раствор поливинилпирролидона (ПВП), а для получения стабильного истинного

раствора разводить полученный спиртовой раствор 5%-м раствором полисорбата-80. На основании полученных данных разработан состав и лабораторная технология получения ЛФ [12].

Проведенные нами исследования определили важность контроля следующих параметров: порядка введения ингредиентов при приготовлении спиртового раствора ЛХС-1269 и ПВП, контроля массы всех ингредиентов, объема этилового спирта 95%-го и объема раствора полисорбата-80, скорости перемешивания (400 об/мин), температуры нагревания (60 °С), времени растворения (в зависимости от объема серии).

Установлено, что время приготовления спиртового раствора ЛХС-1269 и ПВП прямо пропорционально количеству взятых ингредиентов и общему объему серии (1,5–2 ч для 160 мл, и 4 ч для 800 мл, рисунок 2). Постоянное перемешивание (400 об/мин) и нагревание (60 °С) раствора позволяют получить качественный полупродукт в виде истинного прозрачного раствора. Понижение скорости перемешивания до 200 об/мин увеличивает время растворения.

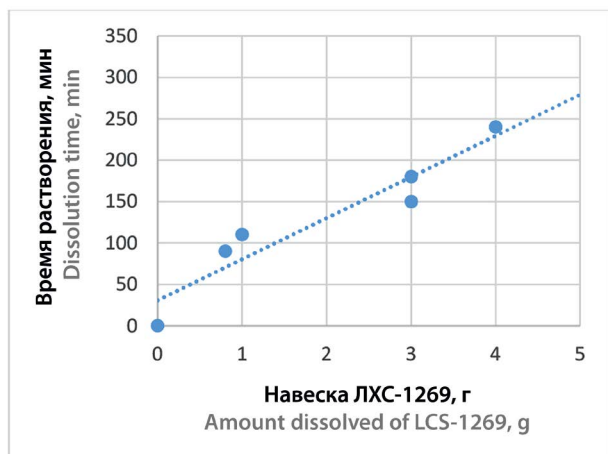


Рисунок 2. Скорость растворения субстанции ЛХС-1269 в спиртовом растворе

Figure 2. The rate of dissolution of the substance LCS-1269 in an alcohol solution

ния в 1,5–2 раза, а снижение температуры нагревания до 40 °С приводит к увеличению времени растворения в 3,5 раза.

Для получения стерильного продукта необходимо контролировать параметры фильтрации раствора (проводили под вакуумом с использованием системы Stericup, фильтр с диаметром пор 0,22 мкм), целостность фильтра, процент потерь при фильтрации в общем объеме и концентрацию действующего вещества.

Порядок введения ингредиентов в раствор и температура их растворения должны быть неизменными, попытки изменения технологии растворения не позволили получить раствор ЛХС-1269 требуемой концентрации.

При разработке режима лиофилизации определили эвтектическую температуру водно-спиртового раствора ЛХС-1269, которая составила минус 28–33 °С. Низкая температура эвтектики, а также наличие спирта в составе указывали на необходимость проведения длительного замораживания и выдерживания при низкой температуре на полке сублимационной установки после включения вакуума.

В процессе сублимационного высушивания требуется соблюдать температурный режим, контролировать скорость заморозки и нагрева камеры на всех этапах данной стадии ТП, а также давление в камере [8].

До и после лиофилизации полупродукт и конечный продукт проверяется по основным показателям качества, регламентированным действующей нормативной документацией для данной ЛФ. Такой контроль качества позволяет выявить технологический этап, на котором происходят существенные деструктивные процессы, и факторы, оказывающие максимальное воздействие на качество ЛХС-1269 и ВВ [8, 10].

Определение внешнего вида лиофилизата проводили визуально, в сомнительных случаях при выборке лиофилизата на стадии УМО применяли оптическую микроскопию (микроскоп ZEISS Axio Imager A2) в УФ-свете (темный светофильтр DF). Модельные составы всех серий лиофилизата имели кристаллическую природу (рисунок 3).

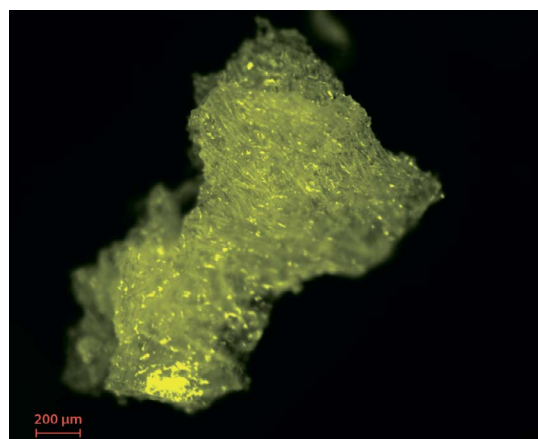


Рисунок 3. Лيوфилизат ЛХС-1269 под микроскопом (увеличение в 5 раз)

Figure 3. Lyophilisate LCS-1269 under a microscope (5x magnification)

В процессе разработки технологии получения и режима лиофилизации были определены объем флаконов и объем наполнения для лиофилизации. При объеме раствора 2 мл (10 мг действующего вещества) оптимально использовать флаконы вместимостью 10 мл, при этом толщина слоя лиофилизата составляет 0,8 см и занимает он около 25 % объема флакона. А при объеме раствора 5 мл (25 мг действующего вещества) оптимально использовать флаконы вместимостью 20 мл, при этом толщина слоя лиофилизата составляет 1 см и он занимает около 27 % объема флакона. Данные объемы заполнения флаконов были выбраны экспериментальным путем по таким параметрам, как внешний вид получаемого лиофилизата (сухая пористая масса желтого цвета), изменение содержания действующего вещества и количество (в %) флаконов с недосушенным лиофилизатом (рисунок 4, таблица 1).

Дозировка 10 мг оказалась удобной для проведения исследований по разработке аналитических методик контроля качества и для проведения исследований *in vitro* и *in vivo* на мелких животных. Для доклинических исследований с участием более крупных животных целесообразнее оказалось применение ЛС с дозировкой во флаконе 25 мг (рисунок 5).

На основании данных по экспериментальным сериям провели предварительную оценку рисков производства, оценили воздействие отдельных операций ТП на КПП готового ЛС и определили высоко-



Рисунок 4. Влияние объема флакона и объема заполнения флакона на качество лиофилизата
Figure 4. The influence of vial volume and vial filling volume on the quality of the lyophilisate

рисковые операции, которые нуждаются во внутрипроизводственном контроле. Предварительную оценку операций проводили по балльной системе (таблица 2).

Таблица 1. Влияние объема заполнения флакона и объема флакона на потери ЛХС-1269 после лиофилизации

Table 1. Effect of vial filling volume and vial volume on the loss of LCS-1269 after lyophilization

Объем раствора / объем флакона, мл Solution volume / volume of vial, ml	Уменьшение содержания ЛХС-1269 при лиофилизации, % Reduction in the content of LCS-1269 during lyophilization, %		
	желтая пористая «таблетка» yellow, porous "tablet"	«таблетка» с карамельной подложкой "tablet" with caramel base	частично недосушенная «таблетка» partially underdried "tablet"
2/10	1,1 ± 0,5	0,9 ± 0,6	7,0 ± 0,5
3/10	2,8 ± 1,5	1,4 ± 0,5	11,3 ± 0,9
4/10	1,9 ± 0,7	2,3 ± 0,7	9,8 ± 1,1
3/20	2,0 ± 0,5	1,9 ± 0,9	9,3 ± 0,5
4/20	1,3 ± 0,5	1,8 ± 0,5	8,0 ± 1,1
5/20	0,9 ± 0,9	1,1 ± 0,5	8,8 ± 0,5
6/20	1,0 ± 0,5	2,9 ± 0,6	10,7 ± 0,5
7/20	1,7 ± 0,7	2,1 ± 0,5	12,1 ± 0,2

Таблица 2. Балльная шкала для оценки критичности показателей качества ЛФ

Table 2. Scoring scale for assessing the criticality of quality indicators of a dosage form

Влияние Impact	Балл Score	Описание Description
Низкое Low	1	процессы, оказывающие незначительное влияние на показатели качества ЛФ processes that have little impact on the quality indicators of the dosage form
Среднее Average	3	процессы, оказывающие умеренное влияние processes that have a moderate impact
Высокое High	5	процессы, оказывающие значительное влияние на показатели качества ЛФ, на основе которых приводится выбраковка всей серии продукции processes that have a significant impact on the quality indicators of a dosage form, on the basis of which the entire series of products is rejected

По результатам балльного расчета рисков, представленным в таблице 3 и в графическом виде на рисунке 5, установлено, что на получение качественного продукта сильнее всего влияют стадия приготовления стерильного раствора ЛХС-1269 и процесс лиофилизации, а наиболее критичными показателями качества являются подлинность, прозрачность и pH раствора, и количественное содержание ЛХС-1269 в единице упаковки.



Рисунок 5. Графическое представление расчетной оценки рисков ЛФ «ЛХС-1269, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 25 мг»

Figure 5. Graphical representation of the calculated risk assessment of the dosage form "LCS-1269, lyophilisate for the preparation of injection solution 25 mg"

Таблица 3. Предварительная оценка рисков процесса производства ЛФ «ЛХС-1269, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 25 мг»

Table 3. Preliminary risk assessment of the manufacturing process of the dosage form "LCS-1269, lyophilisate for the preparation of injection solution 25 mg"

Определяемый показатель качества Quality indicator	Балл ¹ Score ¹	Технологический процесс Technological process			Итого ¹² Total ¹²
		Приготовление стерильного раствора ЛХС-1269 Preparation of a sterile solution of LCS-1269	Получение готового продукта (лиофилизата) Obtaining the finished product (lyophilisate)	Упаковка и маркировка Packaging and labeling	
Подлинность, в том числе время растворения Authenticity, including dissolution time	5	5	3	1	45
Однородность массы Mass uniformity	3	3	1	1	15
Прозрачность раствора Transparency of the solution	5	5	5	1	55
Цветность раствора Color of the solution	5	5	1	1	35
pH	5	5	5	1	55
Родственные примеси Related impurities	3	3	3	1	21

Определяемый показатель качества Quality indicator	Балл ¹ Score ¹	Технологический процесс Technological process			Итого 1 ² Total 1 ²
		Приготовление стерильного раствора ЛХС-1269 Preparation of a sterile solution of LCS-1269	Получение готового продукта (лиофилизата) Obtaining the finished product (lyophilisate)	Упаковка и маркировка Packaging and labeling	
Потеря в массе при высушивании Loss in mass on drying	5	1	5	1	35
Количественное определение Quantitative determination	5	5	5	1	55
Однородность дозирования Dosage uniformity	5	5	1	1	35
Итого 2 ³ Total 2 ³	41	37	31	9	

Примечание.

¹ Баллы – относительная критичность (в соответствии с разработанной шкалой).

² Итого 1 – (критичность) × (сумма оценок каждого процесса).

³ Итого 2 – сумма оценок процесса.

Note.

¹ Score – relative criticality (in accordance with the developed scale).

² Total 1 – (criticality) × (sum of ratings of each process).

³ Total 2 – sum of ratings of the process.

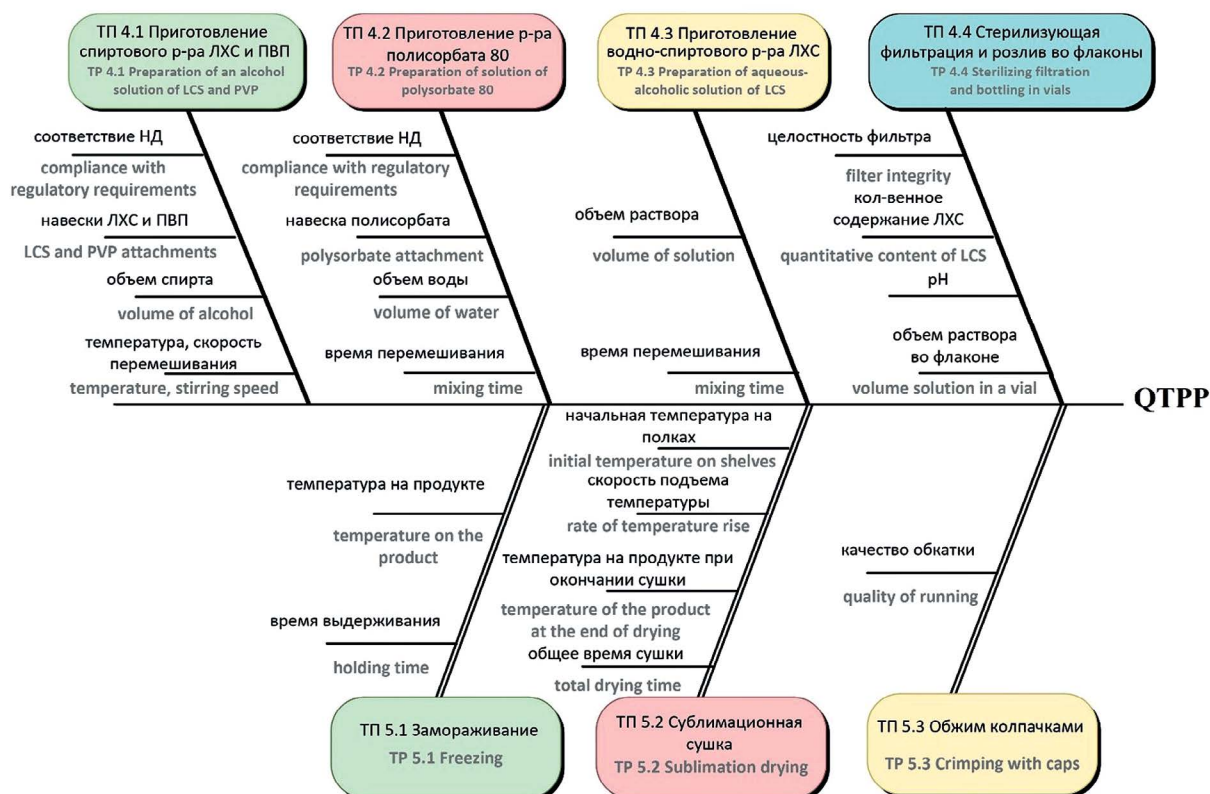


Рисунок 6. Диаграмма Исикавы технологических стадий производства лиофилизата ЛХС-1269

Figure 6. Ishikawa diagram of the technological stages of production of lyophilisate LCS-1269

Таблица 4. Уровень критичности на различных стадиях ТП ЛФ «ЛХС-1269, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций, 25 мг»

Table 4. Criticality level at various stages of the technological process of the dosage form "LCS-1269, lyophilisate for the preparation of injection solution 25 mg"

Контрольная точка Control point	Контролируемый показатель Controlled indicator	Допустимый критерий приемлемости Acceptance criterion	Уровень критичности Criticality level
ТП-4. Приготовление стерильного раствора ЛХС-1269 Technological process (TP) 4. Preparation of a sterile solution of LCS-1269			
ТП-4.1. Приготовление спиртового раствора ЛХС-1269 и ПВП TP-4.1. Preparation of an alcohol solution of LCS-1269 and polyvinylpyrrolidone (PVP)	Показатели качества ПВП, ЛХС-1269 Quality indicators of PVP, LCS-1269	Соответствие НД Compliance with regulatory documents	К C
	Масса ПВП и ЛХС-1269, объема спирта этилового 95 % Weight of PVP and LCS-1269, volume of 95 % ethyl alcohol	В зависимости от объема серии Depending on the batch volume	К C
	Температура нагревания и скорость перемешивания Heating temperature and stirring speed	60 °C, 400 об/мин 60 °C, 400 rpm	3 S
ТП-4.2. Приготовление 5%-го раствора полисорбата-80 TP-4.2. Preparation of 5 % solution of polysorbate 80	Показатели полисорбата-80 Quality indicators of polysorbate 80	Соответствие НД Compliance with regulatory documents	К C
	Масса полисорбата-80 Weight of polysorbate 80	В зависимости от объема серии Depending on the batch volume	К C
	Время перемешивания Mixing time	Не более 30 мин ≤30 min	Н I
ТП-4.3. Приготовление водно-спиртового раствора ЛХС-1269 TP-4.3. Preparation of an aqueous-alcoholic solution of LCS-1269	Объем раствора ЛХС-1269 Volume of the solution of LCS-1269	В зависимости от объема серии Depending on the batch volume	К C
	Время перемешивания Mixing time	Не более 30 мин ≤30 min	3 S
ТП-4.4. Стерилизующая фильтрация и розлив во флаконы TP-4.4. Sterilizing filtration and filling into vials	Целостность фильтра Filter integrity	Отсутствие дефектов Absence of defects	К C
	Количественное содержание ЛХС-1269 Quantitative content of LCS-1269	5 ± 0,5 мг/мл 5 ± 0.5 mg/mL	К C
	рН	3,5–4,5	К C
	Объем раствора во флаконе Volume of solution in the vial	4,7–5,3 мл 4.7–5.3 mL	3 S
ТП-5. Получение готового продукта TP-5. Obtaining the finished product			
ТП-5.1. Замораживание TP-5.1. Freezing	Температура на продукте Temperature on the product	Минус 45 °C Minus 45 °C	К C
	Время выдерживания Holding time	12–14 ч 12–14 h	К C
ТП-5.2. Сублимационная сушка TP-5.2. Freeze drying	Начальная температура на полках Initial temperature on shelves	Минус 45 °C Minus 45 °C	К C
	Скорость подъема температуры на разных стадиях сушки Rate of temperature rise at different stages of drying	1–5 °C/ч 1–5 °C/h	К C
	Температура на продукте при окончании сушки Temperature on the product at the end of drying	Плюс 20–22 °C Plus 20–22 °C	3 S
	Общее время сушки Total drying time	В зависимости от объема серии Depending on the batch volume	3 S

Контрольная точка Control point	Контролируемый показатель Controlled indicator	Допустимый критерий приемлемости Acceptance criterion	Уровень критичности Criticality level
ТП-5.3. Обжим колпачками TP-5.3. Crimping with caps	Обкатка должна быть ровной, без заусениц и вмятин The rolling should be smooth, without burrs and dents	Колпачок не должен быть деформирован и прокручиваться The cap should not be deformed or twist	3 S
УМО-6. Упаковка и оформление готовой продукции PLS-6. Packaging and labeling of finished products			
УМО-6. Упаковка и оформление готовой продукции PLS-6. Packaging and labeling of finished products	Внешний вид и механические включения Appearance and mechanical inclusions	Сухая пористая масса желтого цвета без видимых механических включений Dry porous mass of yellow color without visible mechanical inclusions	K C

Примечание. К – критический; 3 – значительный: уровень отклонений, не критичный для качества, но влияющий на эффективность и безопасность готового продукта; Н – незначительный: уровень отклонений, который может быть легко устранен.

Note. C – critical; S – significant: the level of deviations is not critical for quality, but affects the efficiency and safety of the finished product; I – insignificant: the level of deviations that can be easily eliminated.

Также для более полного анализа рисков проведен качественный анализ рисков путем установления уровня критичности на всех основных стадиях ТП (таблица 4) и привели графическое представление рисков на основных стадиях ТП в лабораторных условиях (рисунок 6).

По данным качественной оценки критичности (таблица 4), на всех стадиях ТП доминируют значительные и критические отклонения, что подтверждается проведенным анализом относительной количественной критичности и доказывает важность оценки ККТ, а также разработки стратегий по устранению или смягчению данных рисков или снижению уровня их критичности.

На основании данных проведенного риск-анализа разработана технологическая инструкция на производство лабораторных серий лиофилизата ЛХС-1269, в которой были учтены и сформированы основные ККТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной статье с помощью рискориентированного подхода были выявлены основные критические точки ТП получения лиофилизата на основе производного ЛХС-1269. Причем все стадии производственного процесса имеют высокий уровень критичности. При изучении показателей качества установлено, что наиболее критичными показателями являются количественное содержание, рН и цветность. Оценка взаимосвязи между отдельными операциями ТП, критичными параметрами качества полупродукта и готовой ЛФ показала, что все стадии ТП имеют

средний или максимальный уровень критичности. Данные критические параметры были использованы для разработки четкого порядка действия при получении лабораторных серий лиофилизата ЛХС-1269 и представлены в лабораторном регламенте. При этом в качестве основной тактики минимизации рисков выбрана стратегия четкого соблюдения производственного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тишков С. В., Блынская Е. В., Алексеев К. В., Алексеев В. К. Аспекты управления рисками для качества в фармацевтической разработке. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2023;26(3):3–10. DOI: 10.29296/25877313-2023-03-01.
2. Srishti S. A., Pinky P. P., Taylor R., Guess J., Karlik N., Janjic J. M. Quality by Design (QbD)-Driven Development and Optimization of Tacrolimus-Loaded Microemulsion for the Treatment of Skin Inflammation. *Pharmaceutics*. 2024;16(12):1487. DOI: 10.3390/pharmaceutics16121487.
3. Tabibzadeh M., Muralidharan A. Reducing Medication Errors and Increasing Patient Safety: Utilizing the Fault Tree Analysis. In: Lightner N. J., editor. *Advances in Human Factors and Ergonomics in Healthcare and Medical Devices*. Cham: Springer; 2019. P. 207–218. DOI: 10.1007/978-3-319-94373-2_23.
4. Glevitzky M., Glevitzky I., Mucea-Ştef P., Popa M., Dumitrel G.-A., Vică M. L. Integrated Risk Framework (IRF) – Interconnection of the Ishikawa Diagram with the Enhanced HACCP System in Risk Assessment for the Sustainable Food Industry. *Sustainability*. 2025;17(2):536. DOI: 10.3390/su17020536.

5. Gehring K.B., Kirkpatrick R. Hazard analysis and critical controlpoints (HACCP). In: Demirci A., Feng H., Krishnamurthy K., editors. Food safety engineering. Cham: Springer; 2020. P. 191-204. DOI: 10.1007/978-3-030-42660-6_8.
6. Lauri R., Incocciati E., Pietrangeli B., Tayou L.N., Valentino F., Gottardo M., Majone M. Hazop Analysis of a Bioprocess for Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production from Organic Waste: Part B. *Fermentation*. 2023;9(2):154. DOI: 10.3390/fermentation9020154.
7. Signoret J.P., Leroy A. Hazard and operability study (HAZOP). In: Signoret J.-P., Leroy A. Reliability assessment of safety and production systems: analysis, modelling, calculations and case studies. Cham: Springer; 2021. P. 157–164. DOI: 10.1007/978-3-030-64708-79.
8. Блынская Е. В., Тишков С. В., Алексеев К. В., Минаев С. В. Особенности фармацевтической разработки лиофилизата ГК-2 для парентерального применения. *Российский биотерапевтический журнал*. 2018;17(4):81–90. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-81-90.
9. Береговых В. В., Спицкий О. Р. Применение подхода, основанного на рисках, для определения критических факторов при переносе технологии в производстве лекарственных средств. *Вестник РАМН*. 2014;69(9–10):117–122. DOI: 10.15690/vramn.v69i9-10.1140.
10. Тишков С. В., Блынская Е. В., Алексеев К. В., Алексеев В. К. Особенности методов анализа, оценки и контроля рисков в фармацевтической разработке. *Российский биотерапевтический журнал*. 2023;22(1):28–41. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-1-28-41.
11. Nikolaeva L.L., Lantsova A.V., Sanarova, E.V., Orlova O.L., Oborotov A.V., Ignatieva E.V., Shprakh Z.S., Kulbachevskaya N.Yu., Konyaeva O.I. Development of the Composition and Technology for Obtaining a Model of an Injection Form of an Indolocarbazole Derivative. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;57:874–878. DOI: 10.1007/s11094-023-02962-6.
12. Игнатьева Е. В., Ярцева И. В., Шпрах З. С., Колпаксиди А. П., Дмитриева М. В., Ланцова А. В., Николаева Л. Л., Просалкова И. Р. Количественное определение N-гликозидного производного замещенного индоло[2,3a]карбазола в инновационных лекарственных формах. *Российский биотерапевтический журнал*. 2022;21(3):61–71. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-61-71.
13. Mazumder S., Pavurala N., Manda P., Xu X., Cruz C.N., Krishnaiah Y.S.R. Quality by Design approach for studying the impact of formulation and process variables on product quality of oral disintegrating films. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;527(1–2):151–160. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.05.048.
- for the Treatment of Skin Inflammation. *Pharmaceutics*. 2024;16(12):1487. DOI: 10.3390/pharmaceutics16121487.
3. Tabibzadeh M., Muralidharan A. Reducing Medication Errors and Increasing Patient Safety: Utilizing the Fault Tree Analysis. In: Lightner N.J., editor. Advances in Human Factors and Ergonomics in Healthcare and Medical Devices. Cham: Springer; 2019. P. 207–218. DOI: 10.1007/978-3-319-94373-2_23.
4. Glevitzky M., Glevitzky I., Mucea-Ştef P., Popa M., Dumitrel G.-A., Vică M. L. Integrated Risk Framework (IRF) – Interconnection of the Ishikawa Diagram with the Enhanced HACCP System in Risk Assessment for the Sustainable Food Industry. *Sustainability*. 2025;17(2):536. DOI: 10.3390/su17020536.
5. Gehring K.B., Kirkpatrick R. Hazard analysis and critical controlpoints (HACCP). In: Demirci A., Feng H., Krishnamurthy K., editors. Food safety engineering. Cham: Springer; 2020. P. 191-204. DOI: 10.1007/978-3-030-42660-6_8.
6. Lauri R., Incocciati E., Pietrangeli B., Tayou L.N., Valentino F., Gottardo M., Majone M. Hazop Analysis of a Bioprocess for Polyhydroxyalkanoate (PHA) Production from Organic Waste: Part B. *Fermentation*. 2023;9(2):154. DOI: 10.3390/fermentation9020154.
7. Signoret J.P., Leroy A. Hazard and operability study (HAZOP). In: Signoret J.-P., Leroy A. Reliability assessment of safety and production systems: analysis, modelling, calculations and case studies. Cham: Springer; 2021. P. 157–164. DOI: 10.1007/978-3-030-64708-79.
8. Blynskaya E. V., Tishkov S. V., Alekseyev K. V., Minaev S. V. Features pharmaceutical development lyophilisate GK-2 for parenteral use. *Russian Journal of Biotherapy*. 2018;17(4):81–90. (In Russ.) DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-4-81-90.
9. Beregovykh V. V., Spitskii O. R. Application of risk-based approach for determination of critical factors in technology transfer of production of medicinal products. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2014;69(9–10):117–122. (In Russ.) DOI: 10.15690/vramn.v69i9-10.1140.
10. Tishkov S. V., Blynskaya E. V., Alekseev K. V., Alekseev V. K. Features of risk analysis, assessment and control methods in pharmaceutical development. *Russian Journal of Biotherapy*. 2023;22(1):28–41. (In Russ.) DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-1-28-41
11. Nikolaeva L.L., Lantsova A.V., Sanarova, E.V., Orlova O.L., Oborotov A.V., Ignatieva E.V., Shprakh Z.S., Kulbachevskaya N.Yu., Konyaeva O.I. Development of the Composition and Technology for Obtaining a Model of an Injection Form of an Indolocarbazole Derivative. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;57:874–878. DOI: 10.1007/s11094-023-02962-6.
12. Ignatieva E. V., Yartseva I. V., Shprakh Z. S., Kolpaksidi A. P., Dmitrieva M. V., Lantsova A. V., Nikolaeva L. L., Prosalkova I. R. Quantitative determination of the N-glycoside derivative of substituted indolo[2,3a]carbazole in innovative dosage forms. *Russian Journal of Biotherapy*. 2022;21(3):61–71. (In Russ.) DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-61-71.
13. Mazumder S., Pavurala N., Manda P., Xu X., Cruz C.N., Krishnaiah Y.S.R. Quality by Design approach for studying the impact of formulation and process variables on product quality of oral disintegrating films. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;527(1–2):151–160. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.05.048.

REFERENCES



Разработка эффективных технологий выделения органического кальция из отходов переработки арктических креветок

А. Н. Шиков¹✉, У. К. Ф. Ахуну¹✉✉, А. А. Калета¹, Ю. Э. Генералова¹,
И. И. Тернинко¹, И. Е. Смехова¹, О. Н. Пожарицкая²

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, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Мурманский морской биологический институт Российской академии наук (ММБИ РАН). 183038, Россия, г. Мурманск, ул. Владимирская, д. 17

✉ Контактное лицо: Шиков Александр Николаевич. E-mail: alexander.shikov@pharminnotech.com

✉✉ Контактное лицо: Ахуну Уриель Кристель Феми. E-mail: ahunu.uriel@spcpcu.ru

ORCID: А. Н. Шиков – <https://orcid.org/0000-0003-4351-0695>;
У. К. Ф. Ахуну – <https://orcid.org/0009-0002-4058-7259>;
А. А. Калета – <https://orcid.org/0000-0002-0979-2281>;
Ю. Э. Генералова – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>;
И. И. Тернинко – <https://orcid.org/0000-0002-2942-1015>;
И. Е. Смехова – <https://orcid.org/0000-0002-0013-4784>;
О. Н. Пожарицкая – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Статья поступила: 26.02.2026

Статья принята в печать: 20.03.2026

Статья опубликована: 04.05.2026

Резюме

Введение. Кальций является ключевым макроэлементом, обеспечивающим минеральную плотность костей, функционирование мышечной и сердечно-сосудистой систем, а также участвует в ферментативных и нейротрансмиттерных процессах. Дефицит кальция широко распространен и ассоциирован с развитием остеопороза и других метаболических нарушений. Прием лекарственных препаратов кальция позволяет компенсировать его недостаток в организме пациентов и способствовать профилактике и терапии заболеваний. В контексте устойчивого развития возрастает интерес к разработке технологии выделения органических солей кальция из морских биоресурсов для получения лекарственных препаратов.

Цель. Разработать и сравнить технологии выделения органических солей кальция из отходов производства арктических креветок *Pandalus borealis* и оценить состав и чистоту полученных продуктов.

Материалы и методы. В качестве сырья использовали панцири варено-мороженных креветок *Pandalus borealis*, являющиеся отходом пищевого производства. Сравнили две технологии экстракции кальция: (1) прямую деминерализацию органическими кислотами (лимонной, яблочной, молочной) и (2) с предварительным обезжириванием сырья этанолом. Количественное определение кальция (Ca) и других элементов проводили методом оптической эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП). Для оценки безопасности рассчитывали коэффициент опасности (HQ).

Результаты и обсуждение. Установлено, что максимальный выход кальция достигается с использованием лимонной кислоты ($153,0 \pm 10,3$ мг Ca/г). Яблочная и молочная кислоты показали меньшую эффективность. Предварительное обезжиривание сырья снижало выход Ca в среднем на 2,2 %, однако липидная фракция представляет интерес как источник каротиноидов и других природных липидов. Токсичные элементы (Pb, Cd, Ni, Cr, As) либо не детектировались, либо их концентрация была ниже предела количественного определения. Содержание сопутствующих элементов (Mg, Zn, Fe, Cu и Mn) было ниже токсичного уровня (расчетный HQ < 1). Употребление выделенных продуктов Ca позволит обеспечить обогащение пищевого рациона некоторыми микроэлементами.

Заключение. Панцири арктических креветок являются ценным источником органического кальция для получения экологически безопасных и физиологически сбалансированных солей – цитрата, малата и лактата кальция. Полученные соли кальция не загрязнены токсичными элементами и могут использоваться в фармацевтической и пищевой промышленности.

© Шиков А. Н., Ахуну У. К. Ф., Калета А. А., Генералова Ю. Э., Тернинко И. И., Смехова И. Е., Пожарицкая О. Н., 2026

© Shikov A. N., Ahounou U. K. F., Kaleta A. A., Generalova Yu. E., Terninko I. I., Smekhova I. E., Pozharitskaya O. N., 2026

Ключевые слова: кальций, органические соли кальция, арктические креветки, *Pandalus borealis*, деминерализация, элементный анализ, АЭС-ИСП

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

Вклад авторов. А. Н. Шиков – идея статьи, оценка актуальности и научной значимости, обсуждение полученных результатов, подготовка и корректировка текста статьи и ее окончательная проверка. У. К. Ф. Ахуну – подготовка обзора литературы, планирование эксперимента, сбор и анализ данных, обсуждение полученных результатов, подготовка и корректировка текста статьи. А. А. Калета – подготовка обзора литературы, обсуждение полученных результатов, подготовка и корректировка текста статьи и ее окончательная проверка. Ю. Э. Генералова и И. И. Тернинко – планирование эксперимента, сбор и анализ данных, обсуждение полученных результатов. И. Е. Смехова – оценка актуальности и научной значимости, обсуждение полученных результатов. О. Н. Пожарицкая – подготовка обзора литературы, систематизация и анализ экспериментальных данных, обсуждение полученных результатов, подготовка и корректировка текста статьи и ее окончательная проверка. Все авторы участвовали в написании текста статьи, в обсуждении результатов.

Для цитирования: Шиков А. Н., Ахуну У. К. Ф., Калета А. А., Генералова Ю. Э., Тернинко И. И., Смехова И. Е., Пожарицкая О. Н. Разработка эффективных технологий выделения органического кальция из отходов переработки арктических креветок. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):92–102. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2302>

Development of effective technologies for extraction of organic calcium from arctic shrimp processing waste

Alexander N. Shikov¹✉, Urielle K. F. Ahounou¹✉✉, Alyona A. Kaleta¹, Yuliya E. Generalova¹, Inna I. Terninko¹, Irina E. Smekhova¹, Olga N. Pozharitskaya²

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

² Murmansk Marine Biological Institute of the Russian Academy of Sciences (MMBI RAS). 17, Vladimirskaia str., Murmansk, 183038, Russia

✉ **Corresponding author:** Alexander N. Shikov. **E-mail:** alexander.shikov@pharminnotech.com

✉✉ **Corresponding author:** Urielle K. F. Ahounou. **E-mail:** ahunu.uriel@spcpu.ru

ORCID: Alexander N. Shikov – <https://orcid.org/0000-0003-4351-0695>;
Urielle K. F. Ahounou – <https://orcid.org/0009-0002-4058-7259>;
Alyona A. Kaleta – <https://orcid.org/0000-0002-0979-2281>;
Yuliya E. Generalova – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>;
Inna I. Terninko – <https://orcid.org/0000-0002-2942-1015>;
Irina E. Smekhova – <https://orcid.org/0000-0002-0013-4784>;
Olga N. Pozharitskaya – <https://orcid.org/0000-0003-1061-0665>.

Received: 26.02.2026

Accepted: 20.03.2026

Published: 04.05.2026

Abstract

Introduction. Calcium is a key macroelement that ensures bone mineral density, muscle and cardiovascular function, and is involved in enzymatic and neurotransmitter processes. Calcium deficiency is widespread and associated with the development of osteoporosis and other metabolic disorders. The administration of medicinal preparations with calcium compensates its deficiency in patients and contribute to disease prevention and treatment. In the context of sustainable development, there is growing interest in new technologies for isolating organic calcium salts from marine bioresources for medicinal use.

Aim. To develop and compare technologies for extraction of organic calcium from the shells of Arctic shrimp *Pandalus borealis* (a waste of food industry), and to evaluate the composition and purity of the obtained products.

Materials and methods. The shells of cooked-frozen Arctic shrimps *Pandalus borealis* were processed by two calcium extraction technologies: (1) direct demineralization with organic acids (citric, malic and lactic) and (2) preliminary defatting of the raw material with ethanol followed by demineralization. Quantitative analysis of calcium (Ca) and other elements was performed by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES). A hazard quotient (HQ) was calculated for safety assessments.

Results and discussion. It was found that the maximum calcium yield was achieved after demineralization with citric acid (153.0 ± 10.3 mg Ca/g). Malic and lactic acids showed less efficiency. Preliminary defatting reduced the Ca yield by an average of 2.2 %; however, the lipid fraction is of interest as a source of carotenoids and other natural lipids. Toxic elements (Pb, Cd, Ni, Cr, As) were either not detected or their concentrations were below the limit of quantification. The content of associated elements (Mg, Zn, Fe, Cu, and Mn) was below the toxic level (calculated $HQ < 1$). Consumption of isolated Ca products will provide enrichment of the dietary intake with certain microelements.

Conclusion. The shells of Arctic shrimps are a valuable source of organic calcium for the environmentally friendly production of physiologically balanced calcium salts – calcium citrate, malate, and lactate. The resulting calcium salts are not polluted with toxic elements and can be used in the pharmaceutical and food industries.

Keywords: calcium, organic calcium salts, arctic shrimp, *Pandalus borealis*, demineralization, elements analysis, ICP-OES

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. Alexander N. Shikov – idea of the study, assessment of relevance and scientific significance, results discussion, writing and correction of the article and its final verification. Urielle K. F. Ahounou – preparation of a literature review, planning of an experiment, collection and analysis of data, discussion of the results, writing and correction of the article. Alyona A. Kaleta – preparation of a literature review, discussion of the results, writing and correction of the article and its final verification. Yuliya E. Generalova and Inna I. Terninko – experiment planning, data collection and analysis, discussion of the results. Irina E. Smekhova – assessment of relevance and scientific significance, discussion of the results. Olga N. Pozharitskaya – preparation of a literature review, systematization and analysis of experimental data, discussion of the results, writing and correction of the article and its final verification. All authors contributed to writing the article and discussing the results.

For citation: Shikov A. N., Ahounou U. K. F., Kaleta A. A., Generalova Yu. E., Terninko I. I., Smekhova I. E., Pozharitskaya O. N. Development of effective technologies for extraction of organic calcium from arctic shrimp processing waste. *Drug development & registration*. 2026;15(2):92–102. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2302>

ВВЕДЕНИЕ

Кальций является одним из ключевых макроэлементов, участвующих в поддержании минеральной плотности костей, работе мышечной и сердечно-сосудистой систем, а также в ряде ферментативных и нейротрансмиссивных процессов. Несмотря на его важность, по оценкам, более 3,5 миллиарда человек в мире сталкиваются с дефицитом кальция [1], что связано с ограниченным потреблением молочных продуктов, низкой долей обогащенной пищи и региональными особенностями рациона [2]. Дефицит кальция напрямую ассоциируется с развитием остеопороза, рахита и остеомалации [3], приводит к ускорению развития атеросклероза [4], увеличению рисков преэклампсии у беременных женщин [5].

Поступление кальция в организм из пищи может быть ограничено, поскольку элемент медленно усваивается совместно с жирами и белками в результате длительного опорожнения желудка. Напротив, прием препаратов кальция натошак способствует повышению его концентрации в циркулирующем кровотоке и сохранению в течение 8 часов [6]. Суточная норма потребления кальция составляет для мужчин возраста 18–60 лет 1000 мг, возраста 60 лет и старше – 1200 мг, для женщин возраста 18–60 лет – 1000 мг, при беременности и лактации – 1300–1400 мг.

Важной задачей является разработка препаратов кальция, которые рекомендуется дополнительно принимать для нормализации недостатка данного элемента в организме. С этой целью чаще всего применяют кальция цитрат и карбонат [7]. Доступны другие соли кальция: фосфат, глюконат, фумарат, малат, лактат и их смешанные соли, например лактат-малат кальция или лактат-цитрат кальция [8]. В Государственном реестре лекарственных средств на

февраль 2026 года зарегистрированы препараты в виде твердых лекарственных форм: кальция глюконата в дозировке 500 мг, кальция карбоната совместно с витамином D₃ в дозировках 500, 600 мг, кальция карбоната в комбинации с кальция лактоглюконатом в дозировке 500 мг.

Карбонат кальция содержит высокий процент элементарного кальция, однако его абсорбция зависит от уровня кислотности желудочного сока и требует приема с пищей, что ограничивает его эффективность у пожилых пациентов и лиц, принимающих антациды. В отличие от него, цитрат кальция всасывается независимо от кислотности, обладает высокой биодоступностью и лучше переносится организмом в таких условиях [4, 7]. Смешанные соли цитрат-малат кальция, цитрат-лактат кальция, малат-лактат кальция имеют более высокую биодоступность по сравнению с другими солями [9, 10]. Часто соли кальция выделяют из известняка [11]. Однако методы выделения из известняка сопровождаются высоким расходом энергии и не соответствуют принципам устойчивого развития. Следует разрабатывать подходы, которые позволяют снизить загрязнение окружающей среды и повысить содержание конечного продукта [12]. На этом фоне возрастает интерес к альтернативным источникам и технологиям получения солей кальция, использующим нетоксичные пищевые органические кислоты (лимонную, яблочную, молочную) и «зеленые» растворители. Такими источниками солей кальция являются рыбные субпродукты, раковины улиток и устриц, морские водоросли, яичная скорлупа, кости животных и коралловые отложения [11, 12]. Исследования показывают возможность получения лактата кальция с высоким уровнем чистоты и пригодностью для фармацевтического применения из панцирных отходов раков [13].

Основными промысловыми видами креветок в России являются северная (*Pandalus borealis* Krøyer, 1838) и гребенчатая (*Pandalus hypsinotus* Brandt, 1851). Продажи креветок в России, по данным анализа рынка ООО «БизнесСтат», за 2022 год составили 66,9 тыс. тонн. 50–70 % от данного количества являются отходами – панцирь, головогрудь, ходильные и плавательные ноги, антенны, которые образуются при промышленной переработке креветок. Большой процент от массы креветки занимает панцирь. При этом утилизируют отходы следующим образом: их сжигают, закапывают, сушат на корм домашним птицам или просто сбрасывают обратно в море. Однако это может являться одной из причин экологических проблем [14].

Панцири креветок состоят из трех основных компонентов: белка (20–40 %), карбоната кальция (20–40 %) и хитина (15–40 %), а также небольшого количества липидов и пигментов [15]. Основными минеральными компонентами в панцирях креветок являются кальций и фосфор, на долю которых приходится около 45 и 7 % общего содержания минералов соответственно [16]. Таким образом, панцири креветок обладают значительным потенциалом как природный источник кальция. Кальций в них естественным образом представлен в виде карбоната кальция, тесно связанного с минерализованной белковой матрицей хитинового комплекса, и обычно удаляется из панциря креветок во время производства хитина [14]. В таком процессе сильная кислота, такая как хлористоводородная, используется для максимального растворения минералов из панциря. В некоторых исследованиях для деминерализации панцирей морских организмов предложено использовать органические кислоты (уксусную, лимонную, и др.), а также их комбинации [16, 17]. В контексте устойчивого развития возрастает интерес к разработке технологии выделения органических солей кальция из морских биоресурсов для получения лекарственных препаратов. Данная технология позволит получать продукт с добавленной стоимостью из отходов производства и будет способствовать снижению экологического загрязнения с точки зрения зеленой экономики замкнутого цикла.

Целью исследования была разработка и сравнение технологий выделения органических солей кальция из отходов производства арктических креветок *Pandalus borealis*, оценка состава и чистоты полученных продуктов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали отходы панцирей арктической варено-мороженой креветки *P. borealis*, оставшиеся в результате разделки и хранившиеся при температуре –18 °С. Предварительно панцири промывали проточной водой, сушили при 60 °С в течение 2 ч, затем измельчали до однородного порошка с размером частиц 1–2 мм.

Деминерализацию проводили с использованием кислот: лимонной (≥99 %, АО «ЛенРеактив», Россия), яблочной (≥99 %, ООО «НеваРеактив», Россия) и молочной (≥89 %, ООО «НеваРеактив», Россия). Для обезжиривания использовали спирт этиловый 96%-й (АО «БЕКТОН», Россия).

Органические соли кальция выделяли, используя две технологии. Порошок панцирей (5 г) помещали в коническую колбу, добавляли 50 мл раствора кислоты. Смесь перемешивали на магнитной мешалке при температуре 60 °С в течение 2 ч. Твердый остаток отфильтровывали. Фильтрат концентрировали при 80 °С, охлаждали до 2–4 °С для выпадения кристаллического осадка. Полученный осадок солей кальция отфильтровывали, промывали ледяной водой очищенной и сушили при 60 °С до постоянной массы.

По второй технологии порошок панцирей (5 г) обрабатывался 96%-м этанолом (1:10) при 60 °С в течение 2 ч при перемешивании. Смесь отфильтровывали, твердый остаток промывали водой очищенной, высушивали и далее обрабатывали растворами кислот, как указано выше.

Соли кальция, выделенные из панцирей в присутствии лимонной, молочной или яблочной кислот, были обозначены как CaCi, CaLa и CaMa соответственно. При использовании предварительного обезжиривания соли были обозначены DCaCi, DCaLa и DCaMa как продукты взаимодействия с лимонной, молочной или яблочной кислотами соответственно. Выход рассчитывали на основе массы продукта и концентрации элементарного кальция.

Количественное определение элементов проводилось методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) на анализаторе Optima 8000 (PerkinElmer, Inc., США). Условия проведения анализа: интеграция – 1 с, 5 повторов интегрирования, скорость потока плазмообразующего газа – 10 л/мин, скорость потока дополнительного газа – 0,2 л/мин, скорость потока газа для распыления пробы – 0,7 л/мин, мощность плазмы – 1300 Вт, положение обзора эмиссии: радиальное – для K, Na, Mg, Ca; аксиальное – для остальных элементов, скорость подачи образца – 1,5 мл/мин.

Подготовка образца для анализа: 3,0 мл 65%-й свежеперегнанной азотной кислоты (х.ч., АО «БЕКТОН», Россия) помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки деионизованной водой. В качестве стандартного образца использовали PerkinElmer Pure VIII с концентрацией всех ионов 100 мг/л (кат. № 9303942, годен до 05.2026, PerkinElmer, Inc., США). Калибровочные растворы готовили с концентрациями 0,1; 1,0 и 10,0 мг/л. Испытуемый раствор: около 150 мг (точная навеска) образца солей кальция помещали в реактор, добавляли 3,0 мл 65%-й свежеперегнанной азотной кислоты. Проводили микроволновое разложение пробы. После охлаждения полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл

и доводили до метки деионизированной водой. Для определения содержания стронция и кальция испытуемый раствор разбавляли в 100 раз.

Оценку риска развития канцерогенных эффектов при длительном употреблении солей кальция проводили в соответствии с руководством Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Р 2.1.10.3968-23. Руководство по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих среду обитания) на основании расчета коэффициента опасности (HQ – Hazard Quotient) отдельно для каждой пробы полученной соли кальция как для взрослого, так и для детского населения (в возрасте до 6 лет) по формулам, указанным в [18]. Характеристика неканцерогенного риска (HI) проводится по результатам расчетов HQ в соответствии с принятой классификацией уровней риска [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние типа кислоты и предварительного обезжиривания на эффективность извлечения кальция из панцирных отходов креветок

Данные по оценке влияния типа кислоты и предварительной стадии обезжиривания на выход солей кальция при деминерализации панцирей креветок представлены на рисунке 1.

Эффективность извлечения кальция из отходов панцирей креветок варьировала в зависимости от природы кислоты и технологии. Сравнительный анализ данных (см. рисунок 1) показал, что лимонная кислота обеспечивает наибольший выход кальция среди трех исследованных кислот, далее следуют молочная и яблочная кислоты.

Данное явление можно объяснить различной способностью органических кислот к комплексообразованию с ионами Ca^{2+} . Лимонная кислота, содержащая три карбоксильные группы и один гидроксил, образует наиболее устойчивые комплексы с кальцием, что способствует выделению цитрата кальция [20]. Яблочная кислота, содержащая две карбоксильные группы, также проявляет заметную способность к комплексообразованию, но выход солей кальция ниже [21]. Яблочная кислота демонстрирует схожую эффективность деминерализации панцирей с молочной кислотой, имеющей одну карбоксильную группу (см. рисунок 1).

В случае технологии 1 (без предварительного обезжиривания) средние значения выхода кальция составили: $153,0 \pm 10,3$ мг/г абсолютно сухой массы (а.с.м.) для цитрата, $105,6 \pm 12,3$ мг/г а.с.м. для лактата и $96,3 \pm 0,8$ мг/г а.с.м. для малата. Таким образом, для технологии 1 наибольший выход кальция обеспечивает лимонная кислота, что подтверждает ее высокую хелатирующую способность и эффективность при мягкой деминерализации панцирей.

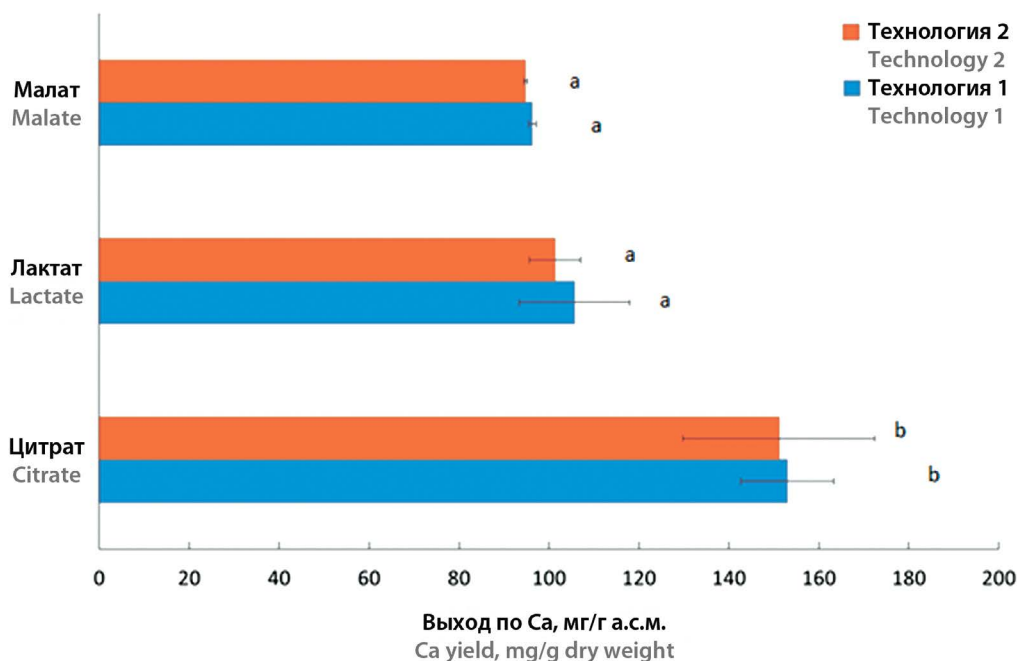


Рисунок 1. Эффективность извлечения солей кальция при применении различных органических кислот и обезжиривания. Технология 1 – без обезжиривания панцирей, технология 2 – с обезжириванием (среднее $\pm$ SD, $n = 3$, различные буквы означают статистически значимые различия для разных солей, $p < 0,05$)

Figure 1. Efficiency of calcium salts extraction using different organic acids. Technology 1 – without defatting of shells, Technology 2 – with defatting (mean $\pm$ SD, $n = 3$, different letters indicate statistically significant differences for different salts, $p < 0.05$)

В результате применения предварительного обезжиривания панцирей выход кальция несколько снизился: $151,2 \pm 21,3$ мг/г а.с.м. для цитрата, $101,3 \pm 5,6$ мг/г а.с.м. для лактата и $94,7 \pm 0,4$ мг/г а.с.м. для малата. Предварительное обезжиривание снижало выход Са в среднем на 2,2 %, но эта разница в содержании Са была статистически незначима. Следует отметить, что полученная при обезжиривании панцирей липидная фракция может представлять интерес как источник каротиноидов и других природных липидов, что заслуживает отдельного изучения.

Результаты настоящего исследования согласуются с предыдущим [22], где было показано, что использование многоосновных органических кислот – прежде всего лимонной – является предпочтительным для получения фармацевтически пригодных солей кальция из морских отходов.

Чистота и элементный состав полученных солей кальция

Результаты элементного анализа (АЭС-ИСП) показали наличие в полученных солях кальция следовых примесей ионов магния (Mg), цинка (Zn), железа (Fe), меди (Cu), натрия (Na), бария (Ba) и марганца (Mn) (таблица 1). Все указанные элементы относятся к категории эссенциальных и играют важную роль в физиологических процессах: участвуют в функционировании ферментов, в формировании костной ткани и антиоксидантной защите организма. Это позволяет рассматривать присутствие данных ионов как положительный фактор, повышающий ценность конечного продукта [23].

Обобщенные результаты элементного состава солей кальция, полученных по технологии 1 и 2, приведены в таблице 1.

Концентрации токсичных тяжелых металлов – свинца (Pb), кадмия (Cd), никеля (Ni), хрома (Cr) и мышьяка (As) – были ниже предела количественного определения в исходных образцах панцирей и в целевых продуктах. Это свидетельствует о соответствии сырья и готовых продуктов требованиям решения Коллегии ЕЭК от 04.10.2022 № 138 «Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей» по контролю элементных примесей.

Влияние типа кислоты на чистоту продуктов

Сравнение элементных профилей (таблица 2) показало, что соли кальция, полученные с использованием лимонной и яблочной кислот (CaCi, DCaCi, CaMa, DCaMa), характеризуются наивысшей степенью чистоты и содержат минимальные количества примесных элементов. Это объясняется способностью трикарбоновой структуры лимонной кислоты или ди-

карбоновой структуры яблочной кислоты эффективно хелатировать катионы металлов и способствовать селективному осаждению цитрата кальция высокой чистоты (98,9–99,1 %) по сравнению с молочной кислотой (96,2–99,2 %).

Соли, выделенные с использованием яблочной кислоты (CaMa, DCaMa), содержат умеренные количества микроэлементов, прежде всего цинка (Zn), марганца (Mn) и бария (Ba). В свою очередь, лактат кальция (CaLa, DCaLa) характеризуется несколько более высоким содержанием следов магния (Mg) и натрия (Na), что может быть связано с меньшей устойчивостью комплексов лактата и частичным сорбционным удержанием этих элементов из раствора.

Кроме того, во всех сериях, где проводилось предварительное обезжиривание (группы DCa-), отмечается незначительное уменьшение содержания меди (Cu) и железа (Fe) (таблица 2), что может объясняться изменением структуры поверхности частиц кальциевых солей после обработки растворителем.

Оценка риска для здоровья

Для оценки безопасности и физиологической значимости полученных солей кальция были рассчитаны теоретические суточные дозы микроэлементов при условии потребления 1000 мг Са в сутки. Результаты представлены в таблице 3.

Анализ результатов (таблица 3) показал, что средние концентрации со-экстрагированных элементов в полученных солях кальция варьировали в пределах физиологически безопасных значений, а рассчитанные суточные дозы – существенно ниже допустимых уровней, установленных ВОЗ и решением Коллегии ЕЭК от 04.10.2022 № 138 «Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей». Наибольшие значения отмечены для магния (Mg) и стронция (Sr), что отражает природное происхождение исходного биоматериала.

На основе теоретического ежедневного потребления солей кальция, соответствующего 1000 мг элементарного Са, и концентрации элементов, обнаруженных в образцах, был рассчитан потенциальный риск для здоровья детей и взрослых. Известно, что панцирь креветок накапливает различные элементы, включая и токсичные [24]. Поэтому регулярное потребление продуктов на основе природного сырья может представлять особый риск. На рисунке 2 показаны предполагаемые неканцерогенные риски, связанные с потреблением металлов, которые могут возникнуть при употреблении в пищу солей кальция, полученных деминерализацией панцирей креветок *P. borealis*.

При этом все рассчитанные индексы HQ оказались значительно ниже 1 ($HQ \leq 1$), что свидетельствует об отсутствии токсического риска.

Таблица 1. Концентрации элементов (мг/кг а.с.м.) в образцах солей кальция, полученных из отходов креветок (среднее $\pm$ SD, $n = 3$)
Table 1. Element concentrations (mg/kg dry weight) in calcium samples obtained from shrimp waste (mean $\pm$ SD, $n = 3$)

Элемент Element	ПКО, мг/кг LOQ, mg/kg	Среднее $\pm$ SD Mean $\pm$ SD	Диапазон (min – max) Range (min – max)	CaCi	DCaCi	CaLa	DCaLa	CaMa	DCaMa
Al	1,6	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Ba	0,016	1,5 $\pm$ 1,2	0,1–3,4	1,9 $\pm$ 1,5	2,0 $\pm$ 0,8	2,5 $\pm$ 1,5	0,8 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,3	0,1 $\pm$ 0,02
Ca	1,9	116976 $\pm$ 27425	91450–175700	152966 $\pm$ 10286	151133 $\pm$ 21296	101303 $\pm$ 5650	105617 $\pm$ 12283	96060 $\pm$ 731	94777 $\pm$ 398
Cd	0,23	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Co	0,12	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Cr	0,13	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Cu	0,37	6,1 $\pm$ 4,4	0,9–16,9	8,4 $\pm$ 1,4	5,5 $\pm$ 1,1	13,6 $\pm$ 4,0	3,0 $\pm$ 1,7	4,0 $\pm$ 0,0	1,9 $\pm$ 0,9
Fe	0,098	7,4 $\pm$ 8,7	0,9–36,9	18,4 $\pm$ 16,4	6,4 $\pm$ 4,5	9,4 $\pm$ 7,2	1,9 $\pm$ 1,5	3,2 $\pm$ 3,2	5,1 $\pm$ 5,0
K	4	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Mg	1,7	489 $\pm$ 805	13,8–2875	116,3 $\pm$ 86,7	63,1 $\pm$ 23,6	1935 $\pm$ 1029	568 $\pm$ 117	86,9 $\pm$ 71,7	29,9 $\pm$ 26,7
Mn	0,058	0,8 $\pm$ 0,6	0,2–2,1	0,8 $\pm$ 0,6	1,2 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1
Na	2	619 $\pm$ 785,4	18,6–2238,0	208,3 $\pm$ 232,7	< ПКО	1423,2 $\pm$ 728,7	27,0 $\pm$ 9,3	< ПКО	< ПКО
Ni	0,3	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Pb	4,6	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО	< ПКО
Sr	0,026	786 $\pm$ 461	200–1996	975 $\pm$ 192	1522 $\pm$ 430	581 $\pm$ 218	227 $\pm$ 24	800 $\pm$ 265	613 $\pm$ 170
Zn	0,17	6,9 $\pm$ 3,8	2,1–12,9	6,6 $\pm$ 2,6	7,1 $\pm$ 5,0	10,1 $\pm$ 1,8	2,1 $\pm$ 0,0	< ПКО	< ПКО

Примечание. < ПКО – ниже предела количественного определения (ПКО).
Note. < LOQ – below the limit of quantification (LOQ).

Таблица 2. Чистота солей кальция и содержание сопутствующих элементов в зависимости от технологии получения (среднее $\pm$ SD, $n = 3$)
Table 2. Purity of calcium salts and content of co-extracted elements depending on the technology of extraction (mean $\pm$ SD, $n = 3$)

Образец Sample	Содержание элемента, % Content of element, %								
	Ba	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Na	Sr	Zn
CaCi	0,00076 ± 0,0009	99,14 ± 0,22	0,0054 ± 0,0005	0,0124 ± 0,0114	0,075 ± 0,008	0,0005 ± 0,0003	0,129 ± 0,138	0,63 ± 0,08	0,0042 ± 0,0014
DCaCi	0,00133 ± 0,0006	98,92 ± 0,33	0,0036 ± 0,0009	0,0044 ± 0,0034	0,042 ± 0,019	0,0008 ± 0,0003	0,007 ± 0,001	1,01 ± 0,34	0,0049 ± 0,0038
DCaLa	0,00082 ± 0,0003	99,21 ± 0,20	0,0028 ± 0,0014	0,0019 ± 0,0017	0,547 ± 0,017	0,0004 ± 0,0001	0,021 ± 0,014	0,21 ± 0,01	0,0014 ± 0,0011
CaLa	0,00242 ± 0,0015	96,21 ± 1,82	0,0128 ± 0,0033	0,0089 ± 0,0065	1,85 ± 0,10	0,0014 ± 0,0005	1,351 ± 0,67	0,55 ± 0,21	0,0096 ± 0,0017
CaMa	0,00025 ± 0,0003	99,10 ± 0,33	0,0041 ± 0,0001	0,0033 ± 0,0033	0,06 ± 0,03	0,0003 ± 0,0001	0,010 ± 0,000	0,82 ± 0,27	0,0002 ± 0,0000
DCaMa	0,00006 ± 0,00001	99,31 ± 0,20	0,002 ± 0,0009	0,0053 ± 0,0053	0,031 ± 0,008	0,0003 ± 0,0001	0,010 ± 0,000	0,64 ± 0,17	0,0002 ± 0,0000

Таблица 3. Концентрации элементов группы с максимальным содержанием кальция и расчетные суточные дозы при потреблении 1000 мг Са

Table 3. Concentrations of elements in the calcium salt with the maximum calcium content, and estimated daily intakes for a 1000 mg Ca intake

Элемент Element	Соль кальция (макс.) Salt of calcium (max)	Диапазон концентраций (min – max, мг/г соли) Range of concentration (min – max, mg/g salt)	Суточная доза по оценке риска, мг/сут Daily dose for risk assessment, mg/day	Рекомендуемая норма, мг/сут Recommended dose, mg/day
Ba	CaLa	0,0005–0,0248	200	–
Ca	DCaMa	–	2500	1000
Cu	DCaLa	0,020–0,134	3	1,0
Fe	CaCi	0,018–0,12	45	10 (для мужчин) / 18 (для женщин) 10 (for men) / 18 (for women)
Mg	DCaLa	0,31–19,11	800	400
Mn	DCaLa	0,0029–0,0149	11	2,0
Na	DCaLa	< ПКО – 14,05 < LOQ – 14,05	–	1300
Sr	DCaCi	2,15–10,07	11	–
Zn	DCaLa	< ПКО – 0,0994 < LOQ – 0,0994	25	12

Примечание. < ПКО – ниже предела количественного определения (ПКО).

Note. < LOQ – below the limit of quantification (LOQ).

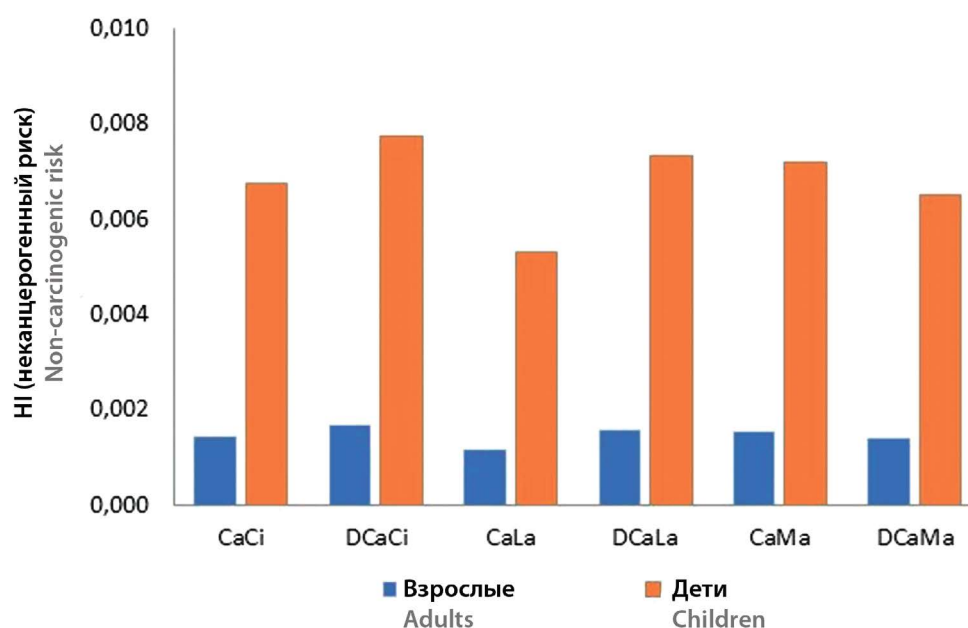


Рисунок 2. Неканцерогенные риски (HI) для солей кальция, полученных из отходов панцирей креветок *P. borealis*

Figure 2. Non-carcinogenic risks of calcium salts derived from *P. borealis* shrimp shell waste

Как правило, риски для здоровья, связанные с элементами, невозможно предсказать, если значение целевого коэффициента опасности (HQ) меньше 1. В настоящем исследовании все элементы в образцах солей кальция имели HQ меньше 1. Это указывает на отсутствие потенциального риска для здоровья чело-

века; значения HI также были меньше 1 (рисунок 2). Среднее значение HI всех образцов солей кальция составило 0,0015 для взрослых и 0,0068 для детей. Металлы As, Cd, Ni, Cr(VI) и Pb являются известными потенциальными канцерогенами [25]. Поскольку концентрации металлов Cr, Pb, Cd и Ni были ниже

ПКО во всех образцах (таблица 1), канцерогенный риск не оценивался.

Следует отметить, что содержание сопутствующих элементов в полученных органических солях кальция можно рассматривать как положительный фактор, способствующий поддержанию минерального баланса организма. Например, при приеме 1000 мг Са из полученных солей в организм будет поступать дополнительно 5–8 мг Mg (что составляет 1,4–2,3 % рекомендуемой суточной потребности (RDA)), 0,3–0,5 мг Zn (2–4 % RDA), 0,5–0,8 мг Fe (3–6 % RDA), до 0,1 мг Cu (<5 % RDA).

Таким образом, разработанные технологии обеспечивают получение высокочистых солей кальция, характеризующихся токсикологической безопасностью и нутрицевтической ценностью. Полученные данные указывают на возможность применения продуктов в качестве нутрицевтических и фармацевтических ингредиентов, а также на перспективность внедрения разработанных технологий в устойчивые биотехнологические схемы переработки морских биоресурсов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведено сравнение двух подходов к выделению органического кальция из отходов переработки арктических креветок (*Pandalus borealis*) с использованием мягких органических кислот и экологически безопасных растворителей. Показано, что обе технологии – прямая экстракция (технология 1) и с предварительным обезжириванием (технология 2) – позволяют эффективно деминерализовать панцири и получить соли кальция высокой чистоты. Предварительное обезжиривание снижало выход кальция в среднем на 2,2 %, но эта разница была статистически незначима по сравнению с технологией 1.

Согласно результатам элементного анализа концентрации токсичных металлов (Pb, Cd, Ni, Cr, As) были ниже предела количественного определения или не обнаруживались. Примесные микроэлементы (Mg, Zn, Fe, Cu, Mn) присутствовали в готовых продуктах в безопасных количествах. Рассчитанные показатели HQ для всех элементов оказались значительно ниже 1, что указывает на токсикологическую безопасность и пригодность полученных солей кальция для фармацевтического и пищевого применения. Более того, примесные элементы будут способствовать частичному восполнению дефицита микроэлементов при приеме солей кальция, что согласуется с современными представлениями о функциональных биоминералах морского происхождения.

Таким образом, результаты подтверждают, что отходы переработки арктических креветок являются ценным источником органического кальция и могут использоваться для получения экологически безопасных и физиологически сбалансированных солей – цитрата, малата и лактата кальция. Перспективным

направлением дальнейших исследований является оптимизация параметров экстракции, а также оценка биодоступности и фармакологического потенциала полученных солей кальция.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shlisky J., Mandlik R., Askari S., Abrams S., Belizan J. M., Bourassa M. W., Cormick G., Driller-Colangelo A., Gomes F., Khadilkar A., Owino V., Pettifor J. M., Rana Z. H., Roth D. E., Weaver C. Calcium deficiency worldwide: prevalence of inadequate intakes and associated health outcomes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2022;1512(1):10–28. DOI: 10.1111/nyas.14758.
2. Barbosa-Núñez J. A., Espinosa-Andrews H., Haro-González J. N., Herrera-Rodríguez S. E., García-Márquez E. Improving Calcium Bioavailability: Strategies, Challenges, and Future Perspectives. *Food Bioscience*. 2025;68:106718. DOI: 10.1016/j.fbio.2025.106718.
3. Munns C. F., Shaw N., Kiely M., Specker B. L., Thacher T. D., Ozono K., Michigami T., Tiosano D., Mughal M. Z., Mäkitie O., Ramos-Abad L., Ward L., DiMeglio L. A., Atapattu N., Cassinelli H., Braegger C., Pettifor J. M., Seth A., Idris H. W., Bhatia V., Fu J., Goldberg G., Säwendahl L., Khadgawat R., Pludowski P., Maddock J., Hyppönen E., Oduwole A., Frew E., Aguiar M., Tulchinsky T., Butler G., Högl W. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016;101(2):394–415. DOI: 10.1210/jc.2015-2175.
4. Громова О. А., Торшин И. Ю., Гоголева И. В., Гришина Т. Р., Керимкулова Н. В. Органические соли кальция: перспективы использования в клинической практике. *РМЖ. Клиническая фармакология*. 2012;20(28):1407–1411.
5. Saronga H. P., Dwarkanath P., Cui H., Muhihi A., Kurpad A. V., Sri Poornima V., Sando M. M., Poornima R., Yelverton C., Masanja H. M., Sudfeld C. R., Pembe A. B., Fawzi W. W., Menzies N. A. Low-dose calcium supplementation during pregnancy in low and middle-income countries: A cost-effectiveness analysis. *PLOS Global Public Health*. 2025;5(9):e0004002. DOI: 10.1371/journal.pgph.0004002.
6. Reid I. R. Calcium Supplementation – Efficacy and Safety. *Current Osteoporosis Reports*. 2025;23:8. DOI: 10.1007/s11914-025-00904-7.
7. Straub D. A. Calcium supplementation in clinical practice: a review of forms, doses, and indications. *Nutrition in Clinical Practice*. 2007;22(3):286–296. DOI: 10.1177/0115426507022003286.
8. Shkempi B., Huppertz T. Calcium Absorption from Food Products: Food Matrix Effects. *Nutrients*. 2022;14(1):180. DOI: 10.3390/nu14010180.
9. Lorieau L., Le Roux L., Gaucheron F., Ligneul A., Hazart E., Dupont D., Floury J. Bioaccessibility of four calcium sources in different whey-based dairy matrices assessed by *in vitro* digestion. *Food Chemistry*. 2018;245:454–462. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.108.
10. Kressel G., Wolters M., Hahn A. Bioavailability and Solubility of Different Calcium-Salts as a Basis for Calcium Enrichment of Beverages. *Food and Nutrition Sciences*. 2010;1(2):53–58. DOI: 10.4236/fns.2010.12009.
11. Pahune R. P., Jaiswal V. J., Tekade O. V., Kale V. V., Umeekar M. J. Sustainable Sources and Extraction Methods of Calcium for Expanding Dietary Supplement Sector. *Journal of Chemical Health Risks*. 2024;14(3):461–473.

12. Xu Y., Ye J., Zhou D., Su L. Research progress on applications of calcium derived from marine organisms. *Scientific Reports*. 2020;10:18425 DOI: 10.1038/s41598-020-75575-8.
13. Mititelu M., Moroşan E., Nicoară A. C., Secăreanu A. A., Musuc A. M., Atkinson I., Pandelescu C. J., Niţulescu G. M., Ozon E. A., Sarbu I., Balaci T. D. Development of Immediate Release Tablets Containing Calcium Lactate Synthesized from Black Sea Mussel Shells. *Marine Drugs*. 2022;20(1):45. DOI: 10.3390/md20010045.
14. Облучинская Е. Д., Пожарицкая О. Н., Шиков А. Н. Способ получения морского биологического кальция из панцирных отходов креветки. РФ на изобретение № 2802759. 01.09.2023. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2802759C1/ru> Ссылка активна на 26.02.2026.
15. Pérez W. A., Marín J. A., López J. N., Burgos M. A., Rios L. A. Development of a Pilot-ecofriendly Process for Chitosan Production from Waste Shrimp Shells. *Environmental Processes*. 2022;9:55. DOI: 10.1007/s40710-022-00605-8.
16. Mahmoud N. S., Ghaly A. E., Arab F. Unconventional approach for demineralization of deproteinized crustacean shells for chitin production. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 2007;3(1):1–9. DOI: 10.3844/ajbbbsp.2007.1.9.
17. Wang H., Sun J. and Wang J. Study on utilization of lactic acid for the decalcifying of the shrimp head and shell. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014;6(8):130–134.
18. Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Gorshenina E. V., Daurtseva A. V., Flisyuk E. V., Generalova Y. E., Terninko I. I., Shikov A. N. *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis from Arctic: Its biochemical composition, antiradical potential, and human health risk. *Marine Drugs*. 2024;22(1):48. DOI: 10.3390/md22010048.
19. Рахманин Ю. А., Синицына О. О., Новиков С. М., Авалиани С. Л., Шашина Т. А., Кислицин В. А., Додина Н. С., Сковронская С. А., Иванова С. В., Зайцева Н. В., Устинова О. Ю., Шур П. З., Землянова М. А., Лебедева-Несевря Н. А., Голева О. И., Барг А. О. Руководство по комплексной профилактике экологически обусловленных заболеваний на основе оценки риска. М.; 2017. 68 с.
20. Zhang S., Liu C., Su M., Zhou D., Tao Z., Wu S., Xiao L., Li Y. Development of citric acid-based biomaterials for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*. 2024;12(45):11611–11635. DOI: 10.1039/D4TB01666A.
21. Ma W., Lv Y., Cao X., Wang M., Fan Y., Shan Y. Ultrasound-assisted preparation of calcium malate and its absorption. *PLOS ONE*. 2021;16(7):e0254583. DOI: 10.1371/journal.pone.0254583.
22. Pohling J., Dave D., Liu Y., Murphy W., Trenholm S. Two-step demineralization of shrimp (*Pandalus borealis*) shells using citric acid: an environmentally friendly, safe and cost-effective alternative to the traditional approach. *Green Chemistry*. 2022;24(3):1141–1151. DOI: 10.1039/D1GC03140F.
23. Chen D., Cao X., Tian X., Peng Q., Zhang J., Zhang J., Yuan Y., Wang N. Highly Enriched Metal Elements in Marine Biological Shells as New Resources for the Sustainable Extraction of Metals. *Sustainability*. 2025;17(6):2683. DOI: 10.3390/su17062683.
24. Al-Sultan S. I., El-Bahr S. M., Darwish W. S., Meligy A. M. A., El Sebaei M., Mohamed M. H. A., Megahed A., Elzawahry R. R. Potential toxic elements in edible shrimp and other edible parts: A health risk assessment. *Open Veterinary Journal*. 2025;15(2):1024–1031. DOI: 10.5455/OVJ.2025.v15.i2.50.
25. Topal M., Arslan Topal E. I., Öbek E. Potential Human Health Risks from Heavy Metals in Crayfish Shells Used as Food and Organic Fertilizer. In: Kumar N., editor. Heavy Metal Toxicity. Human Health Impact and Mitigation Strategies. Cham: Springer; 2024. P. 293–309. DOI: 10.1007/978-3-031-56642-4_10.

REFERENCES

1. Shlisky J., Mandlik R., Askari S., Abrams S., Belizan J. M., Bourassa M. W., Cormick G., Driller-Colangelo A., Gomes F., Khadiolkar A., Owino V., Pettifor J. M., Rana Z. H., Roth D. E., Weaver C. Calcium deficiency worldwide: prevalence of inadequate intakes and associated health outcomes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2022;1512(1):10–28. DOI: 10.1111/nyas.14758.
2. Barbosa-Núñez J. A., Espinosa-Andrews H., Haro-González J. N., Herrera-Rodríguez S. E., García-Márquez E. Improving Calcium Bioavailability: Strategies, Challenges, and Future Perspectives. *Food Bioscience*. 2025;68:106718. DOI: 10.1016/j.fbio.2025.106718.
3. Munns C. F., Shaw N., Kiely M., Specker B. L., Thacher T. D., Ozono K., Michigami T., Tiosano D., Mughal M. Z., Mäkitie O., Ramos-Abad L., Ward L., DiMeglio L. A., Atapattu N., Cassinelli H., Braegger C., Pettifor J. M., Seth A., Idris H. W., Bhatia V., Fu J., Goldberg G., Säwendahl L., Khadgawat R., Pludowski P., Maddock J., Hyppönen E., Oduwole A., Frew E., Aguiar M., Tulchinsky T., Butler G., Högl W. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016;101(2):394–415. DOI: 10.1210/jc.2015-2175.
4. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Gogoleva I. V., Grishina T. R., Kerimkulova N. V. Organic calcium salts: prospects for use in clinical practice. *Russian Medical Journal*. 2012;20(28):1407–1411. (In Russ.)
5. Saronga H. P., Dwarkanath P., Cui H., Muhihi A., Kurpad A. V., Sri Poornima V., Sando M. M., Poornima R., Yelverton C., Masanja H. M., Sudfeld C. R., Pembe A. B., Fawzi W. W., Menzies N. A. Low-dose calcium supplementation during pregnancy in low and middle-income countries: A cost-effectiveness analysis. *PLOS Global Public Health*. 2025;5(9):e0004002. DOI: 10.1371/journal.pgph.0004002.
6. Reid I. R. Calcium Supplementation – Efficacy and Safety. *Current Osteoporosis Reports*. 2025;23:8. DOI: 10.1007/s11914-025-00904-7.
7. Straub D. A. Calcium supplementation in clinical practice: a review of forms, doses, and indications. *Nutrition in Clinical Practice*. 2007;22(3):286–296. DOI: 10.1177/0115426507022003286.
8. Shkembi B., Huppertz T. Calcium Absorption from Food Products: Food Matrix Effects. *Nutrients*. 2022;14(1):180. DOI: 10.3390/nu14010180.
9. Lorieau L., Le Roux L., Gaucheron F., Ligneul A., Hazart E., Dupont D., Flourey J. Bioaccessibility of four calcium sources in different whey-based dairy matrices assessed by *in vitro* digestion. *Food Chemistry*. 2018;245:454–462. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.108.
10. Kressel G., Wolters M., Hahn A. Bioavailability and Solubility of Different Calcium-Salts as a Basis for Calcium Enrichment of Beverages. *Food and Nutrition Sciences*. 2010;1(2):53–58. DOI: 10.4236/fns.2010.12009.

11. Pahune R. P., Jaiswal V. J., Tekade O. V., Kale V. V., Ume-
kar M. J. Sustainable Sources and Extraction Methods of
Calcium for Expanding Dietary Supplement Sector. *Journal of Chemical Health Risks*. 2024;14(3):461–473.
12. Xu Y., Ye J., Zhou D., Su L. Research progress on applica-
tions of calcium derived from marine organisms. *Scientific
Reports*. 2020;10:18425 DOI: 10.1038/s41598-020-75575-8.
13. Mititelu M., Moroşan E., Nicoară A. C., Secăreanu A. A., Mu-
suc A. M., Atkinson I., Pandele Cusu J., Niţulescu G. M.,
Ozon E. A., Sarbu I., Balaci T. D. Development of Imme-
diate Release Tablets Containing Calcium Lactate Syn-
thetized from Black Sea Mussel Shells. *Marine Drugs*.
2022;20(1):45. DOI: 10.3390/md20010045.
14. Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Shikov A. N. Me-
thod for obtaining marine biological calcium from shrimp
shell waste. Patent RUS. № 2802759. 01.09.2023. Availab-
le at: <https://patents.google.com/patent/RU2802759C1/ru>
Accessed: 26.02.2026. (In Russ.)
15. Pérez W. A., Marín J. A., López J. N., Burgos M. A., Rios L. A.
Development of a Pilot-ecofriendly Process for Chitosan
Production from Waste Shrimp Shells. *Environmental
Processes*. 2022;9:55. DOI: 10.1007/s40710-022-00605-8.
16. Mahmoud N. S., Ghaly A. E., Arab F. Unconventional
approach for demineralization of deproteinized crus-
tacean shells for chitin production. *American Journal
of Biochemistry and Biotechnology*. 2007;3(1):1–9. DOI:
10.3844/ajbbsp.2007.1.9.
17. Wang H., Sun J. and Wang J. Study on utilization of
lactic acid for the decalcifying of the shrimp head and
shell. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*.
2014;6(8):130–134.
18. Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Gorshenina E. V.,
Daurtseva A. V., Flisyuk E. V., Generalova Y. E., Terninko I. I.,
Shikov A. N. *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis
from Arctic: Its biochemical composition, antiradical po-
tential, and human health risk. *Marine Drugs*. 2024;22(1):48.
DOI: 10.3390/md22010048.
19. Rakhmanin Yu. A., Sinitsyna O. O., Novikov S. M., Avalia-
ni S. L., Shashina T. A., Kislitsin V. A., Dodina N. S., Skovron-
skaya S. A., Ivanova S. V., Zaitseva N. V., Ustinova O. Yu.,
Shur P. Z., Zemlyanova M. A., Lebedeva-Nesevrya N. A.,
Goleva O. I., Barg A. O. Guidelines for the comprehensive
prevention of environmentally induced diseases based
on risk assessment. Moscow; 2017. 68 p. (In Russ.)
20. Zhang S., Liu C., Su M., Zhou D., Tao Z., Wu S., Xiao L.,
Li Y. Development of citric acid-based biomaterials for
biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*.
2024;12(45):11611–11635. DOI: 10.1039/D4TB01666A.
21. Ma W., Lv Y., Cao X., Wang M., Fan Y., Shan Y. Ultra-
sound-assisted preparation of calcium malate and
its absorption. *PLOS ONE*. 2021;16(7):e0254583. DOI:
10.1371/journal.pone.0254583.
22. Pohling J., Dave D., Liu Y., Murphy W., Trenholm S. Two-step
demineralization of shrimp (*Pandalus borealis*) shells using
citric acid: an environmentally friendly, safe and cost-effec-
tive alternative to the traditional approach. *Green Che-
mistry*. 2022;24(3):1141–1151. DOI: 10.1039/D1GC03140F.
23. Chen D., Cao X., Tian X., Peng Q., Zhang J., Zhang J.,
Yuan Y., Wang N. Highly Enriched Metal Elements in Ma-
rine Biological Shells as New Resources for the Sustai-
nable Extraction of Metals. *Sustainability*. 2025;17(6):2683.
DOI: 10.3390/su17062683.
24. Al-Sultan S. I., El-Bahr S. M., Darwish W. S., Meligy A. M. A.,
El Sebaei M., Mohamed M. H. A., Megahed A., Elzawah-
ry R. R. Potential toxic elements in edible shrimp and other
edible parts: A health risk assessment. *Open Veterinary Jour-
nal*. 2025;15(2):1024–1031. DOI: 10.5455/OVJ.2025.v15.i2.50.
25. Topal M., Arslan Topal E. I., Öbek E. Potential Human
Health Risks from Heavy Metals in Crayfish Shells Used
as Food and Organic Fertilizer. In: Kumar N., editor.
Heavy Metal Toxicity. Human Health Impact and Mitiga-
tion Strategies. Cham: Springer; 2024. P. 293–309. DOI:
10.1007/978-3-031-56642-4_10.



Минпромторг
России



XI ВСЕРОССИЙСКАЯ
GMP - КОНФЕРЕНЦИЯ

НОВОЕ ДЕСЯТИЛЕТИЕ **GMP:**

ИННОВАЦИИ,
БЕЗОПАСНОСТЬ,
НАДЕЖНОСТЬ

СТАВРОПОЛЬ
15-17 СЕНТЯБРЯ 2026

ОПЕРАТОР

S·GROUP

CONFERENCE@SGR.COM.RU

РЕГИСТРАЦИЯ
ОТКРЫТА

WWW.GOSGMP.RU





Опыт проведения валидации методики оценки активации рецептора GLP-1R *in vitro* при стимуляции препаратом тирзепатид

А. Н. Афанасьева¹✉, В. Б. Сапарова^{1,2}, Д. О. Ермолаева¹, И. Е. Макаренко^{1,2}, Р. В. Драй¹

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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1

✉ Контактное лицо: Афанасьева Алина Николаевна. E-mail: Alina.Afanaseva@geropharm.com

ORCID: А. Н. Афанасьева – <https://orcid.org/0000-0002-1443-4294>;

В. Б. Сапарова – <https://orcid.org/0000-0002-8445-1129>;

Д. О. Ермолаева – <https://orcid.org/0009-0005-8083-7154>;

И. Е. Макаренко – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>;

Р. В. Драй – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>.

Статья поступила: 11.07.2025

Статья принята в печать: 02.10.2025

Статья опубликована: 03.04.2026

Резюме

Введение. Тирзепатид – это молекула, способная контролировать уровень глюкозы в крови за счет объединения двойного агонизма рецепторов глюкозозависимого инсулиотропного полипептида (GIP) и глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1). GLP-1 и GIP – инкретиновые гормоны, участвующие в регуляции гликемии и энергетического обмена. Их комбинированная агонизация усиливает инсулиновый ответ, снижает секрецию глюкагона и аппетит, что делает ее эффективной стратегией при лечении сахарного диабета 2 типа (СД2) и ожирения. Специфическую биологическую активность таких соединений можно оценить *in vitro* на клеточных линиях, экспрессирующих рецепторы GLP-1R или GIPR.

Цель. Провести валидацию методики определения активации рецептора GLP-1R *in vitro* с использованием клеточной линии при стимуляции тирзепатидом в тесте «Кальциевые токи». Данный подход необходим для последующего исследования сопоставимости биоэквивалентных препаратов.

Материалы и методы. В качестве модели была применена генно-инженерная клеточная линия HTS163L, экспрессирующая человеческий рецептор GLP-1. Активацию рецептора регистрировали по изменению флуоресцентного сигнала, вызванного увеличением внутриклеточной концентрации кальция, после инкубации клеток с тирзепатидом в различных концентрациях. Валидация методики проводилась в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ, ICH и EMA. Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением программного обеспечения MARS (BMG LABTECH).

Результаты и обсуждение. Данная методика показала высокий уровень специфичности (сигнал плацебо <2 % от сигнала препарата), удовлетворительный предел количественного определения (сигнал превышает сигнал холостой пробы на 43 %), хорошую линейность ($R^2 = 0,981$), правильность (в пределах 77–119 % от номинального EC_{50}) и прецизионность ($CV \leq 5$ % внутри серии, ≤ 15 % между сериями). Все исследуемые валидационные показатели соответствовали установленным критериям приемлемости, что подтверждает корректность выбранного подхода.

Заключение. Предложенный метод обладает высокой чувствительностью и воспроизводимостью, что делает его пригодным для функционального анализа биологической активности агонистов рецептора GLP-1, включая тирзепатид, в *in-vitro*-моделях.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа (СД2), GLP-1-рецептор, агонисты инкретинов, фармакологическая активность, биологическая активность, EC_{50} , флуоресцентный анализ, биоэквивалентность, доклинические исследования

Конфликт интересов. Исследование *in vitro* было организовано ЗАО «Фарм-Холдинг», входит в группу компаний ООО «ГЕРОФАРМ».

Вклад авторов. А. Н. Афанасьева – написание и редактирование текста, анализ и интерпретация результатов исследования *in vitro*. В. Б. Сапарова – критический пересмотр содержания статьи, анализ и интерпретация результатов исследования *in vitro*. Д. О. Ермолаева – постановка экспериментов *in vitro*, анализ результатов валидационных тестов.

И. Е. Макаренко – критический пересмотр содержания статьи, утверждение окончательного варианта статьи для публикации. Р. В. Драй – руководство исследованием, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «ГЕРОФАРМ». Спонсор не оказывал влияния на ход исследования и интерпретацию результатов.

Соответствие принципам этики. Исследование проводилось *in vitro* на клеточной линии; одобрение этической комиссии не требуется.

Для цитирования: Афанасьева А. Н., Сапарова В. Б., Ермолаева Д. О., Макаренко И. Е., Драй Р. В. Опыт проведения валидации методики оценки активации рецептора GLP-1R *in vitro* при стимуляции препаратом тирзепатид. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):104–111. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2145>

Experience in validating a method for assessing GLP-1R receptor activation *in vitro* upon stimulation with tirzepatide

Alina N. Afanaseva¹✉, Valeria B. Saparova^{1,2}, Daria O. Ermolaeva¹,
Igor E. Makarenko^{1,2}, Roman V. Dray¹

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

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A. I. Evdokimov" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russia

✉ **Corresponding author:** Alina N. Afanaseva. **E-mail:** Alina.Afanaseva@geropharm.com

ORCID: Alina N. Afanaseva – <https://orcid.org/0000-0002-1443-4294>;

Valeria B. Saparova – <https://orcid.org/0000-0002-8445-1129>;

Daria O. Ermolaeva – <https://orcid.org/0009-0005-8083-7154>;

Igor E. Makarenko – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>;

Roman V. Dray – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>.

Received: 11.07.2025

Accepted: 02.10.2025

Published: 03.04.2026

Abstract

Introduction. Tirzepatide is a molecule capable of controlling blood glucose levels by combining dual agonism of the glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors. GLP-1 and GIP are incretin hormones involved in the regulation of glycemia and energy metabolism. Their combined agonism enhances the insulin response, reduces glucagon secretion and appetite, making it an effective strategy for the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and obesity. The specific biological activity of such compounds can be evaluated *in vitro* using cell lines expressing GLP-1R or GIPR.

Aim. To validate a method for determining GLP-1R receptor activation *in vitro* using a cell line stimulated with tirzepatide in the "Calcium Flux" assay. This approach is necessary for subsequent studies of the comparability of bioequivalent drugs.

Materials and methods. A genetically engineered HTS163L cell line expressing the human GLP-1 receptor was used as the model. Receptor activation was recorded by changes in fluorescence signal caused by an increase in intracellular calcium concentration after incubation of cells with tirzepatide at various concentrations. Method validation was carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, ICH, and EMA. Statistical analysis of the results was performed using MARS software (BMG LABTECH).

Results and discussion. The applied method demonstrated a high level of specificity (placebo signal <2 % of the drug signal), a satisfactory limit of quantification (signal exceeded the blank by 43 %), good linearity ($R^2 = 0.981$), accuracy (within 77–119 % of nominal EC_{50}), and precision ($CV \leq 5$ % within runs, ≤ 15 % between runs). All validation parameters met the established acceptance criteria, confirming the correctness of the chosen approach.

Conclusion. The proposed method demonstrates high sensitivity and reproducibility, making it suitable for functional analysis of the biological activity of GLP-1 receptor agonists, including tirzepatide, in *in vitro* models.

Keywords: type 2 diabetes mellitus (T2DM), GLP-1 receptor, incretin agonists, pharmacological activity, biological activity, EC_{50} , fluorescence assay, bioequivalence, preclinical studies

Conflict of interest. The *in vitro* study was organized by CJSC "Pharm-Holding", part of the LLC "GEROPHARM" group of companies.

Contribution of the authors. Alina N. Afanaseva – writing and editing of the manuscript, analysis and interpretation of *in vitro* study results. Valeria B. Saparova – critical revision of the article content, analysis and interpretation of *in vitro* study results. Daria O. Ermolaeva – *in vitro* experiment setup, analysis of validation test results. Igor E. Makarenko – critical revision of the article content, approval of the final version of the article for publication. Roman V. Dray – study supervision, approval of the final version of the article for publication.

Acknowledgment. This work was supported by "GEROPHARM". The sponsor had no influence on the study or interpretation of the results.

Compliance with the principles of ethics. The study was conducted *in vitro* on a cell line; ethical approval is not required.

For citation: Afanaseva A. N., Saparova V. B., Ermolaeva D. O., Makarenko I. E., Dray R. V. Experience in validating a method for assessing GLP-1R receptor activation *in vitro* upon stimulation with tirzepatide. *Drug development & registration*. 2026;15(2):104–111. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2145>

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет 2 типа (СД2) представляет собой наиболее часто встречающуюся форму данного заболевания, поражающего практически все возрастные группы [1–3]. СД2 клинически диагностируется с кардинальным признаком хронической гипергликемии (избыточный уровень сахара в крови). Хроническая гипергликемия в сочетании с дисфункциями β -клеток поджелудочной железы, резистентностью к инсулину и иммунным воспалением еще больше усугубляют патологию СД2 [2], что вызывает гликемическую нагрузку, резистентность к инсулину и ожирение [4].

Эпидемия сахарного диабета и его осложнений представляет собой серьезную угрозу для здоровья в мире. Глобальная распространенность диабета и нарушенной толерантности к глюкозе увеличилась в четыре раза за последние три десятилетия. Этот темп изменения распространенности диабета во многих странах был усилен быстрой урбанизацией [5–7]. Более 90 % случаев сахарного диабета составляет сахарный диабет 2 типа (СД2) [8], что подчеркивает необходимость поиска новых эффективных стратегий диагностики, профилактики и лечения.

Одним из перспективных направлений терапии СД2 является воздействие на рецептор глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1R) – ключевой регулятор гомеостаза глюкозы. Глюкозозависимый инсулинотропный полипептид (GIP) и глюкагоноподобный пептид – 1 (GLP-1), также известные как инкретины, представляют собой гормоны, выделяемые в кишечнике в ответ на поступление питательных веществ, и они способны стимулировать бета-клетки поджелудочной железы к выделению инсулина, тем самым участвуя в регуляции гомеостаза глюкозы [9–11]. Благодаря этим эффектам агонисты рецепторов GLP-1 обладают выраженной способностью снижать концентрацию глюкозы в крови и способствуют уменьшению массы тела, что делает их использование ключевым направлением в фармакотерапии сахарного диабета 2 типа и ожирения.

Тирзепатид – современный лекарственный препарат, сочетающий свойства агониста рецепторов GIP и GLP-1. В клинических испытаниях он продемонстрировал высокую эффективность как в контроле уровня гликемии, так и в снижении массы тела [12, 13].

При этом сродство тирзепатида к рецепторам GIP сопоставимо с естественным GIP, а его аффинность к рецепторам GLP-1 примерно в пять раз ниже по сравнению с нативным GLP-1 [14, 15]. Тирзепатид также может улучшить параметры, связанные с сердечно-сосудистым риском, включая артериальное давление [16], окружность талии, уровень липопротеинов низкой плотности и циркулирующих триглицеридов [17, 18]. Однако для более глубокого понимания механизмов действия препарата и разработки аналогов необходимы валидированные клеточные модели, позволяющие оценить фармакологическую активность тирзепатида *in vitro*.

Одним из подходов к функциональной оценке активности GLP-1R является регистрация кальциевых токов в клетках, экспрессирующих данный рецептор. Активация GLP-1R, сопряженного с G-белками, может индуцировать внутриклеточный каскад сигнализации с повышением концентрации ионов кальция, что делает метод оценки кальциевого ответа чувствительным инструментом для скрининга лигандов рецептора [19, 20].

Цель исследования. Настоящая работа направлена на валидацию метода, позволяющего оценивать активацию рецептора GLP-1R в клеточной линии *in vitro* при стимуляции тирзепатидом с использованием теста «Кальциевые токи» для дальнейшего проведения исследований сопоставимости биоэквивалентных лекарственных средств. Результаты позволят разработать воспроизводимую и чувствительную модель для доклинической оценки потенциальных GLP-1-агонистов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки специфической биологической активности тирзепатида в тесте «Кальциевые токи» в качестве модельной системы применяли клеточную линию HTS163L (кат. № HTS163L, Eurofins, Франция). Генно-модифицированные клетки, экспрессирующие человеческий рецептор GLP-1, были получены путем стабильной трансфекции. Клетки получены из материнской линии HEK293, представляющей собой эпителий эмбриональной почки человека. В геном линии клеток были встроены участки, кодирующие три белка: клитин, рецептор GLP-1 и G-белок – для установления связи между рецептором и кальциевым

сигнальным путем. Наличие рецептора на поверхности клеточной мембраны позволяет осуществляться биологическому эффекту GLP-1 и его аналогов, выражающемуся в повышении внутриклеточного уровня цАМФ, запуске кальциевого сигналинга и росте концентрации кальция в клетке¹.

Культивирование клеточной линии HTS163L проводили в питательной среде DMEM/F12 (кат. № 1.3.7.4, ООО «Биолот», Россия) с добавлением раствора неосновных аминокислот 100X (кат. № Ф115/100п, НПП «ПанЭко», Россия) и 10%-й эмбриональной бычьей сыворотки (FBS, кат. № LTFBS-500, LT Biotech Ltd., Литва) (далее – Basal Medium). Рабочую суспензию клеток рассеивали в стерильные черные 96-луночные планшеты (кат. № 3340, Corning, США) по 5000 клеток на лунку в среде Basal Medium. Планшеты инкубировали при 37 °C и 5%-м CO₂ 24 ± 4 ч. На следующий день среду меняли на буферный раствор Хенкса (кат. № 1.2.1.7, ООО «Биолот», Россия) с добавлением в финальной концентрации 20 мМ ХЕПЕС (кат. № Ф134Е-100, НПП «ПанЭко», Россия), 2,5 мкМ пробенецида (кат. № р8761, Sigma-Aldrich, Германия) и 2 мкМ флуоресцентного красителя Fluo-8 AM (кат. № AB142773, Abcam, Великобритания). Планшеты инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, защищая от света. В лунки планшета вносили заранее приготовленные 3-кратные растворы исследуемых препаратов в концентрациях 500, 1000, 2000, 4000, 10 000, 15 000, 22 500, 60 000, 500 000 и 2 000 000 пМ. Сразу после внесения проводилось снятие флуоресценцентного сигнала на мультимодальном микропланшетном ридере CLARIOstar (BMG LABTECH, Германия), параметры флуоресценции: длина волны возбуждения – 480 нм, эмиссии – 520 нм; число вспышек – 100, усиление сигнала (gain) – 2000. Результаты обрабатывали при помощи программы MARS (BMG LABTECH, Германия), используя метод параллельных кривых для расчета EC₅₀ (концентрация тирзепатида, при которой достигается 50 % максимального ответа в виде активации кальциевых токов). Оценка параллельности кривых проводилась с использованием F-теста: глобальное приближение осуществлялось с помощью четырехпараметрической логистической модели (4PL), доверительный интервал – 95 % (CI 95 %).

Валидационные параметры. Критерии валидации методики были определены на основании требований Государственной фармакопеи Российской Федерации, рекомендаций Совета Евразийской экономической комиссии, а также руководств Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) и Европейского агентства по лекарст-

венным средствам (EMA). В рамках процедуры проводилась оценка следующих параметров: специфичности, предела количественного определения, аналитической области, линейности, правильности, а также прецизионности, включающей сходимость и внутрилабораторную воспроизводимость.

Оценку специфичности выполняли посредством сравнения получаемого сигнала между образцами, содержащими плацебо, и образцами, в которые вносили исследуемый препарат. Для подтверждения специфичности значение сигнала плацебо не должно превышать 20 % от величины сигнала, полученного для препарата. Предел количественного определения определяли на основании различий между сигналом препарата в минимальной концентрации и сигналом холостой пробы (ХП; лунки с клетками без красителя). Критерием приемлемости считалось превышение сигнала препарата над ХП не менее чем на 20 %. Линейность оценивали по коэффициенту детерминации (R^2) в пределах установленного аналитического диапазона; значение R^2 должно составлять не менее 0,9. Для оценки правильности определяли значения EC₅₀ – концентрации тирзепатида, при которой достигается 50 % активации кальциевых токов, – на четырех уровнях разведений: 175, 100, 50 и 25 % от номинальной концентрации. Показатель правильности считался соблюденным, если рассчитанные значения EC₅₀ на всех уровнях находились в пределах 100 ± 25 % от номинального. Прецизионность оценивали по результатам шести повторных измерений, проведенных в один день одним исполнителем (сходимость), а также по трем независимым сериям, выполненным разными исполнителями в разные дни (внутрилабораторная прецизионность). Допустимое значение коэффициента вариации (CV) составляло ≤15 % для всех концентраций и ≤20 % для нижней границы диапазона. Аналитическая область определялась как диапазон концентраций, в пределах которого одновременно соблюдаются критерии правильности, прецизионности и линейности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Валидация методики оценки активации рецептора GLP-1R на клеточной линии *in vitro* при стимуляции препаратом тирзепатид в тесте «Кальциевые токи» проводили на препаратах Мунджаро® (Eli Lilly Canada Inc., Канада) и плацебо препарата Седжаро® (ЗАО «Фарм-Холдинг», Россия).

Специфичность методики определяется как ее способность точно идентифицировать и количественно оценивать целевое вещество на фоне присутствия сопутствующих компонентов. В рамках проведенной валидации проанализировали активацию кальциевых токов при сравнении препарата и плацебо. Оценивали сигнал по относительным единицам флуоресценции (RFU) для препарата и плацебо (таблица 1). Для плацебо использовали разведения, идентичные разведениям препарата Мунджаро® каждой концентрации.

¹ ChemiBRITE GLP-1 Receptor Stable Cell Line. Available at: <https://emea.discoverx.com/catalog/chemibrite-glp-1-receptor-stable-cell-line/hts1631/> / Accessed: 28.06.2025.

Таблица 1. Специфичность методики: ответ для плацебо и препарата Мунджаро®

Table 1. Specificity of the method: response to placebo vs. Mounjaro®

Препарат Medicine	Mean ОЕФ Mean RFU	Мунджаро®/ Плацебо, % Mounjaro®/ Placebo, %
Мунджаро® (точка 500 пМ) Mounjaro® (500 pM point)	30299	2
Плацебо препарата Седжаро® (точка 500 пМ) Placebo of the drug Sejarо® (point 500 pM)	29673	

Примечание. ОЕФ – относительные единицы флуоресценции; Mean – среднее арифметическое значение.

Note. RFU – relative fluorescence units; Mean – arithmetic mean value.

Ответ для плацебо соответствует 2 % сигнала для исследуемого вещества, то есть влияние компонентов плацебо составляет 2 %, что согласуется с критериями приемлемости менее 20 %.

Предел количественного определения (ПКО) представляет собой минимальную концентрацию вещества в образце, которую можно достоверно выявить с помощью валидированной аналитической методики. Для оценки ПКО рассматривали RFU для препарата и ХП (лунки с клетками без красителя Fluor-8 AM), данные представлены в таблице 2.

Таблица 2. Предел количественного определения: ответ для препарата Мунджаро® и холостой пробы

Table 2. Limit of quantification: response for Mounjaro® and blank

Препарат Medicine	Mean ОЕФ Mean RFU	Мунджаро®/ Холостая проба, % Mounjaro®/ Blank sample, %
Мунджаро® (точка 500 пМ) Mounjaro® (500 pM point)	31321	43
Холостая проба Blank sample	21961	

Примечание. ОЕФ – относительные единицы флуоресценции; Mean – среднее арифметическое значение.

Note. RFU – relative fluorescence units; Mean – arithmetic mean value.

Сигнал анализируемого вещества из образца в нижней точке концентрации превосходит величину сигнала ХП на 43 %, что удовлетворяет критериям приемлемости.

Линейность методики характеризуется прямой зависимостью аналитического сигнала от концентрации или количества исследуемого вещества в образце в пределах определенной аналитической об-

ласти. Пропорциональность отклика для препарата Мунджаро® была оценена в концентрациях от 500 до 2000 000 пМ. Для оценки линейности был использован коэффициент детерминации (R^2). Результаты представлены на рисунке 1.

Зависимость аналитического сигнала от концентрации анализируемого образца с коэффициентом детерминации R^2 равна 0,981, что соответствует критериям приемлемости.

Правильность методики определяется как степень соответствия среднего значения результатов, полученных с использованием данного метода, истинному (номинальному) значению вещества. Правильность характеризуется показателем «открываемость», который выражается в процентах. Методика предполагает нахождение значения концентрации препарата, при которой достигается 50 % активации кальциевых токов (EC_{50}), то есть для определения параметра «правильность» были оценены значения EC_{50} для препарата Мунджаро® на четырех уровнях разведения: 175, 100, 50 и 25 %. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. Правильность определения EC_{50} для Мунджаро®

Table 3. Accuracy of EC_{50} Determination for Mounjaro®

Уровень разведения, % Dilution level, %	EC_{50} , пМ EC_{50} , pM	Биологическая активность, % от Мунджаро® Biological activity, % of Mounjaro®	Открываемость, % Recovery, %
175	18338,9	135	77
	18338,9	153	88
100	30227,9	96	96
	26497,1	110	110
50	57274,4	43	86
	59271,1	47	95
25	100362,2	29	115
	97778,0	30	119

Примечание. EC_{50} – полумаксимальная эффективная концентрация; открываемость – показатель, отражающий отклонение от номинального значения.

Note. EC_{50} – half-maximal effective concentration; recovery – a parameter reflecting the deviation from the nominal value.

Правильность методики находится в диапазоне от 77 до 119 % что удовлетворяет критериям приемлемости 100 ± 25 %.

Прецизионность методики отражает степень вариабельности результатов между сериями измерений, выполненных в заранее определенных условиях. Прецизионность характеризуется величиной относи-

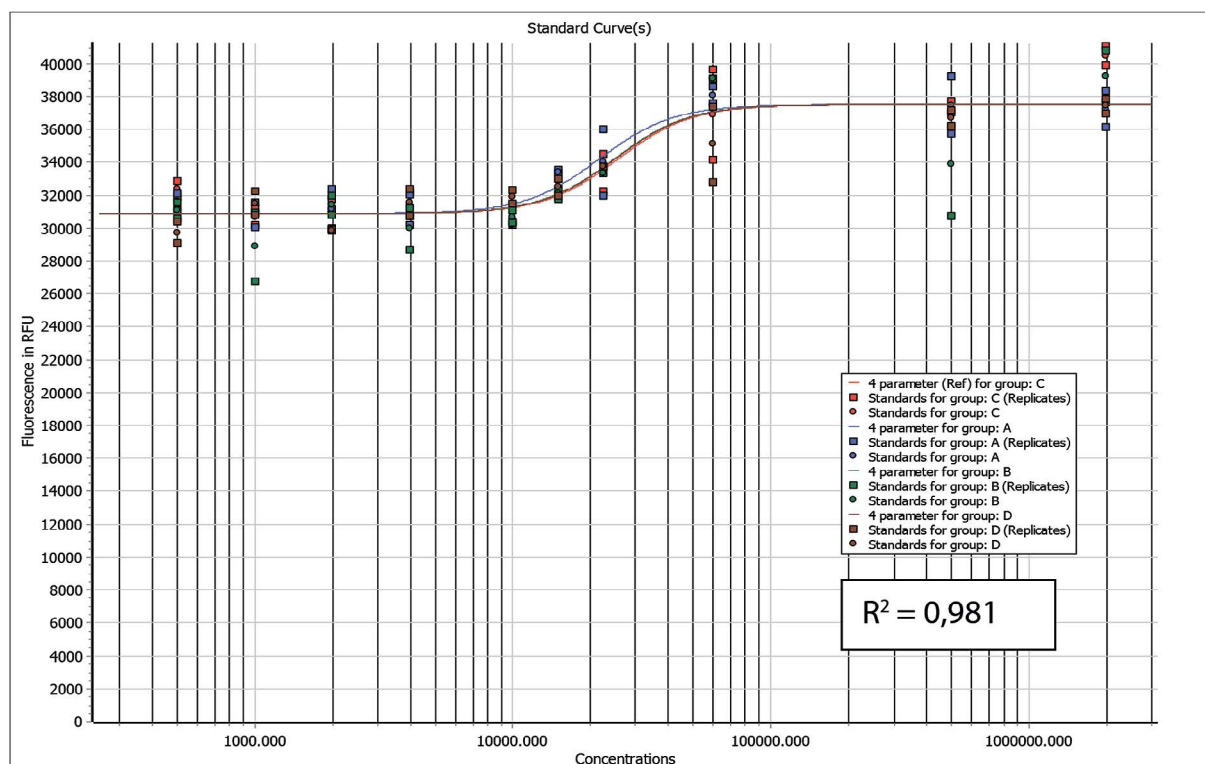


Рисунок 1. График зависимости концентрации тирзепатида и сигнала флуоресценции. Данные представлены для каждой точки повтора.

Группа С – стандартный образец (СО) Мунджаро® серии D745983; группа В – внутренний контрольный образец (ВКО) Мунджаро® серии D745983; группы А и D – испытуемый образец (ИО) Мунджаро® серии D745983

Figure 1. Graph of the relationship between tirzepatide concentration and fluorescence signal. Data are presented for each replicate point.

Group C represents the reference standard sample of Mounjaro® (batch D745983); Group B represents the internal control sample of Mounjaro® (batch D745983); Groups A and D represent the test sample of Mounjaro® (batch D745983)

тельного стандартного отклонения / коэффициента вариации (RSD/CV – отношение стандартного отклонения к среднему, выражаемое в процентах). Во всех экспериментах для стимуляции активации кальциевых токов использовали тирзепатид в раститровке концентраций в диапазоне от 500 до 2000 000 пМ.

Сходимость (повторяемость) отражает степень согласованности результатов, полученных с использованием одного и того же метода на идентичных образцах в одной лаборатории одним исследователем с применением одного и того же оборудования, то есть в полностью одинаковых условиях проведения эксперимента. При оценке рассматривали 6 повторов для каждой концентрации на четырех уровнях: НПКО (500 нМ), низкий (2000 пМ), средний (22 500 пМ) и высокий уровень (2000 000 пМ), результаты представлены в таблице 4.

Результаты по параметру «сходимость» находятся в диапазоне от 3 до 5 %, что удовлетворяет критериям приемлемости $CV \leq 15\%$ для расчетных концентраций и $CV \leq 20\%$ для нижнего уровня концентрации.

Внутрилабораторная прецизионность (промежуточная) определяется как воспроизводимость результатов при проведении эксперимента в одной лаборатории с варьированием условий проведения. В рамках валидации проанализировали внутрилабораторную прецизионность в условиях работы одной лаборатории в разные дни и с разными исполнителями. Результаты представлены в таблице 5.

Результаты по параметру «внутрилабораторная прецизионность» находятся в диапазоне от 4 до 9 %, что удовлетворяет критериям приемлемости $CV \leq 20\%$.

Аналитическая область методики определяет как диапазон концентраций исследуемого вещества между минимальным и максимальным значениями, в пределах которых сохраняются допустимые аналитические характеристики метода. Для интервала от 500 до 2000 000 пМ препарата тирзепатид определена прецизионность, линейность и правильность (см. результаты выше), которые удовлетворяют критериям приемлемости, аналитическая область подтверждается.

Таблица 4. Оценка сходимости результатов
Table 4. Repeatability Assessment

Концентрации препарата, пМ Concentration of the drug, pM	ОЕФ RFU						CV, %
	Исполнитель 1 Performer 1						
500	32392	31090	29731	32852	32901	31681	4
2000	31445	31393	29882	32528	30847	32163	3
22 500	33401	35856	33773	32257	31591	32065	5
2000 000	40491	39235	37429	37922	36511	38286	4

Примечание. CV – коэффициент вариации; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции.
Note. CV – coefficient of variation; RFU – relative fluorescence units.

Таблица 5. Оценка внутрилабораторной воспроизводимости
Table 5. Inter-assay Precision

Концентрации препарата, пМ Concentration of the drug, pM	ОЕФ RFU												CV, %
	Исполнитель 2 Performer 2				Исполнитель 1 Performer 1				Исполнитель 2 Performer 2				
	19.11.2024				21.11.2024				26.11.2024				
500	30059	31122	28633	28723	32696	30356	29552	28593	31908	32876	31931	33773	6
1000	29140	31690	27950	27810	30735	30412	29807	27058	30178	31185	30721	32679	6
2000	28741	29833	27163	30759	31724	29706	28826	29206	31739	31150	33453	31603	6
4000	29093	29733	28181	29300	31037	30802	28885	26809	30758	32163	30739	33250	6
10 000	28368	30195	29174	29641	31553	29467	28948	28411	30416	31447	31527	31437	4
15 000	29214	34003	28222	29570	30424	30182	28927	27473	32983	31891	33143	32908	7
22 500	32330	33416	28947	30450	30217	31150	28441	27842	32269	34532	31180	33334	7
60 000	31214	33114	32720	32604	33783	34901	32976	32509	39613	34158	38635	38379	8
500 000	33967	32766	37654	32204	34989	32250	33382	32055	37731	36139	34382	35605	6
2000 000	32839	33337	30900	34469	34583	32705	33714	32651	39907	41075	36076	39767	9

Примечание. CV – коэффициент вариации; ОЕФ – относительные единицы флуоресценции.
Note. CV – coefficient of variation; RFU – relative fluorescence units.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование демонстрирует успешную валидацию методики оценки активации GLP-1R на клеточной линии HTS163L при стимуляции тирзепатидом с использованием флуоресцентного анализа кальциевых токов. Полученные результаты подтверждают, что методика является специфичной, линейной, правильной, сохраняется предел количественного определения, сходимость и внутрилабораторная прецизионность, определяется аналитическая область, что делает ее пригодной для применения в доклинических исследованиях биоэквивалентных и аналогичных препаратов. Данный подход может быть использован в фармацевтической разработке для сравнительной оценки эффективности новых молекул, воздействующих на рецептор GLP-1, а также как инструмент скрининга потенциальных лекарственных кандидатов при лечении сахарного диабета 2 типа.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Misra S., Ke C., Srinivasan S., Goyal A., Nyriyenda M.J., Florez J.C., Khunti K., Magliano D.J., Luk A. Current insights and emerging trends in early-onset type 2 diabetes. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2023;11(10):768–782. DOI: 10.1016/S2213-8587(23)00225-5.

2. Singh A., Shadangi S., Gupta P.K., Rana S. Type 2 Diabetes Mellitus: A Comprehensive Review of Pathophysiology, Comorbidities, and Emerging Therapies. *Comprehensive Physiology*. 2025;15(1):e70003. DOI: 10.1002/cph4.70003.

3. The Lancet Diabetes Endocrinology. Undiagnosed type 2 diabetes: an invisible risk factor. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2024;12(4):215. DOI: 10.1016/S2213-8587(24)00072-X.

4. Pandey A., Chawla S., Guchhait P. Type-2 diabetes: Current understanding and future perspectives. *IUBMB Life*. 2015;67(7):506–513. DOI: 10.1002/iub.1396.

5. Thanikachalam M., Fuller C.H., Lane K.J., Sunderarajan J., Harivanzan V., Brugge D., Thanikachalam S. Urban environment as an independent predictor of insulin resistance in a South Asian population. *International Journal of Health Geographics*. 2019;18(1):5. DOI: 10.1186/s12942-019-0169-9.

6. Majety P., Lozada Orquera F. A., Edem D., Hamdy O. Pharmacological approaches to the prevention of type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14:1118848. DOI: 10.3389/fendo.2023.1118848.
7. Gassasse Z., Smith D., Finer S., Gallo V. Association between urbanisation and type 2 diabetes: an ecological study. *BMJ Global Health*. 2017;2(4):e000473. DOI: 10.1136/bmjgh-2017-000473.
8. Holman N., Young B., Gadsby R. Current prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes in adults and children in the UK. *Diabetic Medicine*. 2015;32(9):1119–1120. DOI: 10.1111/dme.12791.
9. Holst J. J. From the Incretin Concept and the Discovery of GLP-1 to Today's Diabetes Therapy. *Frontiers in Endocrinology*. 2019;10:260. DOI: 10.3389/fendo.2019.00260.
10. Bulum T. Nephroprotective Properties of the Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) and Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) Receptor Agonists. *Biomedicines*. 2022;10(10):2586. DOI: 10.3390/biomedicines10102586.
11. Rehfeld J. F. The Origin and Understanding of the Incretin Concept. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:387. DOI: 10.3389/fendo.2018.00387.
12. Frías J. P., Davies M. J., Rosenstock J., Pérez Manghi F. C., Fernández Landó L., Bergman B. K., Liu B., Cui X., Brown K. Tirzepatide versus Semaglutide Once Weekly in Patients with Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(6):503–515. DOI: 10.1056/NEJMoa2107519.
13. Jastreboff A. M., Aronne L. J., Ahmad N. N., Wharton S., Connerly L., Alves B., Kiyosue A., Zhang S., Liu B., Bunck M. C., Stefanski A. Tirzepatide Once Weekly for the Treatment of Obesity. *New England Journal of Medicine*. 2022;387(3):205–216. DOI: 10.1056/NEJMoa2206038.
14. Willard F. S., Douros J. D., Gabe M. B. N., Showalter A. D., Wainscott D. B., Suter T. M., Capozzi M. E., van der Velde W. J. C., Stutsman C., Cardona G. R., Urva S., Emmer-son P. J., Holst J. J., D'Alessio D. A., Coghlan M. P., Rosenkilde M. M., Campbell J. E., Sloop K. W. Tirzepatide is an imbalanced and biased dual GIP and GLP-1 receptor agonist. *JCI Insight*. 2020;5(17):e140532. DOI: 10.1172/jci.insight.140532.
15. Coskun T., Sloop K. W., Loghin C., Alsina-Fernandez J., Urva S., Bokvist K. B., Cui X., Briere D. A., Cabrera O., Roell W. C., Kuchibhotla U., Moyers J. S., Benson C. T., Gimeno R. E., D'Alessio D. A., Haupt A. LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist for the treatment of type 2 diabetes mellitus: From discovery to clinical proof of concept. *Molecular Metabolism*. 2018;18:3–14. DOI: 10.1016/j.molmet.2018.09.009.
16. Patoulas D., Papadopoulos C., Doumas M. Tirzepatide versus Semaglutide Once Weekly in Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(7):e17. DOI: 10.1056/NEJMc2114590.
17. De Block C., Bailey C., Wysham C., Hemmingway A., Allen S. E., Peleshok J. Tirzepatide for the treatment of adults with type 2 diabetes: An endocrine perspective. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2023;25(1):3–17. DOI: 10.1111/dom.14831.
18. Forzano I., Varzideh F., Avvisato R., Jankauskas S. S., Monne P., Santulli G. Tirzepatide: A Systematic Update. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(23):14631. DOI: 10.3390/ijms232314631.
19. Hauge-Evans A. C., King A. J., Carmignac D., Richardson C. C., Robinson I. C. A. F., Low M. J., Christie M. R., Persaud S. J., Jones P. M. Somatostatin Secreted by Islet δ -Cells Fulfills Multiple Roles as a Paracrine Regulator of Islet Function. *Diabetes*. 2009;58(2):403–411. DOI: 10.2337/db08-0792.
20. Ehlert F. J. Functional studies cast light on receptor states. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2015;36(9):596–604. DOI: 10.1016/j.tips.2015.05.008.



Эволюция клинических исследований: комплексный анализ ICH E6(R3) и интегрированных систем управления качеством в клинических исследованиях в фармацевтической отрасли

М. М. Камха✉, Б. Ю. Маргаева, Н. А. Бабичева, С. Е. Ульянова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» (МГУ имени М. В. Ломоносова). 119991, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1

✉ Контактное лицо: Камха Михаил Михайлович. E-mail: Mikhail.kamkha@yandex.ru

ORCID: М. М. Камха – <https://orcid.org/0009-0009-8195-452X>;
Б. Ю. Маргаева – <https://orcid.org/0009-0002-4553-8616>;
Н. А. Бабичева – <https://orcid.org/0009-0009-0463-1110>;
С. Е. Ульянова – <https://orcid.org/0009-0004-6417-1105>.

Статья поступила: 26.09.2025

Статья принята в печать: 27.10.2025

Статья опубликована: 20.03.2026

Резюме

Введение. В условиях цифровой трансформации и глобальной гармонизации регуляторных требований актуальным становится внедрение интегрированных систем управления качеством в клинических исследованиях на основе ICH E6(R3).

Цель. Провести сравнительный анализ ICH E6(R3) с международными стандартами (ISO, GAMP 5, PMBOK/APM-BOK) и оценить возможности их адаптации в российской регуляторной среде.

Материалы и методы. Выполнен систематический анализ нормативно-правовой базы РФ (Федеральный закон РФ № 61 от 12 апреля 2010 г., решение Совета ЕЭК 79 «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза» от 03 ноября 2016, ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика») и международных руководств (ICH, ISO, EMA, PMI, ISPE), а также научных публикаций за 2020–2025 гг. из Scopus и Web of Science.

Результаты и обсуждение. Установлено, что ICH E6(R3) требует перехода от реактивного контроля к проактивному управлению качеством через интеграцию рискориентированных подходов, цифровых технологий и междисциплинарных стандартов. В российском контексте выявлены пробелы в нормативном регулировании и недостаточная интеграция систем менеджмента качества.

Заключение. Для соответствия ICH E6(R3) российским регуляторным органам и организациям необходимо модернизировать внутренние процессы, внедрять RBQM (рискориентированный подход к качеству) и гармонизировать национальные требования с международными стандартами.

Ключевые слова: клинические исследования, ICH E6(R3), PMBOK/APM-BOK, GAMP 5, ISO, качество, риски, управление проектами

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

Вклад авторов. Все авторы внесли равный вклад в концепцию, подготовку, написание и редактирование статьи. М. М. Камха – концептуализация исследования, методология, критический анализ текста. Б. Ю. Маргаева – анализ нормативных документов и подготовка разделов, касающихся регуляторных аспектов. Н. А. Бабичева – сбор и систематизация литературных источников, редактирование текста. С. Е. Ульянова – подготовка и оформление таблиц, рисунков и списка литературы. Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Соответствие принципам этики. Настоящая статья соответствует 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.

Для цитирования: Камха М. М., Маргаева Б. Ю., Бабичева Н. А., Ульянова С. Е. Эволюция клинических исследований: комплексный анализ ICH E6(R3) и интегрированных систем управления качеством в клинических исследованиях в фармацевтической отрасли. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):112–124. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2191>

Evolution of clinical trials: a comprehensive analysis of ICH E6(R3) and integrated quality management systems in the pharmaceutical industry

Mikhail M. Kamkha✉, Bulgun Y. Margaeva, Natalia A. Babicheva, Svetlana E. Ulyanova

Lomonosov Moscow State University. 1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Mikhail M. Kamkha. **E-mail:** Mikhail.kamkha@yandex.ru

ORCID: Mikhail M. Kamkha – <https://orcid.org/0009-0009-8195-452X>;
Bulgun Y. Margaeva – <https://orcid.org/0009-0002-4553-8616>;
Natalia A. Babicheva – <https://orcid.org/0009-0009-0463-1110>;
Svetlana E. Ulyanova – <https://orcid.org/0009-0004-6417-1105>.

Received: 26.09.2025

Accepted: 27.10.2025

Published: 20.03.2026

Abstract

Introduction. In the context of digital transformation and global harmonization of regulatory requirements, the implementation of integrated quality management systems in clinical trials based on ICH E6(R3) has become increasingly relevant.

Aim. To conduct a comparative analysis of ICH E6(R3) against international standards (ISO, GAMP 5, PMBOK/APM-BOK) and assess their adaptability within the Russian regulatory environment.

Materials and methods. A systematic analysis was performed of the Russian regulatory framework – including Federal Law No. 61-FZ of April 12, 2010; Decision No. 79 of the Eurasian Economic Commission Council of November 3, 2016, approving the Good Clinical Practice Rules of the Eurasian Economic Union; and GOST R 52379-2005 "Good Clinical Practice" – as well as international guidelines (ICH, ISO, EMA, PMI, ISPE) and scientific publications from 2020 to 2025 indexed in Scopus and Web of Science.

Results and discussion. It was established that ICH E6(R3) necessitates a shift from reactive oversight to proactive quality management through the integration of risk-based approaches, digital technologies, and interdisciplinary standards. Within the Russian context, gaps in regulatory provisions and insufficient integration of quality management systems were identified.

Conclusion. To align with ICH E6(R3), Russian regulatory authorities and organizations must modernize internal processes, implement Risk-Based Quality Management (RBQM), and harmonize national requirements with international standards.

Keywords: clinical trials, ICH E6(R3), PMBOK/APM-BOK, GAMP 5, ISO, quality, risk, project management

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. All authors contributed equally to the conception, preparation, writing, and editing of the manuscript. Mikhail M. Kamkha – conceptualization of the study, methodology, and critical review of the text. Bulgun Y. Margaeva – analysis of regulatory documents and preparation of sections related to regulatory aspects. Natalia A. Babicheva – collection and systematization of literature sources, text editing. Svetlana E. Ulyanova – preparation and formatting of tables, figures, and references. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Compliance with the principles of ethics. This article complies with the ethical standards developed in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects" with the 2000 amendments and the "Rules of Clinical Practice in the Russian Federation" approved by order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated June 19, 2003, No. 266.

For citation: Kamkha M. M., Margaeva B. Y., Babicheva N. A., Ulyanova S. E. Evolution of Clinical Trials: A Comprehensive Analysis of ICH E6(R3) and Integrated Quality Management Systems in the Pharmaceutical Industry. *Drug development & registration*. 2026;15(2):112–124. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2191>

ВВЕДЕНИЕ

Фармацевтическая экосистема клинических исследований претерпела значительные изменения за последнее десятилетие, что потребовало пересмотра подходов к клиническим исследованиям. Технологи-

ческие достижения, эволюция регуляторных ожиданий и сдвиги в парадигмах терапевтического развития привели к необходимости перехода от реактивного контроля к проактивному, интегрированному управлению качеством. Ключевым драйвером этой

трансформации стало обновление международного руководства ICH E6(R3), которое ушло от «инструктивного подхода – делай так и все получится» и перешло к требованию для организаций концептуально понимать всю среду GxP и смежных стандартов, дополнительно фокусируется на принципах риск-ориентированного управления качеством (RBQM) и требует синергии с другими стандартами – от ISO и GAMP 5 до методологий управления проектами [1–4].

Несмотря на растущее внимание к ICH E6(R3) в мировой литературе, остается недостаточно исследований, систематизирующих его интеграцию с междисциплинарными стандартами и оценивающих возможности адаптации в национальных регуляторных системах, включая Российскую Федерацию. Особенно остро стоит вопрос гармонизации требований к исследованиям с участием уязвимых групп, в том числе детей, а также обеспечения этической и правовой основы цифровой трансформации клинических исследований.

Целью данной работы является комплексный анализ ICH E6(R3) в контексте интегрированных систем управления качеством, включая сравнение с международными стандартами (ISO 9001, ISO 31000, GAMP 5, PMBOK/APM-BOK) и оценку перспектив гармонизации с российским законодательством. Особое внимание уделено роли правительства РФ, нормативно-правовой базе и этическим аспектам проведения клинических исследований на территории Российской Федерации.

В статье представлены результаты системного анализа нормативных документов и научных публикаций за 2020–2025 гг., а также предложена модель интеграции стандартов для повышения эффективности и качества клинических исследований в условиях российской фармацевтической экосистемы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе выполнен сравнительный и системный анализ международных и национальных нормативных документов, а также научной литературы по управлению качеством в клинических исследованиях (таблица 1).

В качестве первичных источников использованы:

- международные руководства: ICH E6(R3)^{1,2,3}, ICH Q9, ICH Q10, GAMP 5 (ISPE, 2022), PMBOK® Guide (7th ed.)⁴, APM Body of Knowledge (7th ed.), стандар-

¹ Integralt.com. Available at: <https://www.integralt.com/blog/ich-e6r3-guideline-2025>. Accessed: 26.09.2025.

² Ispe.org. Available at: <https://ispe.org/sites/default/files/concept-papers/application-gamp5-implementation-operation-gxp-compliant-clinical.pdf>. Accessed: 26.09.2025.

³ NIHR. Clinical Trials Toolkit. Available at: <https://www.ct-toolkit.ac.uk/news/summary-key-changes-ich-e6-r3-guidelines>. Accessed: 26.09.2025.

⁴ PMBOK® Guide. Available at: <https://www.pmi.org/standards/pmbok>. Accessed: 26.09.2025.

ты ISO 9001:2015⁵, ISO 31000:2018⁶, ISO 27001:2022⁷, ISO 21500;

- нормативно-правовая база Российской Федерации: Федеральный закон РФ № 61 от 12 апреля 2010 г., решение Совета ЕЭК 79 «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза» от 03 ноября 2016, ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика»⁸.

Научная литература отобрана из баз данных Scopus, Web of Science и PubMed за период 2020–2025 гг. с использованием ключевых запросов: *ICH E6(R3)*, *risk-based quality management (RBQM)*, *GAMP 5*, *clinical trial data integrity*, *ISO standards in clinical research*. В анализ включены рецензируемые статьи, регуляторные документы и авторитетные white papers, соответствующие тематике исследования [3–9].

Методологической основой работы послужил сравнительный анализ требований международных стандартов и российского законодательства с последующей синтезирующей интерпретацией, направленной на выявление возможностей интеграции, существующих пробелов и барьеров внедрения интегрированных систем управления качеством в условиях российской фармацевтической экосистемы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фундаментальные изменения в управлении клиническими исследованиями

Эти изменения наиболее ярко проявляются в отказе от традиционной «изолированной» ментальности GCP, которая сохранялась с момента первоначального внедрения руководства. Если ранее организации могли рассматривать соответствие GCP как самостоятельное требование, то ICH E6(R3) явно позиционирует его как центральный элемент во взаимосвязанной матрице ICH, систем менеджмента качества ISO 9000 и 9001, рамок управления рисками ISO 31000 и операционных лучших практик (рисунок 1). Схема интеграции стандарта ICH GCP E6(R3) с другими стандартами и подходами: ICH Q9 (управление рисками) и ISO 31000; ICH Q10 и ISO 9001:2015 (система качества); PMBOK/APM-BOK и ISO 21500 (управление проектами); GAMP 5 и ISO 27001 (валидация компьютеризированных систем и безопасность данных).

⁵ ISO 9001:2015. Quality management systems – Requirements. Available at: <https://www.iso.org/standard/62085.html>. Accessed: 26.09.2025.

⁶ ISO 31000:2018. Risk management – Guidelines. Available at: <https://www.iso.org/standard/65694.html>. Accessed: 26.09.2025.

⁷ ISO/IEC 27001:2022. Information security, cybersecurity and privacy protection – Information security management systems – Requirements. Available at: <https://www.iso.org/standard/82875.html>. Accessed: 26.09.2025.

⁸ ГОСТ Р 52379-2005. Надлежащая клиническая практика. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200041263>. Ссылка активна на 26.09.2025.

Таблица 1. Сравнительный анализ стандартов и руководств
Table 1. Comparative Analysis of Standards and Guidelines

Точка анализа Point of analysis	ISO 9001:2015	ICH Q10	ICH Q9	ICH GCP E6 R3	PMBOK v7	APM-BOK	ISO 27001	ISO 31000
Контекст организации Organization Context	Определение внутренних и внешних факторов, влияющих на организацию Identification of internal and external factors affecting the organization	Фокусируется на фармацевтической системе качества и ее взаимодействии с внешней средой Focuses on the pharmaceutical quality system and its interaction with the external environment	Рассматривает управление рисками в контексте качества продукции Considers risk management in the context of product quality	Учитывает регуляторные и этические аспекты клинических исследований Considers regulatory and ethical aspects of clinical trials	Определение заинтересованных сторон и их требований Identifying stakeholders and their requirements	Анализ внешней и внутренней среды проекта Analysis of the external and internal environment of the project	Определение контекста информационной безопасности Defining the context of information security	Определение контекста управления рисками Defining the risk management context
Лидерство Leadership	Руководство и обязательство высшего руководства Leadership and commitment of senior management	Обязательства руководства в обеспечении качества продукции Management commitment to product quality	Лидерство в управлении рисками Leadership in risk management	Обязательства руководства в соблюдении GCP Management commitment to GCP compliance	Роль руководителя проекта и его обязательства The role of the project manager and his/her responsibilities	Лидерство и управление проектом Leadership and project management	Лидерство и обязательства в области информационной безопасности Leadership and commitment to information security	Лидерство и обязательства в управлении рисками Leadership and commitment in risk management
Планирование Planning	Планирование действий для достижения целей в области качества Planning actions to achieve quality objectives	Планирование фармацевтической системы качества Planning a pharmaceutical quality system	Планирование управления рисками Risk management planning	Планирование клинических исследований Clinical trial planning	Планирование управления проектом Project management planning	Планирование проекта Project planning	Планирование мер по обеспечению информационной безопасности Planning measures to ensure information security	Планирование управления рисками Risk management planning
Поддержка Support	Управление ресурсами, компетенциями, осведомленностью и коммуникациями Management of resources, competencies, awareness and communications	Управление ресурсами и компетенциями Resource and competency management	Поддержка управления рисками Risk management support	Управление ресурсами и обучение персонала Resource management and staff training	Управление ресурсами и коммуникациями Resource and communications management	Управление ресурсами и заинтересованными сторонами Resource and stakeholder management	Поддержка информационной безопасности Information security support	Поддержка управления рисками Risk management support
Деятельность Activity	Операционное планирование и управление процессами Operational planning and process management	Управление процессами в фармацевтической системе качества Process management in the pharmaceutical quality system	Интеграция управления рисками в процессы Integrating risk management into processes	Проведение клинических исследований Conducting clinical trials	Выполнение проекта Project execution	Управление проектом Project management	Операционное управление информационной безопасностью Operational information security management	Интеграция управления рисками в процессы Integrating risk management into processes

Окончание таблицы 1

Точка анализа Point of analysis	Оценка эффективности Performance assessment									
ISO 9001:2015	Мониторинг, измерение, анализ и оценка Monitoring, measurement, analysis and evaluation	Постоянное улучшение системы менеджмента качества Continuous improvement of the quality management system								
ICH Q10	Мониторинг и измерение эффективности системы качества Monitoring and measuring the effectiveness of the quality system	Постоянное улучшение фармацевтической системы качества Continuous improvement of the pharmaceutical quality system								
ICH Q9	Оценка эффективности управления рисками Evaluation of risk management effectiveness	Улучшение управления рисками Improving risk management								
ICH GCP E6 R3	Мониторинг и аудит клинических исследований Monitoring and audit of clinical trials	Улучшение процессов клинических исследований Improving clinical research processes								
PMBOK v7	Мониторинг и контроль проекта Project monitoring and control	Улучшение процессов управления проектом Improving project management processes								
APM-BOK	Оценка проекта Project evaluation	Улучшение управления проектом Improving project management								
ISO 27001	Мониторинг и измерение информационной безопасности Monitoring and measuring information security	Постоянное улучшение информационной безопасности Continuous improvement of information security								
ISO 31000	Мониторинг и пересмотр управления рисками Monitoring and reviewing risk management	Улучшение управления рисками Improving risk management								

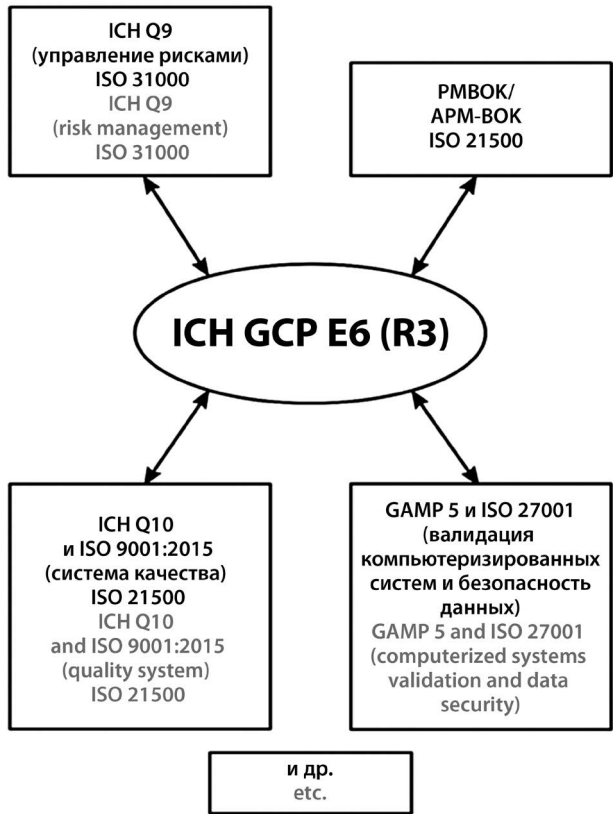


Рисунок 1. Схема интеграции стандарта ICH GCP E6(R3) с другими стандартами и подходами: ICH Q9 (управление рисками) и ISO 31000; ICH Q10 и ISO 9001:2015 (система качества); PMBOK/APM-BOK и ISO 21500 (управление проектами); GAMP 5 и ISO 27001 (валидация компьютеризированных систем и безопасность данных)

Figure 1. Integration diagram of the ICH GCP E6(R3) standard with other frameworks and approaches: ICH Q9 (risk management) and ISO 31000; ICH Q10 and ISO 9001:2015 (quality system); PMBOK/APM-BOK and ISO 21500 (project management); GAMP 5 and ISO 27001 (computerized system validation and data security)

Рассмотрим пример международного, многоцентрового онкологического исследования, включающего элементы децентрализованных клинических исследований (DCT). В рамках традиционных интерпретаций GCP спонсоры могли сосредоточиться исключительно на частоте визитов для мониторинга и заполнении индивидуальных регистрационных карт.

ICH E6(R3) требует более сложного подхода, который одновременно учитывает:

- требования к целостности данных из ICH E6(R3);
- принципы управления рисками из ICH Q9 [2];
- ожидания в отношении систем качества из ICH Q10;
- статистические соображения из ICH E9;
- дизайн международных/многоцентровых исследований из ICH E;
- валидацию цифровых технологий в соответствии с GAMP 5;

- защиту данных пациентов – участников клинического исследования в соответствии с GDPR и 152 ФЗ.

Акцент руководства на интеграции является прямым ответом на несколько критических проблем отрасли, возникших в последние годы [8–10].

Во-первых, сложность дизайна клинических исследований возросла экспоненциально – с адаптивными протоколами, новыми конечными точками и инновационными технологиями, ставшими стандартом, а не исключением.

Во-вторых, глобализация клинических исследований создала новые проблемы управления. То же онкологическое исследование, упомянутое ранее, может включать центры в 15 странах, каждая из которых имеет уникальные регуляторные требования, культурные особенности и инфраструктуры здравоохранения. ICH E6(R3) предоставляет рамки для навигации по этой сложности через акцент на подходах, основанных на рисках, которые поддерживают качество, учитывая при этом законодательные региональные различия.

В-третьих, цифровая трансформация клинических исследований опередила традиционные модели управления. Распространение систем электронного сбора данных (EDC), носимых устройств и приложений искусственного интеллекта в клинических исследованиях создало новые измерения рисков и сообщений качества. Например, спонсор, внедряющий инструмент анализа изображений на основе ИИ, должен теперь учитывать:

- требования к валидации алгоритмов;
- происхождение данных и их прослеживаемость;
- процессы контроля изменений для моделей машинного обучения;
- постоянный мониторинг производительности.

Все это – при соблюдении основных принципов GCP [1, 4–6].

В-четвертых, эволюция отрасли в сторону подхода, ориентированного на пациента – участника клинического исследования, требует новых подходов к управлению. ICH E6(R3) формализует ожидания в отношении вовлечения пациентов – участников клинического исследования на протяжении всего жизненного цикла исследования, от разработки протокола до публикации результатов. Это представляет собой значительное отклонение от традиционных моделей, ориентированных на спонсоров, и требует соответствующих изменений в системах качества, программах обучения и операционных процессах.

Последствия этого сдвига в управлении особенно очевидны в трех ключевых областях [2, 3, 6].

- 1. Системы управления качеством.** Организации должны теперь разрабатывать системы управления качеством, которые бесшовно интегрируют требования GCP с другими руководствами ICH и международными стандартами.
- 2. Управление рисками.** Акцент руководства на подходах, основанных на рисках, требует от организаций внедрения корпоративных рамок управ-

ления рисками, которые связывают клинические операции с системами качества.

- 3. Межфункциональное сотрудничество.** ICH E6(R3) эффективно требует разрушения традиционных функциональных барьеров. Команды клинических операций должны теперь работать в тесном контакте с группами управления данными, обеспечения качества и информационных технологий для обеспечения сквозного соответствия.

Превосходство в управлении проектами через интеграцию PMBOK/APM-BOK

Применение профессиональных методологий управления проектами к клиническим исследованиям представляет собой одно из самых значительных достижений в области проведения исследований. Руководство по управлению проектами (PMBOK) и его аналог, APM Body of Knowledge (APM-BOK), предоставляют структурированные, но гибкие рамки, идеально подходящие для уникальных задач клинических исследований в соответствии с ICH E6(R3) (таблица 2) [5, 10, 11, 15].

Группы процессов PMBOK – инициация, планирование, выполнение, мониторинг и контроль, а также завершение – точно соответствуют жизненному циклу клинических исследований. На этапе инициации спонсоры должны применять методы анализа заинтересованных сторон PMBOK для выявления всех сторон, затрагиваемых исследованием, от исследователей и пациентов – участников клинического исследования до регуляторных органов и местных сообществ. Это соответствует акценту ICH E6(R3) на комплексной оценке рисков и операционной осуществимости [1, 7].

Этап планирования значительно выигрывает от методологии структурной декомпозиции работ (WBS) PMBOK. Клинические исследования представляют собой одни из самых сложных проектов в любой отрасли, часто включающих сотни видов деятельности в нескольких странах. Правильно построенная WBS с внедрением метода «набегающей волны» разбивает эти сложности на управляемые компоненты, обеспечивая отсутствие упущений при сохранении четкой прослеживаемости до требований протокола и регуляторных обязательств.

Акцент APM-BOK на управлении выгодами представляет особую ценность при выполнении клинических исследований. Традиционные подходы часто сосредоточены на проведении самого исследования, а не на конечных выгодах – надежных данных для регуляторного представления и в конечном итоге улучшении результатов для пациентов – участников клинического исследования, что соответствует требованию ICH GCP E6 (R3) по определению факторов, критических для качества (CtQ). Рамка реализации выгод APM-BOK помогает спонсорам сохранять этот стратегический взгляд на протяжении всего исследования [11–13].

Таблица 2. Таблица сравнения PMBOK v7 и APM-BOK

Table 2. Comparison of PMBOK v7 and APM-BOK

Область управления Management area	PMBOK v7 (Project Management Institute)	APM-BOK (Association for Project Management)	Применение в клинических исследованиях Application in clinical trials
Принципы управления Management principles	12 принципов (например, stewardship, системное мышление, адаптивность) 12 principles (e.g., stewardship, systems thinking, adaptability)	7 областей компетенций (управление проектами, программами, портфелями) 7 areas of competence (project, program, portfolio management)	Интеграция принципов для обеспечения гибкости и соответствия GCP Integrating principles to ensure flexibility and GCP compliance
Жизненный цикл проекта Project life cycle	Инициация, планирование, выполнение, мониторинг, завершение Initiation, planning, execution, monitoring, completion	Предпроектная фаза, планирование, реализация, завершение, оценка выгод Pre-project phase, planning, implementation, completion, benefit assessment	Соответствие этапам клинического исследования (от разработки протокола до регистрации результатов) Compliance with the stages of a clinical trial (from protocol development to registration of results)
Заинтересованные стороны Stakeholders	Идентификация, анализ, вовлечение, мониторинг взаимодействия Identification, analysis, engagement, and interaction monitoring	Управление ожиданиями, коммуникация, разрешение конфликтов Expectation management, communication, conflict resolution	Взаимодействие с исследователями, пациентами, регуляторами, спонсорами Interaction with researchers, patients, regulators, sponsors
Планирование Planning	Разработка базового плана (scope, schedule, cost, quality) Developing a baseline plan (scope, schedule, cost, quality)	Стратегическое планирование, управление рисками, ресурсами Strategic planning, risk management, resources	Разработка протокола, бюджета, графика, управления рисками (ICH E6(R3)) Development of protocol, budget, schedule, risk management (ICH E6(R3))
Работа с требованиями Working with requirements	Сбор, анализ, документирование, управление требованиями Collection, analysis, documentation, and management of requirements	Определение и управление ожиданиями заинтересованных сторон Defining and managing stakeholder expectations	Формирование URS (User Requirements Specification) для EDC/CTMS-систем Formation of URS (User Requirements Specification) for EDC/CTMS systems
Разработка графика Schedule development	Методы CPM, PERT, Agile CPM, PERT, and Agile methods	Планирование этапов, критический путь, гибкие методологии Milestone planning, critical path, agile methodologies	Планирование визитов пациентов, мониторинга, анализов данных Planning patient visits, monitoring, and data analysis
Управление рисками Risk management	Идентификация, анализ, планирование реагирования, мониторинг (ICH Q9) Identification, analysis, response planning, monitoring (ICH Q9)	Интегрированное управление рисками, анализ возможностей Integrated risk management, opportunity analysis	Рискориентированный мониторинг (RBM), управление отклонениями от протокола Risk-based monitoring (RBM), protocol deviation management
Управление качеством Quality management	Планирование качества, обеспечение, контроль (ICH E6, ISO 9001) Quality planning, assurance, control (ICH E6, ISO 9001)	Системы менеджмента качества, непрерывное улучшение Quality management systems, continuous improvement	Мониторинг KQIs, соблюдение GCP, валидация данных KQI monitoring, GCP compliance, data validation
Управление ресурсами Resource Management	Планирование, приобретение, развитие, контроль ресурсов Planning, acquisition, development, and control of resources	Управление командой, поставщиками, материальными ресурсами Management of teams, suppliers, and material resources	Управление персоналом исследований, оборудованием, расходными материалами Management of research personnel, equipment, and consumables

Окончание таблицы 2

Область управления Management area	PMBOK v7 (Project Management Institute)	APM-BOK (Association for Project Management)	Применение в клинических исследованиях Application in clinical trials
Управление коммуникациями Communications management	Планирование, управление, мониторинг коммуникаций Planning, management, and monitoring of communications	Эффективные коммуникации, отчетность, документооборот Effective communications, reporting, and document management	Отчетность перед регуляторами, этическими комитетами, спонсорами Reporting to regulators, ethics committees, and sponsors
Управление закупками Procurement management	Планирование, проведение, контроль закупок Planning, implementation, and control of procurement	Управление контрактами, поставщиками Contract and supplier management	Закупка оборудования, лекарственных препаратов, услуг CRO Purchase of equipment, drugs, CRO services
Управление изменениями Change management	Интегрированное управление изменениями Integrated change management	Управление конфигурацией, контроль версий Configuration management, version control	Изменения в протоколе, адаптивный дизайн исследований Protocol changes, adaptive study design
Мониторинг и контроль Monitoring and control	Отслеживание KPIs, анализ отклонений, корректирующие действия KPI tracking, deviation analysis, corrective actions	Управление производительностью, контроль качества Performance management, quality control	Мониторинг KQIs, соблюдение QTLs, аудиты Monitoring of KQIs, compliance with QTLs, audits
Управление выгодами Benefits management	Оценка и реализация выгод (новшество в PMBOK 7) Benefits Measurement and Realization (new in PMBOK 7)	Центральное место в APM-BOK Central place in APM-BOK	Оценка клинической значимости, улучшение результатов для пациентов Assessing clinical significance, improving patient outcomes
Интеграция Integration	Увязка всех процессов и областей знаний Linking all processes and areas of knowledge	Голосовой подход к управлению проектом A voice-based approach to project management	Координация клинических, регуляторных, операционных аспектов Coordination of clinical, regulatory, and operational aspects
Адаптивные подходы Adaptive approaches	Гибкие и гибридные методологии Flexible and hybrid methodologies	Agile, приращаемое развитие Agile, incremental development	Адаптивные дизайны исследований, промежуточные анализы Adaptive study designs, interim analyses
Устойчивость Sustainability	Учет факторов устойчивости Consideration of sustainability factors	Управление воздействием на окружающую среду Environmental Impact Management	Экологичные практики в клинических исследованиях Green practices in clinical research
Лидерство Leadership	Развитие команды, мотивация, разрешение конфликтов Team development, motivation, conflict resolution	Стратегическое лидерство, управление изменениями Strategic leadership, change management	Лидерство в междисциплинарных командах исследований Leadership in cross-functional research teams
Управление знаниями Knowledge Management	Сбор, распространение, применение знаний Collection, dissemination, and application of knowledge	Организационное обучение, управление информацией Organizational learning, information management	Архивирование данных, обмен лучшими практиками Data archiving, sharing best practices
Завершение проекта Completion of the project	Формальное закрытие, извлеченные уроки Formal closure, lessons learned	Оценка результатов, передача выгод Evaluation of results, transfer of benefits	Закрытие исследования, подготовка финального отчета, публикация результатов Closing the study, preparing the final report, publishing the results

**Мониторинг и контроль
в клинических исследованиях:
переход к управлению на основе данных**

Мониторинг и контроль в клинических исследованиях претерпевают значительные изменения благодаря внедрению современных методов управления проектами и цифровых технологий. Традиционные подходы, основанные на ежемесячных отчетах с субъективной интерпретацией данных, постепенно замещаются системами, обеспечивающими анализ в ре-

альном времени и измеримые показатели. Это позволяет исследовательским командам и спонсорам оперативно выявлять проблемы и принимать обоснованные решения на основе объективных данных [4, 12]. Примеры приведены в таблице 3.

Требования ICH E6(R3) к мониторингу, основанному на рисках, предполагают непрерывный сбор и анализ данных, использование объективных метрик и проактивное управление. Цифровые дашборды и автоматизированные системы мониторинга позволяют своевременно выявлять проблемы, оптими-

Таблица 3. Примеры KPIs, KQIs, CtQs, QTLs в клинических исследованиях

Table 3. Examples of KPIs, KQIs, CtQs, and QTLs in Clinical Trial

Тип метрики Metric type	Определение Definition	Примеры Examples	Цель применения Purpose of application
KPI (Key Performance Indicators)	Показатели, отражающие эффективность процессов и прогресс проекта Indicators reflecting process efficiency and project progress	– Темпы набора пациентов. – Соблюдение графика исследования. – Затраты на пациента. – Время обработки данных – Patient recruitment rate. – Adherence to the study schedule. – Costs per patient. – Data processing time	Контроль сроков, бюджета и операционной эффективности Control of deadlines, budget and operational efficiency
KQI (Key Quality Indicators)	Показатели, отражающие качество данных и соблюдение протокола Indicators reflecting data quality and protocol adherence	– Процент отклонений от протокола. – Полнота и точность заполнения CRF (Case Report Forms). – Частота ошибок в данных. – Количество запросов на разъяснение (queries) – Protocol deviation rate. – Completeness and accuracy of CRF (Case Report Forms). – Data error rate. – Number of clarification requests (queries)	Обеспечение целостности данных и соответствия GCP Ensuring data integrity and GCP compliance
CtQ (Critical-to-Quality)	Характеристики, критичные для качества исследования и безопасности пациентов Characteristics critical to study quality and patient safety	– Точность дозировки исследуемого препарата. – Соблюдение критериев включения/исключения. – Полнота информированного согласия. – Своевременность регистрации нежелательных явлений – Accuracy of study drug dosage. – Compliance with inclusion/exclusion criteria. – Completeness of informed consent. – Timely reporting of adverse events	Гарантия надежности результатов и защиты пациентов Ensuring reliable results and patient protection
QTL (Quality Tolerance Limits)	Предельно допустимые значения для критических параметров качества Maximum permissible values for critical quality parameters	– Максимально допустимый процент пропущенных визитов. – Допустимый уровень ошибок в данных. – Время реакции на серьезные нежелательные явления – Maximum acceptable percentage of missed visits. – Acceptable level of data errors. – Response time to serious adverse events	Определение порогов риска, при превышении которых требуются корректирующие действия Determination of risk thresholds that, when exceeded, require corrective action

Таблица 4. Пример онлайн-дашборда для клинического исследования

Table 4. Example of an Online Dashboard for a Clinical Trial

Показатель Indicator	Текущее значение Current value	Плановое значение Planned value	Отклонение Deviation	Статус Status
Темпы набора пациентов Patient recruitment rates	75 % от плана 75 % of the plan	100 %	-25 %	⚠ Требуется внимания ⚠ Needs attention
Процент отклонений от протокола Percentage of deviations from the protocol	5 %	≤3 %	+2 %	✗ Превышен QTL ✗ QTL exceeded
Полнота CRF CRF Completeness	98 %	100 %	-2 %	✅ В пределах нормы ✅ Within normal limits
Количество запросов на разъяснение Number of requests for clarification	15	≤10	+5	⚠ Требуется внимания ⚠ Needs attention
Время реакции на нежелательные явления Adverse event response time	24 часа 24 hours	≤48 часов ≤48 hours	✅ В пределах нормы ✅ Within normal limits	✅ Соответствует требованиям ✅ Meets requirements

зировать ресурсы и повышать качество данных; для удобства приведены примеры онлайн-дашборда для клинического исследования в таблице 4 [12, 13].

Валидация компьютеризированных систем и соответствие GAMP 5

Цифровая трансформация клинических исследований кардинально изменила подходы к сбору, обработке и хранению данных, сделав валидацию ком-

пьютеризированных систем (CSV) критически важным компонентом регуляторного соответствия. В этом контексте GAMP 5 предоставляет фармацевтической отрасли структурированную методологическую рамку для валидации компьютеризированных систем (включая такие системы, как ЕМИАС), что особенно актуально в свете повышенного внимания ICH E6(R3) к целостности и надежности данных (таблица 5) [8, 13, 14].

Таблица 5. Категории компьютеризированных систем и уровень строгости валидации в соответствии с GAMP 5

Table 5. Categories of Computerized Systems and Validation Rigor According to GAMP 5

Категория Category	Описание Description	Примеры Examples	Уровень строгости валидации Validation rigor level
Категория 1 Category 1	Инфраструктурное ПО (операционные системы, базы данных) Infrastructure software (operating systems, databases)	Windows Server, Oracle Database	Низкий (требуется минимальная валидация) Low (minimal validation required)
Категория 3 Category 3	Коммерческие готовые решения (COTS – Commercial Off-The-Shelf) с конфигурацией Commercial Off-The-Shelf (COTS) solutions with configuration	EDC-системы (например, Medidata Rave, OpenClinica) EDC systems (e.g. Medidata Rave, OpenClinica)	Средний (валидация конфигурации) Medium (configuration validation)
Категория 4 Category 4	Конфигурируемые COTS (системы, требующие настройки под специфические нужды) Configurable COTS (systems that require customization for specific needs)	CTMS с кастомизированными отчетами CTMS with customized reports	Высокий (валидация конфигурации и интеграции) High (configuration and integration validation)
Категория 5 Category 5	Специально разработанное ПО (custom-built) Custom-built software	Алгоритмы ИИ для анализа медицинских изображений, специализированные EDC-, ЕМИАС-системы AI algorithms for medical image analysis, specialized EDC and EMIA systems	Очень высокий (полная валидация жизненного цикла) Very high (full life cycle validation)

Особую озабоченность вызывает ситуация в Российской Федерации, где в медицинских учреждениях активно внедряются единые цифровые платформы, такие как ЕМИАС (Единая медицинская информационно-аналитическая система), предназначенные для хранения медицинских карт, результатов лабораторных и инструментальных исследований, назначений и других клинических данных. Именно эти данные зачастую используются в качестве первичной документации в рамках клинических исследований, как это определено в ICH E6(R3). Однако на сегодняшний день такие системы не проходят формальную валидацию в соответствии с принципами GAMP 5, а их эксплуатация не сопровождается валидационными отчетами, протоколами тестирования, сертификатами соответствия или другими документами, подтверждающими целостность, точность и прослеживаемость данных. Это создает серьезный регуляторный риск: в случае международной инспекции (например, FDA или EMA) или аудита спонсора невозможно продемонстрировать, что данные, извлеченные из ЕМИАС, являются надежными и соответствуют требованиям ALCOA+ (Attributable, Legible, Contemporaneous, Original, Accurate, Complete, Consistent, Enduring, Available). Отсутствие валидации систем, хранящих первичную документацию, прямо противоречит положениям ICH E6(R3) о защите целостности данных и подрывает доверие к результатам исследований, проводимых на территории РФ.

Современные требования ICH E6(R3) к управлению рисками качества и целостности данных полностью сочетаются с подходами GAMP 5. Рискоориентированный подход GAMP 5 позволяет оптимизировать валидационные процессы, сосредоточивая усилия на наиболее критических аспектах систем, что соответствует принципам ICH E6(R3). Целостность данных, подчеркиваемая в ICH E6(R3), обеспечивается через валидацию систем по GAMP 5, гарантирующую защиту данных от искажений [3, 6, 14].

Комплексная интеграция стандартов ISO для систем управления качеством

Внедрение надежной системы управления качеством (СМК) в соответствии с ICH E6(R3) не может быть достигнуто изолированно. Оно требует целенаправленной интеграции с международно признанными стандартами ISO [6, 8, 12, 15].

ISO 9001:2015 предоставляет структурную рамку для СМК. Его процессный подход требует идентификации ключевых процессов с четкими входами, выходами и показателями. Принцип ориентации на клиента в клинических исследованиях включает не только спонсоров, но и участников исследований. Требования к лидерству означают, что высшее руководство должно активно владеть результатами качества [6, 15].

ISO 27001 решает критический аспект – информационную безопасность. Меры контроля доступа, криптография, физическая безопасность и непрерывность бизнеса защищают данные участников [8].

ISO 31000 предоставляет рамку для управления рисками, которую требует ICH E6(R3). Его процесс – установление контекста, идентификация, анализ, оценка и обработка – становится операционным механизмом для подходов, основанных на рисках [2, 8].

ISO 21500 по управлению проектами устанавливает общий язык и структуру, улучшая координацию между командами [4, 8, 9].

Истинная мощь этих стандартов проявляется в их синергетической интеграции: ISO 9001 – структура СМК, ISO 27001 – защита данных, ISO 31000 – управление рисками, ISO 21500 – эффективное выполнение [6, 8, 15].

Бизнес и операционные преобразования для организаций клинических исследований

Внедрение ICH E6(R3) требует фундаментальной переработки бизнес-операций и организационной культуры [1, 13].

На стратегическом уровне высшее руководство должно воспринимать ICH E6(R3) как катализатор бизнес-превосходства. Прогрессивные организации создают межфункциональные комитеты по управлению, объединяющие лидеров качества, операций и коммерции.

Внедрение бизнес-модели, основанной на рисках, требует комплексных систем управления рисками предприятия. Информационные панели рисков в реальном времени агрегируют данные из клинических операций, финансов и качества.

Операции, ориентированные на клиента, стали обязательными. Ведущие CRO отображают потребности спонсоров и пациентов в критических для качества показателях.

Операционное исполнение требует создания формальной структуры офиса управления проектами (PMO), соответствующей принципам PMBOK. Для инновационных дизайнов исследований гибкие методологии из APB-BOK предоставляют необходимую гибкость [1–9].

Управление ресурсами оптимизируется с помощью ISO 21500. Комплексные рамки компетенций обеспечивают обучение персонала, соответствующее требованиям ICH E6(R3) [1–4].

Системы управления качеством претерпевают революцию: традиционная СМК уступает место интегрированным, процессно-ориентированным системам. Технологии процессной аналитики позволяют анализировать исторические данные для выявления неэффективности [6].

Цифровая инфраструктура требует трансформационных изменений. Информационная безопасность стала ключевым бизнес-императивом. Валидация технологий следует методологиям GAMP 5 [8–10].

Системы финансового управления должны развиваться параллельно. Ведущие организации разрабатывают сложные рамки KPI, отслеживающие производительность в реальном времени [2].

Человеческий аспект нельзя недооценивать. Успешное внедрение требует глубоких культурных изменений. Команды высшего менеджмента должны проходить обучение по требованиям ISO 9001 к лидерству. Программы развития – оснащать сотрудников новыми навыками [6, 12].

Будущие направления и непрерывное улучшение

По мере эволюции клинических исследований должны адаптироваться и управляющие рамки. Искусственный интеллект, данные реального мира и децентрализованные исследования потребуют постоянной адаптации интегрированных подходов.

Развитие цифровых систем управления качеством позволит отслеживать показатели в реальном времени и немедленно принимать корректирующие меры. Достижения в предиктивной аналитике улучшат рискориентированный мониторинг, позволяя предвидеть проблемы до их влияния на качество.

Российский регуляторный и этический контекст

В Российской Федерации регулирование клинических исследований лекарственных препаратов осуществляется в рамках Федерального закона № 61-ФЗ от 12 апреля 2010 г. «Об обращении лекарственных средств», который устанавливает базовые принципы проведения исследований, включая обязательное получение одобрения этического комитета, информированное согласие участников и регистрацию исследования в государственном реестре. С 2015 года, в связи с присоединением России к Евразийскому экономическому союзу (ЕАЭС), национальное регулирование было дополнено решением Совета Евразийской экономической комиссии № 79 от 3 ноября 2016 г., утвердившим правила надлежащей клинической практики (GCP) ЕАЭС. Эти правила имеют прямое действие на территории всех государств – членов Союза и фактически заменили собой национальные требования в части методологии и этики проведения клинических исследований.

Однако на практике наблюдается нестыковка между уровнями регулирования. Несмотря на то, что ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» формально остается действующим документом, он не отражает ни положений решения ЕЭК № 79, ни обновленных требований Ф361 в редакции последних лет. В результате исследовательские центры и спонсоры сталкиваются с нормативной неопределенностью: одни инстанции ссылаются на ГОСТ, другие – на правила ЕАЭС, третьи – на внут-

ренние приказы Минздрава. Это создает риски несогласованности в интерпретации требований и затрудняет внедрение современных подходов к управлению качеством.

Тем не менее в российской нормативной базе до сих пор отсутствуют обязательные требования к:

- синхронизации и гармонизации требований и подходов ICH на национальном или наднациональном уровне;
- внедрению рискориентированного управления качеством (RBQM);
- валидации цифровых систем в соответствии с GAMP 5;
- построению интегрированных систем менеджмента качества (СМК) на основе ISO 9001 и смежных стандартов.

Это создает барьер для участия российских центров в международных мультицентровых исследованиях, а также ставит значительное препятствие для Российских фармпроизводителей на пути регистрации своих препаратов на территории других стран, в частности членов БРИКС, где такие подходы уже стали стандартом де-факто.

Таким образом, для достижения реальной гармонизации с ICH E6(R3) и обеспечения конкурентоспособности российской исследовательской инфраструктуры на глобальном уровне требуется междисциплинарная и межведомственная координация на уровне правительства РФ, включая:

- отмену или актуализацию ГОСТ Р 52379-2005 в соответствии с решением ЕЭК № 79;
- приведение правил GCP ЕАЭС к международному стандарту ICH E6(R3);
- разработку единых методических рекомендаций по внедрению RBQM, валидации цифровых систем и построению СМК;
- включение требований к интегрированному управлению качеством в процедуру аккредитации исследовательских центров;
- расширение полномочий этических комитетов для оценки цифровых, алгоритмических и киберрисков.

Без системной работы на уровне федерального правительства и профильных ведомств (Минздрав, Росздравнадзор, Минэкономразвития, Минпромторг) российская система клинических исследований будет оставаться фрагментированной, что препятствует ее интеграции в глобальную научную и регуляторную экосистему и выходу отечественных лекарственных препаратов на международные рынки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эволюция клинических исследований в направлении интегрированных систем управления качеством знаменует собой переход отрасли на новый уровень зрелости. Анализ показал, что обновленная парадигма качества, закреплённая в ICH E6(R3) и подкре-

пленная совокупностью международных стандартов (ISO 9001, ISO 31000, GAMP 5 и др.), способна существенно повысить результативность и надежность клинических исследований [1–5, 8–10, 13–15].

В российском контексте реализация этой модели сталкивается с пробелами в нормативном регулировании, особенно в части исследований с использованием цифровых технологий (систем ИИ, ЕМИАС и аналогичных платформ) и системного управления рисками. Необходимы инициативы правительства РФ по гармонизации требований с действующими международными требованиями и стимулированию локальных исследований с целью импортозамещения.

Для успешного внедрения ICH E6(R3) российским организациям необходимо: модернизировать внутренние процессы, внедрить RBQM и интегрированные СМК, обучить персонал и укрепить техническую инфраструктуру. Только комплексный подход позволит соответствовать глобальным стандартам, участвовать в международных исследованиях и, главное, обеспечить максимальную защиту прав и безопасности участников клинических исследований в Российской Федерации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bhatt A. The revamped Good Clinical Practice E6(R3) guideline: profound changes in principles and practice. *Perspectives in Clinical Research*. 2023;14(4):167–171. DOI: 10.4103/picr.picr_184_23.
2. Dirks A., Florez M., Torche F., Young S., Slizgi B., Getz K. Comprehensive assessment of risk-based quality management adoption in clinical trials. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2024;58:520–527. DOI: 10.1007/s43441-024-00618-5.
3. Stansbury N., Branco D., McDavid C., Stewart J., Surdam K., Olson N., Perry J., Liska J., Phillips L., Coogan A., Adelfio A., Garson L. Risk-based Quality Management: a case for centralized monitoring. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2025;59(1):199–210. DOI: 10.1007/s43441-024-00719-1.
4. Franchina V., Stabile S., Cenna R., Mannozi F., Federici I., Testoni S., Sinno V., Cagnazzo C. ISO 9001:2015 standard implementation in clinical trial centers: An exploratory analysis of benefits and barriers in Italy. *Contemporary Clinical Trials Communications*. 2023;33:101104. DOI: 10.1016/j.conctc.2023.101104.
5. Florez M., Dirks A., Sullivan L., Young S., Getz K. Adoption Maturity Model for Risk-based Quality Management (RBQM) in Clinical Trials. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2025;59:549–557. DOI: 10.1007/s43441-025-00746-6.
6. Farrell B., Kenyon S., Shakur H. Managing clinical trials. *Trials*. 2010;11:78. DOI: 10.1186/1745-6215-11-78.
7. Morrison B., et al. Quality by Design in clinical trials: pilot with FDA. *Therapeutic Innovation and Regulatory Science*. 2015;49(5):665–673.
8. Pedro F., Veiga F., Mascarenhas-Melo F. Impact of GAMP 5, data integrity and QbD on quality assurance in the pharmaceutical industry: How obvious is it? *Drug Discovery Today*. 2023;28(11):103759. DOI: 10.1016/j.drudis.2023.103759.
9. Aaberg C., Dahmen H., Davies C., Sandau P.L., Srinivasan R. ISO 9001:2015 Versus ICH Q10 – A Comparison. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2021;75(2):188–206. DOI: 10.5731/pdajpst.2020.011692.
10. Minetti M., Topole E., Rondinone I., et al. Patient-centric and decentralized clinical trials in rare diseases. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2025. (In press.)
11. Fneish F., Schaarschmidt F., Fortwengel G. Improving Risk Assessment in Clinical Trials: Toward a Systematic Risk-Based Monitoring Approach. *Current Therapeutic Research*. 2021;95:100643. DOI: 10.1016/j.curtheres.2021.100643.
12. Kandi V., Vadakedath S., Addanki P. S., Godishala V., Pinnelli V. B. Clinical trials: The role of regulatory agencies, pharmacovigilance laws, guidelines, risk management, patenting, and publicizing results. *Borneo Journal of Pharmacy*. 2023;6(1):93–109. DOI: 10.33085/bjop.v6i1.3806.
13. Barnes B., Stansbury N., Brown D., Garson L., Gerard G., Piccoli N., Jendrasek D., May N., Castillo V., Adelfio A., Ramirez N., McSweeney A., Berlien R., Butler P. J. Risk-Based Monitoring in Clinical Trials: Past, Present, and Future. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*. 2021;55:899–906. DOI: 10.1007/s43441-021-00295-8.
14. Ravikumar P., Prasad S. N. Computer System Validation and Data Integrity in GxP Environments. *Journal of Pharmaceutical Innovation*. 2023;18:345–360. DOI: 10.1007/s12247-023-09671-0.
15. Brulotte M., Alvey J. S., Casper T. C., Cook L. J., Dwyer J. P., VanBuren J. M. A risk-based monitoring approach to source data monitoring and documenting monitoring findings. *Contemporary Clinical Trials*. 2024;143:107581. DOI: 10.1016/j.cct.2024.107581.



Математическое моделирование фармакокинетики парентеральных лекарственных препаратов пролонгированного высвобождения

Л. А. Муртазалиева², А. Ю. Савченко², А. Я. Хайменов², А. С. Павлов³,
И. Е. Балакин¹✉, В. И. Пустовойт¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России). 123098, Россия, г. Москва, ул. Живописная, д. 46, стр. 8

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ). 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева» (РХТУ им. Д. И. Менделеева; ФГБОУ ВО РХТУ им. Д. И. Менделеева; РХТУ). 125047, Россия, г. Москва, Миусская площадь, д. 9

✉ Контактное лицо: Балакин Евгений Игоревич. E-mail: evgbalakin@yandex.ru

ORCID: Л. А. Муртазалиева – <https://orcid.org/0009-0006-4885-5165>;

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

А. Я. Хайменов – <https://orcid.org/0009-0000-3128-8025>;

А. С. Павлов – <https://orcid.org/0009-0006-4636-0978>;

Е. И. Балакин – <https://orcid.org/0000-0001-5545-135X>;

В. И. Пустовойт – <https://orcid.org/0000-0003-3396-5813>.

Статья поступила: 12.12.2025

Статья принята в печать: 09.02.2026

Статья опубликована: 10.04.2026

Резюме

Введение. Разработка парентеральных депо-форм лекарственных препаратов с модифицированным высвобождением действующего вещества является критически важным направлением в терапии хронических заболеваний, таких как онкология, шизофрения и сахарный диабет. Эти формы обеспечивают повышенную приверженность лечению, поддержание стабильной концентрации в плазме крови и снижение частоты инъекций. Однако их создание сопряжено с технологическими и фармакокинетическими сложностями, включая нелинейное высвобождение действующего вещества и высокую межиндивидуальную вариабельность.

Цель. Систематический анализ и обобщение современных методологических подходов к математическому моделированию фармакокинетики парентеральных лекарственных препаратов с пролонгированным высвобождением.

Материалы и методы. Проведен целенаправленный поиск публикаций в базах данных PubMed, Google Scholar и Scopus за период 2015–2025 гг. с использованием булевых операторов и сочетаний ключевых слов. В обзор включены данные по клинически применяемым пролонгированным парентеральным формам, а также по полимерным носителям (PLGA, гидрогели, *in situ* гели, гибридные системы). Для иллюстрации инструментальных подходов рассмотрены компартментные ФК-модели, РВРК-модели и модели на основе методов машинного обучения.

Результаты и обсуждение. Обобщены характерные особенности фармакокинетических профилей парентеральных депо-форм, включающие фазы начального выброса, задержки, контролируемого высвобождения и позднего угасания, а также их взаимосвязь с физико-химическими свойствами носителя и лекарственного вещества. Показана связь вариабельности профиля с сочетанием технологических параметров (размер частиц, состав и архитектура полимера), места и способа введения, а также индивидуальными характеристиками пациента. Продемонстрированы возможности нелинейных смешанных эффектов, РВРК-подхода и моделей, основанных на машинном обучении, для описания меж- и внутрисубъектной вариабельности, проведения симуляций режимов дозирования и *in silico* оптимизации разработок. Сформулирована базовая система обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ), отражающая последовательное высвобождение из разных фракций депо и последующее распределение и элиминацию препарата.

Заключение. Математическое моделирование фармакокинетики парентеральных пролонгированных форм является ключевым инструментом концепции MIDD (Model-Informed Drug Development), позволяющим интегрировать механистические знания о высвобождении, абсорбции и распределении с клиническими данными. Предложенная базовая структура ОДУ-модели может служить методологическим каркасом для разработки и адаптации моделей

к конкретным препаратам, что способствует оптимизации состава лекарственной формы, режимов дозирования и сокращению объема дорогостоящих *in vivo* исследований.

Ключевые слова: парентеральные формы модифицированного высвобождения, фармакокинетическое моделирование, механизмы высвобождения, PK-моделирование, вариабельность абсорбции, математические модели депо-форм, разработка лекарственных препаратов на основе моделирования (MIDD)

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

Вклад авторов. Л. А. Муртазалиева, А. Ю. Савченко разработали концепцию и дизайн работы. В. И. Пустовойт участвовал в обработке данных, формировании заключения. А. С. Павлов, Е. И. Балакин проводили поиск и систематизацию литературных данных, разработку математической модели. А. Я. Хайменов участвовал в оформлении статьи.

Для цитирования: Муртазалиева Л. А., Савченко А. Ю., Хайменов А. Я., Павлов А. С., Балакин И. Е., Пустовойт В. И. Математическое моделирование фармакокинетики парентеральных лекарственных препаратов пролонгированного высвобождения. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):125–135. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2259>

Mathematical pharmacokinetics modeling of parenteral depot formulations

Leila A. Murtazaliev², Alla Yu. Savchenko², Alexander Ya. Khaimenov²,
Alexander S. Pavlov³, Evgenii I. Balakin¹✉, Vasily I. Pustovoyt¹

¹ State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency (SRC – FMBC of FMBA Russia). 46/8, Zhivopisnaya str., Moscow, 123098, Russia

² National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute). 31, Kashirskoe shosse, Moscow, 115409, Russia

³ D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia (MUCTR). 9, Miusskaya ploshchad', Moscow, 125047, Russia

✉ **Corresponding author:** Evgenii I. Balakin. **E-mail:** evgbalakin@yandex.ru

ORCID: Leila A. Murtazaliev – <https://orcid.org/0009-0006-4885-5165>;

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

Alexander Ya. Khaimenov – <https://orcid.org/0009-0000-3128-8025>;

Alexander S. Pavlov – <https://orcid.org/0009-0006-4636-0978>;

Evgenii I. Balakin – <https://orcid.org/0000-0001-5545-135X>;

Vasily I. Pustovoyt – <https://orcid.org/0000-0003-3396-5813>.

Received: 12.12.2025

Accepted: 09.02.2026

Published: 10.04.2026

Abstract

Introduction. The development of parenteral depot formulations of drugs with modified release is a critical area in the treatment of chronic diseases such as cancer, schizophrenia, and diabetes. These formulations improve treatment adherence, maintain stable plasma concentrations, and reduce the frequency of injections. However, their development is fraught with technological and pharmacokinetic challenges, including nonlinear release of the active ingredient and high interindividual variability.

Aim. To systematically analyze and summarize current methodological approaches to mathematical modeling of the pharmacokinetics of parenteral long-acting drug formulations.

Materials and methods. A targeted literature search was conducted in PubMed, Google Scholar, and Scopus for the period 2015–2025 using Boolean operators and combinations of relevant keywords. The review includes data on clinically used long-acting parenteral formulations as well as on polymeric carriers (PLGA, hydrogels, *in situ* gels, and hybrid systems). To illustrate instrumental approaches, we considered compartmental PK models, PBPK models, and models based on machine learning methods.

Results and discussion. The characteristic features of pharmacokinetic profiles of parenteral depot formulations are summarized, including the phases of initial burst, lag phase, controlled release, and late decay, as well as their relationship with the physicochemical properties of the carrier and the drug substance. The variability of the profile is shown to be associated with a combination of technological parameters (particle size, polymer composition and architecture), injection site and route of administration, and individual patient characteristics. The capabilities of nonlinear mixed-effects models, PBPK approaches, and machine learning-based models are demonstrated for describing inter- and intraindividual variability, performing simulations of dosing regimens, and supporting *in silico* optimization of formulation development. A basic system of ordinary differential equations (ODEs) is proposed that reflects sequential release from different depot fractions followed by distribution and elimination of the drug.

Conclusion. Pharmacokinetic modeling of parenteral long-acting formulations is a key tool within the MIDD (Model-Informed Drug Development) concept, enabling integration of mechanistic knowledge on release, absorption, and distribution with clinical data. The proposed basic ODE model structure can serve as a methodological framework for developing and adapting models for specific drug products, thereby supporting optimization of formulation composition and dosing regimens and reducing the extent of costly *in vivo* studies.

Keywords: long-acting injectable formulations, pharmacokinetic (PK) modeling, drug release mechanisms, PK modeling, absorption variability, depot mathematical models, model-informed drug development (MIDD)

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. Leila A. Murtazalieva and Alla Yu. Savchenko conceived and developed the study design. Vasily I. Pustovoyt participated in data processing and conclusion formation. Alexander S. Pavlov and Evgenii I. Balakin conducted the literature search, systematization of data, and development of the mathematical model. Alexander Ya. Khaimenov participated in the preparation of the manuscript.

For citation: Murtazalieva L. A., Savchenko A. Yu., Khaimenov A. Ya., Pavlov A. S., Balakin E. I., Pustovoyt V. I. Mathematical pharmacokinetics modeling of parenteral depot formulations. *Drug development & registration*. 2026;15(2):125–135. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2259>

ВВЕДЕНИЕ

Разработка парентеральных депо-форм модифицированного высвобождения представляет собой одно из наиболее востребованных направлений современной фармакотерапии хронических заболеваний, таких как шизофрения, сахарный диабет, состояния, требующие гормональной коррекции, и онкологические патологии [1, 2]. Ключевые преимущества этих форм включают радикальное повышение приверженности лечению за счет устранения необходимости ежедневного приема препаратов, поддержание стабильного терапевтического уровня действующего вещества в организме с минимизацией пиковых колебаний его концентрации, что способствует сохранению клинического эффекта и снижению риска дозозависимых нежелательных реакций [1–3]. Существенное сокращение частоты инъекций – до ежемесячных или даже более редких – не только уменьшает нагрузку на пациентов, но и демонстрирует высокую эффективность при интервалах введения до 12 недель и более [2, 4–6]. Дополнительным преимуществом является возможность проведения инъекций в домашних условиях [7, 8]. Мета-анализы подтверждают, что применение пролонгированных парентеральных антипсихотиков ассоциируется со снижением риска общей смертности на 21 % по сравнению с пероральными формами, а более высокая стоимость инъекции компенсируется снижением затрат на госпитализации и визиты к врачу [4, 9].

Разработка парентеральных депо-форм модифицированного высвобождения остается ресурсоемким и технологически сложным процессом, требующим значительных финансовых и временных затрат. Доклинические и клинические исследования занимают продолжительное время, требуют изучения фармакокинетических параметров *in vivo* после однократного и многократного введения. Значимым фактором являются также технологические трудности создания стабильной лекарственной формы, обеспечивающей

предсказуемое и воспроизводимое высвобождение действующего вещества [10, 11]. Фармакокинетика парентеральных депо-форм пролонгированного высвобождения характеризуется сложными нелинейными процессами, среди которых ключевое значение имеют эффект первоначального «взрывного» высвобождения (burst-release), обусловленный поверхностной адсорбцией действующего вещества и создающий риск токсичности, и flip-flop-фармакокинетики (скорость абсорбции препарата (k_a) меньше, чем скорость его элиминации (k_e), или обратный сценарий), при которой скорость абсорбции становится лимитирующей стадией, что делает стандартный фармакокинетический анализ некорректным [11, 12]. Высокая межиндивидуальная вариабельность абсорбции, зависящая от места инъекции, различных индивидуальных факторов, таких как состояние кожи, характера деградации полимерного носителя, дополнительно осложняет прогнозирование. Методологические ограничения, включая сложность отбора проб для построения полной фармакокинетической кривой, подчеркивают важность разработки альтернативных подходов к оценке биоэквивалентности и применения математического моделирования для прогнозирования *in-vivo*-поведения на основе *in-vitro*-данных [10–12].

Математическое моделирование стало неотъемлемым инструментом современной разработки лекарственных препаратов, обеспечивая сдвиг парадигмы в сторону количественного обоснования принимаемых решений. Концепция разработки препаратов на основе моделирования (Model-Informed Drug Development, MIDD) предусматривает применение вычислительных моделей для оптимизации всех этапов фармацевтической разработки – от скрининга кандидатов до начала процедуры регистрации [13]. Этот подход позволяет раскрыть сложное взаимодействие между характеристиками препарата и клиническими исходами, обеспечивая механистическое

понимание фундаментальных процессов. Как продемонстрировано на примере секукинумаба, MIDD-подход позволяет экстраполировать установленные профили эффективности и безопасности на альтернативные пути введения без проведения дополнительных клинических исследований [14]. Широкое признание методологии подтверждается растущим применением физиологически обоснованного фармакокинетического моделирования (Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling, PBPK) при разработке и обосновании возможности регистрации новых лекарственных средств, где его доля среди одобренных FDA препаратов достигает 30 % [15].

Современные подходы включают разнообразные стратегии моделирования: от механистических до эмпирических уравнений, с растущей ролью методов искусственного интеллекта [13]. Перспективные направления включают интеграцию нейронных сетей и классических обыкновенных дифференциальных уравнений, объединяя механистическое моделирование с возможностями глубокого обучения для работы с разреженными клиническими данными [16]. Активное развитие открытых платформ для PBPK-моделирования способствует расширению применения этих методов в академических и регуляторных исследованиях [17].

Целью исследования является систематический анализ и обобщение современных методологических подходов к математическому моделированию фармакокинетики парентеральных лекарственных препаратов с пролонгированным высвобождением. Работа направлена на комплексное рассмотрение фундаментальных основ (фармакокинетические профили, механизмы высвобождения, источники вариативности) и инструментальных методов моделирования (компарментальные, PBPK- и ML-модели) для оценки их возможностей, ограничений и перспектив применения в оптимизации разработки и прогнозирования поведения сложных пролонгированных систем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для подготовки данного обзора применен систематический подход к поиску, отбору и анализу релевантных научных публикаций.

Алгоритм поиска и отбора источников: поиск проводился в электронных базах данных PubMed, Google Scholar и Scopus. Период публикаций: 2015–2025 гг.

Формулировка поисковых запросов: использовались комбинации ключевых терминов и их синонимов с помощью операторов булевой логики (AND, OR). Например, ("long-acting injectable" OR "depot formulation") AND ("pharmacokinetic modeling" OR "PBPK") или ("machine learning" OR "artificial intelligence") AND (pharmacokinetics OR "drug release") AND (prediction OR model).

Критерии включения и исключения: использовались оригинальные исследования и обзоры, посвященные моделированию фармакокинетики депо-форм; описанию механизмов высвобождения; анализу источников вариативности; применению камерных, PBPK- или ML-методов. Исключались публикации, не прошедшие рецензирование; исследования, не связанные с парентеральными формами; статьи, недоступные в полном тексте; дублирующие публикации.

Анализ данных: отобранные публикации проанализированы с акцентом на описание методологии моделирования, тип лекарственной формы, основные выводы и вклад в изучаемую область.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фундаментальные параметры парентеральных депо-форм

Фармакокинетический профиль парентеральных лекарственных форм пролонгированного высвобождения характеризуется сложной многомодальной кривой «концентрация – время», существенно отличающейся от кривой препаратов немедленного высвобождения. Кривая, в зависимости от конкретной формы выпуска, может включать несколько последовательных фаз: начального выброса (burst-release phase), задержки высвобождения (lag-release phase; лаг-фаза), контролируемого медленного высвобождения (power-law phase), контролируемого ускоренного высвобождения (accelerated-release phase) и фазу угасания (degradation and depletion phase).

Фаза начального выброса обусловлена высвобождением лекарственного вещества, адсорбированного на поверхности или находящегося в приповерхностных слоях депо, и может составлять менее 1 % от общей экспозиции, как показано для октреотида LAR [18], или достигать 13–16 % для микросфер лейпрорелина ацетата [19]. Эта фаза имеет критическое значение для безопасности, так как высокие пиковые концентрации ($C_{\max}$) могут ассоциироваться с нежелательными явлениями.

Наличие или отсутствие лаг-фазы (Lag Phase) определяется технологией формирования депо. Например, микросферы на основе поли(лактид-ко-гликолида) (PLGA), такие как октреотид LAR, демонстрируют выраженную лаг-фазу с субтерапевтическими концентрациями в течение 10–14 дней после введения, что отсрочивает время достижения $C_{\max}$ ($T_{\max}$) и начало терапевтического действия [18]. Для лейпрорелинсодержащих депо-форм лаг-фаза может продолжаться несколько дней, при этом $T_{\max}$ наблюдается в пределах 2–4 часов после инъекции [19, 20]. В то же время липидные депо-системы, такие как CAM2029 на основе технологии FluidCrystal®, обеспечивают немедленное начало высвобождения без лаг-фазы [18]. Комбинированные системы, напри-

мер микросферы-гель, могут значительно снижать начальный выброс, обеспечивая более стабильный профиль высвобождения [21].

Ключевым параметром фармакокинетического профиля является фаза контролируемого высвобождения, которая поддерживается за счет постепенной деградации матрикса депо (например, гидролиза эфирных связей в PLGA или ферментативного расщепления для фиброина шелка) и диффузии лекарственного вещества через поры полимерной матрицы. Как демонстрируют исследования микросфер на основе фиброина шелка, кинетика высвобождения может регулироваться степенью кристалличности материала: обработка этанолом увеличивает содержание β -слоистой структуры (шелк II), что снижает начальный выброс и обеспечивает длительное нулевое высвобождение октреотида в течение 102 дней [22]. Введение дополнительных компонентов, таких как гидроксид алюминия, может модулировать кинетику высвобождения, сокращая лаг-фазу и обеспечивая более равномерное высвобождение в течение всего периода [23].

Фаза угасания наступает при истощении депо-формы и характеризуется экспоненциальным снижением концентрации. Ее идентифицируют по точке перегиба на кривой, когда скорость элиминации начинает превышать скорость высвобождения из препарата. Данная фаза важна для определения продолжительности терапевтического действия и интервала между введениями.

Расчет ключевых фармакокинетических параметров для парентеральных депо-форм имеет принципиальные особенности. Площадь под кривой «концентрация – время» (AUC) отражает общую экспозицию, но ее интерпретация требует учета пролонгированного характера высвобождения. Пиковая концентрация (C_{max}) часто имеет меньшую клиническую значимость по сравнению с равновесными концентрациями в интервале дозирования ($C_{av,ss}$), поскольку именно последние коррелируют с фармакодинамическим ответом при длительном применении [18]. Время достижения C_{max} (T_{max}) для парентеральных депо-форм может составлять несколько дней или недель, что радикально отличается от препаратов немедленного высвобождения. Кажущийся клиренс (CL/F) и среднее время удержания в организме (MRT) рассчитываются с учетом продолжающегося процесса высвобождения из депо, что приводит к завышенным значениям периода полувыведения ($t_{1/2}$) по сравнению с растворами для немедленного введения. Ключевым параметром является длительность поддержания концентрации выше минимально эффективного уровня, которая определяет частоту введения. Например, для SAM2029 показано поддержание концентраций октреотида, сопоставимых с трехкратным суточным введением раствора немедленного высвобождения, в течение 4 недель [18]. Для микросфер трипторелина значения $AUC_{0-\tau}$ в

интервалах 0–28 и 56–84 дней составляют 134,42 и 154,72 ч·нг/мл соответственно, подтверждая его устойчивое высвобождение в течение месяца [24]. Особую сложность представляет анализ частичных площадей под кривой (pAUC), которые используются для оценки экспозиции в конкретные клинически значимые периоды, однако их расчет сопряжен с высокой вариабельностью из-за сложности аналитического определения низких концентраций в терминальной фазе и многомодальности профиля [25].

Механизмы высвобождения действующего вещества из парентеральных депо-форм определяются физико-химическими свойствами носителя и могут быть описаны математическими моделями. Диффузия через полимерную матрицу или оболочку регулируется законами Фика и часто моделируется кинетикой нулевого порядка, характеризующей постоянную скорость высвобождения, или первого порядка, где скорость пропорциональна количеству препарата в системе [26]. Например, в микросферах на основе поли(3-гидроксibuтирата) наблюдается начальное быстрое высвобождение около 50 % препарата за 24 часа с последующим нулевым порядком кинетики до 16 дней. Эрозия или деградация носителя, такая как гидролиз PLGA, приводит к разрушению матрицы и высвобождению препарата, что требует использования моделей, учитывающих скорость деградации полимера [27]. При этом гидрофильные препараты демонстрируют высокий начальный выброс (22,8–68,4 %) и полное высвобождение в течение 60 дней, тогда как гидрофобные соединения характеризуются низким начальным выбросом (1,8–18,9 %) и пролонгированным высвобождением до 285 дней, что непосредственно влияет на кинетику деградации полимера [28]. Набухание полимерной матрицы играет ключевую роль, так как увеличение гидрофильности и снижение механической стабильности способствуют проникновению воды и ускорению высвобождения, что подтверждается повышением коэффициента диффузии доксорубина с ростом содержания PEG в PLGA-co-PEG [29]. Близкое распределение белка к поверхности частиц способствует быстрой начальной диффузии и математически описывается уравнением Корригана – Ли для двухфазного высвобождения [30].

Комбинированные механизмы, включающие как диффузию, так и эрозию, являются наиболее реалистичными и описываются моделями типа Хигучи (Higuchi; $\frac{M_t}{M_\infty} = K_H \cdot \sqrt{t}$), которая учитывает оба процесса, или эмпирическими подходами, такими как уравнение Корсмейера – Пеппаса (Korsmeyer – Peppas; $\frac{M_t}{M_\infty} = K_{kp} \cdot t^n$) для установления доминирующего механизма, где M_t – количество ЛВ, высвобождаемого за определенное время (t); M_∞ – общее количество ЛВ; n – диффузионный коэффициент в уравнении Корс-

мейера – Пеппаса; K_H – константа скорости по Хигучи; K_{KP} – константа Корсмейера – Пеппаса [31]. Например, в гибридных липидно-полимерных наночастицах на основе PLGA/лецитина кинетика высвобождения никардипина гидрохлорида лучше всего соответствует модели Корсмейера – Пеппаса с показателями $n = 0,480–0,505$, что указывает на аномальный транспорт, сочетающий диффузию и набухание/эрозию матрицы [32]. Важным аспектом является модуляция пористости матрицы, которая значительно влияет на профиль высвобождения: высокая пористость обеспечивает быстрое и практически полное высвобождение препарата, тогда как низкая пористость способствует более медленному и пролонгированному высвобождению [33]. Электростатические взаимодействия между концевыми группами полимера и заряженными молекулами препарата могут также значительно модулировать кинетику высвобождения, что требует учета в математических моделях [34]. Добавление гидрофильных компонентов, таких как дексаметазона фосфат, ускоряет начальное высвобождение гидрофобных препаратов, но сокращает общую продолжительность высвобождения в результате повышенного проникновения воды и эрозии матрицы [35]. Понимание преобладающего механизма необходимо для выбора корректной математической модели, обеспечивающей точное прогнозирование профиля высвобождения, при этом контроль скорости деградации полимеров позволяет согласовать ее с кинетикой высвобождения лекарственного средства [36]. В гибридных системах, таких как PLGA-микросферы, включенные в pHEMA матрицу, наблюдается снижение начального выброса на 15 % и продолжительное высвобождение до 32 дней, соответствующее модели Хигучи с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,803–0,996$ [37].

Вариабельность фармакокинетических параметров парентеральных депо-форм обусловлена комплексным взаимодействием физиологических, физико-химических и технологических факторов. Среди физиологических детерминант ключевую роль играют реактивный ответ организма на компоненты лекарственного препарата, место инъекции и перфузия ткани: исследования демонстрируют, что введение в дельтовидную мышцу ассоциируется с системной экспозицией на 23,9 % выше по сравнению с ягодичным введением для рисперидона ISM® [38]. При этом возраст может не оказывать влияния на экспозицию, например, оланзапина при применении его пролонгированной парентеральной формы, в отличие от перорального введения, что связано с отсутствием воздействия возрастных изменений желудочно-кишечной абсорбции и пресистемного метаболизма [39]. Физико-химические свойства системы доставки, включая размер частиц, молекулярную массу полимера и соотношение лактид/гликолид, определяют кинетику биodeградации и высвобождения активного фармацевтического ингредиента. Технологи-

ческие параметры, такие как процесс производства и стерилизации, вносят дополнительную неоднородность: некорректная реконституция порошка перед инъекцией может приводить к изменению профиля высвобождения [38]. Существенный вклад вносит вариабельность между случаями, которая для скорости абсорбции, например, каботегавира достигает 38,5 % и связана с различиями в глубине и васкуляризации места инъекции [40]. Такой значительный разброс параметров подчеркивает необходимость учета множества ковариат при построении математических моделей [41]. Для текущего варианта модели была использована асимметричная сигмоидальная функция активации (формула 1 ниже), которая отдельно описывает результат взаимодействия факторов для процессов десорбции и с поверхностного слоя матрицы и медленной деградации ядра.

Методологические подходы к математическому моделированию

Математические модели фармакокинетики парентеральных депо-форм опираются на нелинейные смешанные эффекты (NLME), которые служат основным инструментом для анализа разреженных данных и оценки вариабельности, и структурные модели, описывающие абсорбцию через множество механизмов: модели нулевого и первого порядка, модели с отложенной абсорбцией, а также модели двойного ввода, учитывающие быстрое начальное высвобождение (burst-release) и последующее медленное высвобождение (power-law release).

Например, в исследовании арипипразола микросфер была применена двухфазная модель первого порядка с задержкой абсорбции, где быстрая фаза соответствовала немедленному высвобождению, а медленная – пролонгированному высвобождению из депо [42]. Аналогично для рилпивирин длительного действия использована модель с параллельными путями всасывания первого порядка, где 27,6 % дозы высвобождается через быстрый путь, а остальное – через медленный, с значимым влиянием пола на фармакокинетические параметры [43]. Популяционный подход позволяет разделить общую вариабельность на меж- и внутрииндивидуальную компоненты, а также идентифицировать ковариаты, такие как пол и масса тела, объясняющие различия в фармакокинетических параметрах. В том же исследовании было показано, что пол и генетический полиморфизм CYP2D6 значимо влияют на клиренс и скорость абсорбции, что подчеркивает важность учета популяционной вариабельности при проектировании режимов дозирования [42]. При этом стоит уточнить, что работа с разреженными данными требует тщательного планирования исследований и применения более сложных алгоритмов оценки параметров, чтобы избежать смещенных оценок и обеспечить адекватную прогностическую способность моделей [44]. Наличие субпопуляций с различными профилями

высвобождения дополнительно осложняет моделирование и требует индивидуального подхода к параметризации [45].

Физиологически обоснованное фармакокинетическое моделирование представляет собой мощный инструмент для описания и прогнозирования сложных профилей высвобождения лекарственных средств из парентеральных форм с модифицированным высвобождением. Ключевым аспектом является создание отдельного компартмента, моделирующего депо в месте инъекции, который учитывает процессы диффузии, деградации полимерной матрицы и степень васкуляризации окружающих тканей. Как показано в исследовании Dadgar Pakdel [46], использование биоразлагаемых полимеров, таких как поли(3-гидроксibuтират-ко-3-гидроксивалерат), требует детального описания кинетики высвобождения действующего вещества из депо-формы. В моделировании фармакокинетики депо-форм мелких пептидов, включая октреотид, лейпрорелин и бусерелин, применяется мультикомпарментный подход. Модель обычно включает центральный и периферический компартменты распределения, а также один или несколько компартментов абсорбции, описывающих высвобождение из депо. В работе Cirincione [47] профиль абсорбции эксенатида описан с использованием трех одновременно протекающих процессов: процесса первого порядка, характеризующего быстрое начальное высвобождение, и двух серий транзитных компартментов, описывающих вторую (примерно через 3 недели после инъекции) и третью фазы высвобождения препарата (примерно через 7 недель после инъекции), что демонстрирует существующие возможности расширения базовой модели. Моделирование многопикового профиля, как в случае октреотида LAR, требует учета нескольких параллельных процессов абсорбции с различными кинетическими характеристиками [48]. Для лейпрорелина применялась модель с параллельными процессами первого и нулевого порядка наряду с отсроченным процессом первого порядка, что позволяет описать многоплановое высвобождение [49]. Фармакокинетика трипторелина после внутривенного болюсного введения адекватно описывается трехкомпарментной моделью [50], а для подкожных и внутримышечных депо-форм требуется учет сложных процессов высвобождения с задержками и нулевым порядком [51]. Моделирование рецепторного связывания и даун-регуляция механизмов для трипторелина позволяет описать начальный всплеск и последующее подавление тестостерона [51], при этом количественная связь между концентрацией препарата и эффектом описывается системой дифференциальных уравнений, включающей параметры связывания с рецептором и синтеза гормона.

На основании проведенного анализа возможно сформировать базовую систему обыкновенных дифференциальных уравнений для парентеральных депо-

форм, которая включает уравнения переноса масс в каждом компартменте. При этом поступление действующего вещества в системный кровоток описывается системой уравнений, объединяющих процесс десорбции с поверхностного слоя матрицы и медленной деградации ядра. В связи с неравномерностью гидролиза полимерного носителя, а также наличием других факторов, влияющих на высвобождение, в уравнение может быть добавлена асимметричная сигмоидальная функция активации (формула 1):

$$\alpha(t) = \frac{1}{1 + e^{-k_{rise}(t - t_{rise})}} \cdot \frac{1}{1 + e^{k_{fall}(t - t_{fall})}}, \quad (1)$$

где k_{rise} – константа крутизны восходящей ветви активации, $ч^{-1}$; k_{fall} – константа крутизны нисходящей ветви активации, $ч^{-1}$; t_{rise} – время перегиба для восходящей ветви активации, ч; t_{fall} – время перегиба для нисходящей ветви активации, ч.

Кинетика высвобождения из депо-формы может быть описана следующей системой уравнений (формулы 2–4):

$$\frac{dm_{surface}}{dt} = -k_{surface} \cdot m_{surface}, \quad (2)$$

$$\frac{dm_{depot}}{dt} = -k_{rise} \cdot \alpha(t) \cdot m_{depot}, \quad (3)$$

$$\frac{dm_{pooled}}{dt} = k_{rise} \cdot \alpha(t) \cdot m_{depot} - k_{release} \cdot m_{pooled}, \quad (4)$$

где $m_{surface}$ – масса препарата в поверхностном слое депо, мг; m_{depot} – масса препарата в основном депо, мг; m_{pooled} – масса препарата, поступившего в кровоток, мг; $k_{surface}$ – константа скорости высвобождения с поверхности, $ч^{-1}$; $k_{release}$ – константа скорости высвобождения из активированного депо, $ч^{-1}$.

Конечная система уравнений описывает скорость поступления активного вещества в кровоток и его переход между центральным и периферическим компартментом (формулы 5–7). Описанная выше система уравнений имеет вид:

$$R_{input}(t) = k_{surface} \cdot m_{surface} + k_{release} \cdot m_{pooled}, \quad (5)$$

$$\frac{dm_c}{dt} = R_{input}(t) - CL \cdot \frac{m_c}{V_c} - Q \cdot \frac{m_c}{V_c} + Q \cdot \frac{m_p}{V_p}, \quad (6)$$

$$\frac{dm_p}{dt} = Q \cdot \frac{m_c}{V_c} - Q \cdot \frac{m_p}{V_p}, \quad (7)$$

где $R_{input}(t)$ – общая скорость поступления в системный кровоток; CL – системный клиренс, л/ч; Q – межкомпарментный клиренс, л/ч; m_c – масса препарата в центральном компартменте, мг; m_p – масса препарата в периферическом компартменте, мг; V_c –

объем распределения центрального компартмента, л;
 V_p – объем распределения периферического компартмента, л.

Описанная выше система обыкновенных дифференциальных уравнений была решена в среде R (версия 4.5.1, The R Foundation for Statistical Computing) с использованием пакета deSolve (версия 1.41, Soetaert K., Petzoldt T., Setzer R.W.) для проверки модели в условиях однократного и многократного введения препарата трипторелин в дозе 3,75 мг (рисунки 1 и 2).

Сформированный нами в системе уравнений мультипликативный характер профиля концентрации, как в исследовании Glatard [52], моделируется с помощью нескольких параллельных процессов абсорбции с различными константами скорости. Целостность системы уравнений обеспечивается единым обозначением компартментов и соблюдением баланса масс. Для описания сложной кинетики высвобождения, наблюдаемой у октреотида LAR, могут использоваться взвешенные суммы нескольких транзитных процессов, что позволяет точно воспроизводить многопиковые профили [48]. Моделирование рецепторного связывания и механизмов down-regulation для трипторелина позволяет описать начальный всплеск и последующее подавление тестостерона [51], при этом количественная связь между концентрацией препарата и эффектом описывается системой дифференциальных уравнений, включающей параметры

связывания с рецептором и синтеза гормона. Для лейпрорелина установлено, что снижение концентрации тестостерона ниже 0,35 нг/мл не приводит к дальнейшему уменьшению уровня простатоспецифического антигена, что указывает на наличие минимального базового уровня PSA, независимого от терапии [53]. Данное наблюдение требует модификации классических моделей «эффект – компартмент» путем введения постоянного базового уровня маркера, что особенно важно при моделировании длительной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный литературный анализ в совокупности с результатами использования уравнений демонстрирует возможности математического моделирования фармакокинетики парентеральных форм с пролонгированным высвобождением как ключевого инструмента для преодоления методологических и технологических трудностей, связанных с их разработкой. Комплексное описание многомодальных кривых «концентрация – время» требует применения структурных моделей, учитывающих параллельные процессы абсорбции (например, двухфазные модели с начальным выбросом и последующим пролонгированным высвобождением действующего вещества).

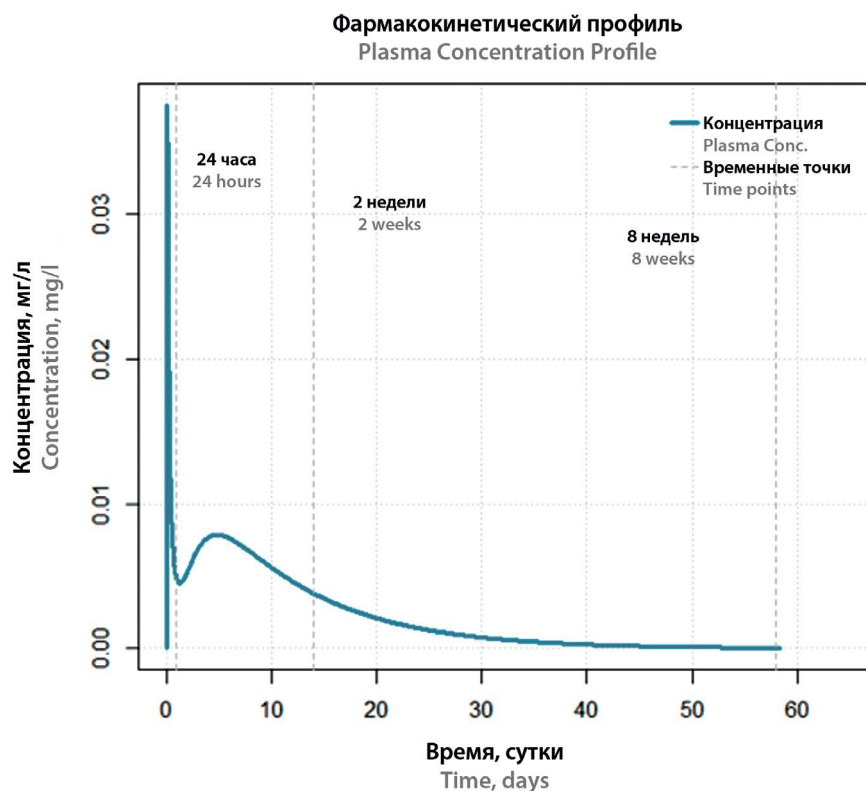


Рисунок 1. Модельный фармакокинетический профиль при однократном введении

Figure 1. Model pharmacokinetic profile after a single administration

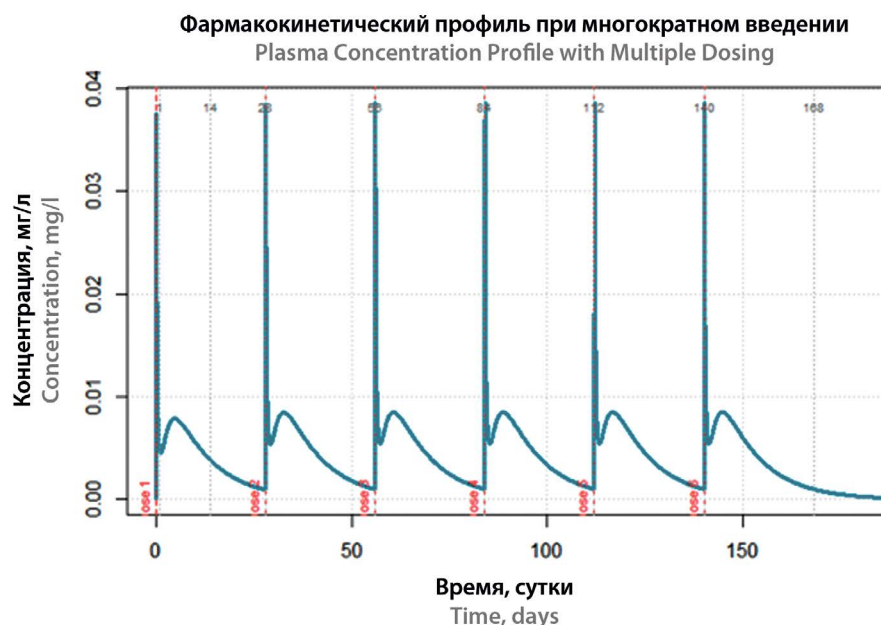


Рисунок 2. Модельный фармакокинетический профиль при многократном введении

Figure 2. Model pharmacokinetic profile after repeated administration

Применение современных вычислительных подходов биологического и математического моделирования (в рамках парадигмы MIDD), включающего как важное звено оценку нелинейных смешанных эффектов (NLME) и физиологически обоснованных фармакокинетических параметров при симуляции, позволяет количественно оценить межиндивидуальную вариабельность и идентифицировать значимые ковариаты (пол, масса тела, генетические факторы), оптимизировать рецептуру лекарственного препарата, режим дозирования и снизить риски, связанные с начальным выбросом и вариабельностью абсорбции.

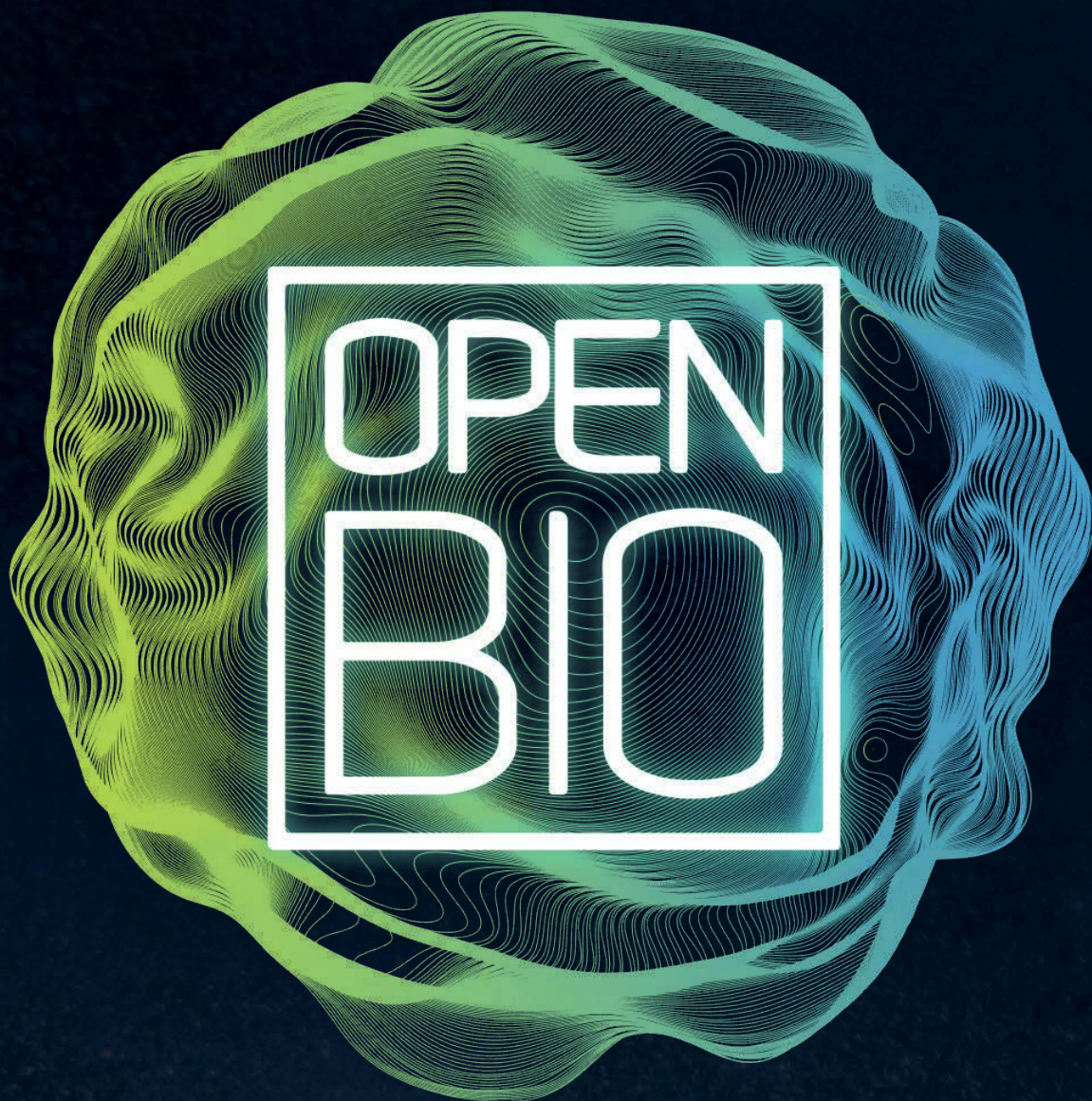
Принятие решений при разработке лекарственных препаратов на основе поддержки математическими моделями позволяет существенно ускорить разработку парентеральных депо-форм с модифицированным высвобождением и вывод на рынок лекарственных препаратов с улучшенными профилями эффективности и безопасности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Castiñeiras-Pardines A., López-Ginés G., García-Orueta G., Trocóniz I.F. Development and evaluation of a model characterizing the release characteristics of a new letrozole long-acting injectable formulation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2025;209:107103. DOI: 10.1016/j.ejps.2025.107103.
- D'Aquino A.I., Dong C., Nguyen L.T., Yan J., Jons C.K., Saouaf O.M., Song Y.E., Eckman N., Kapasi S., Williams C.M., Doulamés V.M., Sen S., Manna M.K., Alakesh A., Lu K., Hall I., Appel E.A. Long-acting hydrogel-based depot formulations of tirzepatide and semaglutide for the management of type 2 diabetes and weight. *bioRxiv: The Preprint Server for Biology*. 2025;2025:662867. DOI: 10.1101/2025.07.02.662867.
- Ghanchi F., Bourne R., Downes S.M., Gale R., Rennie C., Tapply I., Sivaprasad S. An update on long-acting therapies in chronic sight-threatening eye diseases of the posterior segment: AMD, DMO, RVO, uveitis and glaucoma. *Eye*. 2022;36(6):1154–1167. DOI: 10.1038/s41433-021-01766-w.
- Diaby V., Pandey S., Sanogo V., Dhayan Almutairi R., Kanoria Y., Nag S.S. Budget impact of aripiprazole once every 2 months long-acting injectable for adult patients with schizophrenia in the United States. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*. 2025;31(1):53–59. DOI: 10.18553/jmcp.2025.31.1.53.
- Engelman K.D., Engelman A.N. Long-Acting Cabotegravir for HIV/AIDS Prophylaxis. *Biochemistry*. 2021;60(22):1731–40. DOI: 10.1021/acs.biochem.1c00157.
- LeVasseur N., Manna M., Jerzak K.J. An Overview of Long-Acting GnRH Agonists in Premenopausal Breast Cancer Patients: Survivorship Challenges and Management. *Current Oncology*. 2024;31(8):4209–4224. DOI: 10.3390/curroncol31080314.
- Boguszewski C.L., Korbonits M., Artignan A., García A.M., Houchard A., Ribeiro-Oliveira A., de Herder W.W. Evaluating home injection compared with healthcare-setting injection of somatostatin analogs: a systematic literature review. *Endocrine*. 2023;79(3):527–536. DOI: 10.1007/s12020-022-03227-0.
- Pampanini V., Deodati A., Inzaghi E., Cianfarani S. Long-Acting Growth Hormone Preparations and Their Use in Children with Growth Hormone Deficiency. *Hormone Research in Paediatrics*. 2023;96(6):553–559. DOI: 10.1159/000523791.

9. Aymerich C., Salazar de Pablo G., Pachó M., Pérez-Rodríguez V., Bilbao A., Andrés L., Pedruzo B., Castillo-Sintes I., Aranguren N., Fusar-Poli P., Zorrilla I., González-Pinto A., González-Torres M.Á., Catalán A. All-cause mortality risk in long-acting injectable versus oral antipsychotics in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Molecular Psychiatry*. 2025;30(1):263–271. DOI: 10.1038/s41380-024-02694-3.
10. Bao Z., Kim J., Le Devedec F., Clasky A., Allen C. Polymer microparticles in an evolving drug delivery landscape: challenges and the role of machine learning. *International Journal of Pharmaceutics*. 2025;682:125906. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2025.125906.
11. Nkanga C.I., Fisch A., Rad-Malekshahi M., Romic M.D., Kittel B., Ullrich T., Wang J., Krause R. W. M., Adler S., Lammers T., Hennink W.E., Ramazani F. Clinically established biodegradable long acting injectables: An industry perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2020;167:19–46. DOI: 10.1016/j.addr.2020.11.008.
12. Gomeni R., Bressolle-Gomeni F. Convolution-based approach for modeling the paliperidone extended release and Long-Acting Injectable (LAI) PK of once-, and three-monthly products administration and for optimizing the development of new LAI products. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2023;50(2):89–96. DOI: 10.1007/s10928-022-09835-7.
13. Djuris J., Cvijic S., Djekic L. Model-Informed Drug Development: In Silico Assessment of Drug Bioperformance following Oral and Percutaneous Administration. *Pharmaceutics*. 2024;17(2):177. DOI: 10.3390/ph17020177.
14. Dumortier T., Valenzuela G., Churchill M., Mijatovic J., Bruin G., Pricop L., Richards H., Renard D., Singhal A., Marathe A. Model-Informed Drug Development-Based Bridging from Subcutaneous to Intravenous Secukinumab Dosing: Approval in Psoriatic Arthritis and Axial Spondyloarthritis. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2025;118(2):480–488. DOI: 10.1002/cpt.3716.
15. Sun Z., Zhao N., Zhao X., Wang Z., Liu Z., Cui Y. Application of physiologically based pharmacokinetic modeling of novel drugs approved by the U.S. food and drug administration. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*. 2024;200:106838. DOI: 10.1016/j.ejps.2024.106838.
16. Losada I.B., Terranova N. Bridging pharmacology and neural networks: A deep dive into neural ordinary differential equations. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2024;13(8):1289–1296. DOI: 10.1002/psp4.13149.
17. Yang D., Li J., Mak W. Y., Zheng A., Zhu X., He Q., Wang Y., Xiang X. PBPK Modeling: Empowering Drug Development and Precision Dosing in China. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2025;14(5):828–839. DOI: 10.1002/psp4.70004.
18. Glatard A., Friberg-Hietala S., Keutzer L., Hansson A., Johnsson M., Tiberg F. Population Pharmacokinetic Analysis of an Octreotide Depot (CAM2029) in the Treatment of Acromegaly. *Clinical Pharmacokinetics*. 2025;64(7):1079–1092. DOI: 10.1007/s40262-025-01522-3.
19. Park S., Kim D.-H., Kim Y., Park J. H., Lee M., Song I.-S., Shim C.-K. Comparative in vitro release and clinical pharmacokinetics of leuprolide from Luphere 3M Depot, a 3-month release formulation of leuprolide acetate. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2017;43(3):441–447. DOI: 10.1080/03639045.2016.1258409.
20. Shore N.D., Guerrero S., Sanahuja R.M., Gambús G., Parente A. A New Sustained-release, 3-Month Leuprolide Acetate Formulation Achieves and Maintains Castrate Concentrations of Testosterone in Patients With Prostate Cancer. *Clinical Therapeutics*. 2019;41(3):412–425. DOI: 10.1016/j.clinthera.2019.01.004.
21. Wang T., Zhang C., Zhong W., Yang X., Wang A., Liang R. Modification of Three-Phase Drug Release Mode of Octreotide PLGA Microspheres by Microsphere-Gel Composite System. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(6):228. DOI: 10.1208/s12249-019-1438-4.
22. Gong H., Wang J., Zhang J., Wu J., Zheng Z., Xie X., Kaplan D.L., Li G., Wang X. Control of octreotide release from silk fibroin microspheres. *Materials Science & Engineering C*. 2019;102:820–828. DOI: 10.1016/j.msec.2019.05.004.
23. Zhao D., Chen P., Hao Y., Dong J., Dai Y., Lu Q., Zhang X., Liu C.W. Long-acting injectable in situ gel of rasagiline: a patented product development. *Drug Delivery and Translational Research*. 2023;13(4):1012–1021. DOI: 10.1007/s13346-022-01261-z.
24. Wu G., Zhou F., Wang H., Liu K., Yu D., Fan L., Han Y., Ai X., Cao Y., Wang X., Wang S., He C., Wu J., Wang Y., Wang Y., Jin B., Shentu J. Effectiveness, pharmacokinetics, and safety of triptorelin acetate microspheres in patients with locally advanced and metastatic prostate cancer. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 2024;16:17588359241307818. DOI: 10.1177/17588359241307818.
25. Tsakiridou G., Angelero M.-F.-G., Efentakis P., Margaritis A., Papanastasiou A.-M., Kalantzi L. Partial AUCs in Long-Acting Injectables: Rationale, Challenges, Variability, Usefulness, and Clinical Relevance. *Pharmaceutics*. 2025;17(1):21. DOI: 10.3390/pharmaceutics17010021.
26. Ahmed D., Puthussery H., Basnett P., Knowles J. C., Lange S., Roy I. Controlled Delivery of Pan-PAD-Inhibitor Cl-Amidine Using Poly(3-Hydroxybutyrate) Microspheres. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(23):12852. DOI: 10.3390/ijms222312852.
27. Bassand C., Verin J., Lamatsch M., Siepmann F., Siepmann J. How agarose gels surrounding PLGA implants limit swelling and slow down drug release. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*. 2022;343:255–266. DOI: 10.1016/j.jconrel.2022.01.028.
28. Joiner J.B., Prasher A., Young I. C., Kim J., Shrivastava R., Maturavongsadit P., Benhabbour S.R. Effects of Drug Physicochemical Properties on In-Situ Forming Implant Polymer Degradation and Drug Release Kinetics. *Pharmaceutics*. 2022;14(6):1188. DOI: 10.3390/pharmaceutics14061188.
29. Cardoso M. M., Peça I. N., Bicho A. Impact of PEG Content on Doxorubicin Release from PLGA-co-PEG Nanoparticles. *Materials*. 2024;17(14):3544. DOI: 10.3390/ma17143544.
30. Michaelides K., Al Tahan M. A., Zhou Y., Trindade G. F., Cant D. J. H., Pei Y., Dulal P., Al-Khattawi A. New Insights on the Burst Release Kinetics of Spray-Dried PLGA Microspheres. *Molecular Pharmaceutics*. 2024;21(12):6245–6256. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.4c00686.
31. Bassand C., Siepmann F., Benabed L., Verin J., Freitag J., Charlon S., Soulestin J., Siepmann J. 3D printed PLGA implants: How the filling density affects drug release. *Journal of Controlled Release*. 2023;363:1–11. DOI: 10.1016/j.jconrel.2023.09.020.

32. Soomherun N., Kreua-Ongarjnucool N., Niyomthai S.T., Chumnanvej S. Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles Synthesized via Lipid-Based Surface Engineering for a robust drug delivery platform. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2024;237:113858. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2024.113858.
33. Lagreca E., Onesto V., Di Natale C., La Manna S., Netti P.A., Vecchione R. Recent advances in the formulation of PLGA microparticles for controlled drug delivery. *Progress in Biomaterials*. 2020;9(4):153–174. DOI: 10.1007/s40204-020-00139-y.
34. Borrelli M.A., Warunek J.J.P., Ravikumar T., Balmert S.C., Little S.R. End group chemistry modulates physical properties and biomolecule release from biodegradable polyesters. *Journal of Materials Chemistry B*. 2025;13(34):10621–10634. DOI: 10.1039/d5tb00816f.
35. Lehner E., Trutschel M.-L., Menzel M., Jacobs J., Kunert J., Scheffler J., Binder W.H., Schmelzer C.E.H., Plontke S.K., Liebau A., Mäder K. Enhancing drug release from PEG-PLGA implants: The role of Hydrophilic Dexamethasone Phosphate in modulating release kinetics and degradation behavior. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2025;209:107067. DOI: 10.1016/j.ejps.2025.107067.
36. Zhang J., Zhang J., Li H., Zhang H., Meng H. Research progress on biodegradable polymer-based drug delivery systems for the treatment of knee osteoarthritis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2025;13:1561708. DOI: 10.3389/fbioe.2025.1561708.
37. Mohsin M.E.A., Siddiqua A.J., Mousa S., Shrivastava N.K. Design, Characterization, and Release Kinetics of a Hybrid Hydrogel Drug Delivery System for Sustained Hormone Therapy. *Polymers*. 2025;17(8):999. DOI: 10.3390/polym17080999.
38. Toja-Camba F.J., Vidal-Millares M., Duran-Maseda M.J., Arrojo-Romero M., Puente-Iglesias M., Hermelo-Vidal G., Feitosa-Medeiros C., Fernández-Ferreiro A., Mondelo-García C. Evaluating the Real-World Pharmacokinetics of Risperidone ISM® in Routine Clinical Practice. *Biomedicines*. 2025;13(2):384. DOI: 10.3390/biomedicines13020384.
39. Tveito M., Smith R.L., Molden E., Haslemo T., Refsum H., Hartberg C., Correll C.U., Høiseth G. Age Impacts Olanzapine Exposure Differently During Use of Oral Versus Long-Acting Injectable Formulations: An Observational Study Including 8,288 Patients. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2018;38(6):570–576. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000961.
40. Yu Y., Bigos K.L., Marzinke M.A., Landovitz R.J., McCauley M., Ford S., Hendrix C.W., Bies R.R., Weld E.D. A population pharmacokinetic model based on HPTN 077 of long-acting injectable cabotegravir for HIV PrEP. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2022;88(10):4623–4632. DOI: 10.1111/bcp.15477.
41. Baldelli S., Mauri M.C., Di Pace C., Paletta S., Reggiori A., Rovera C., Clementi E., Cattaneo D. Intraindividual and Interindividual Variability of Olanzapine Trough Concentrations in Patients Treated With the Long-Acting Injectable Formulation. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2018;38(4):365–369. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000913.
42. Meng Q., Han Z., Lei Q., Chen B., Yin X., Hu H., Liu H., Zheng Q., Xu L., Huang Q. Optimizing the dosing regimen of aripiprazole microspheres by population pharmacokinetic modeling and simulation. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2025;30(4):493.
43. Thoueille P., Saldanha S.A., Schaller F., Choong E., Veuve F., Munting A., Cavassini M., Braun D., Günthard H.F., Duran Ramirez J.J., Surial B., Furrer H., Rauch A., Ustero P., Calmy A., Stöckle M., Di Benedetto C., Bernasconi E., Schmid P., Marzolini C., Girardin F.R., Buclin T., Decosterd L.A., Guidi M. Population pharmacokinetics of rilpivirine following oral administration and long-acting intramuscular injection in real-world people with HIV. *Frontiers in Pharmacology*. 2024;15:1437400. DOI: 10.3389/fphar.2024.1437400.
44. Siemons M., Schroyen B., Darville N., Goyal N. Role of Modeling and Simulation in Preclinical and Clinical Long-Acting Injectable Drug Development. *The AAPS Journal*. 2023;25(6):99. DOI: 10.1208/s12248-023-00864-9.
45. Kapralos I., Dokoumetzidis A. Population pharmacokinetic modelling of the complex release kinetics of octreotide LAR: defining sub-populations by cluster analysis. *Pharmaceutics*. 2021;13(10):1578.
46. Dadgar Pakdel F., Dadgar Pakdel J., Najmeddin A., Peirovi A., Nicknam M.H., Dorkoosh F.A. A Novel Controlled Release Implant of Insulin Based on Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Polymer Prepared by Extrusion. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024;21(5):483–488. DOI: 10.4274/tjps.galenos.2023.10663.
47. Cirincione B., Edwards J., Mager D.E. Population Pharmacokinetics of an Extended-Release Formulation of Exenatide Following Single- and Multiple-Dose Administration. *The AAPS Journal*. 2017;19(2):487–496. DOI: 10.1208/s12248-016-9975-1.
48. Kapralos I., Dokoumetzidis A. Population Pharmacokinetic Modelling of the Complex Release Kinetics of Octreotide LAR: Defining Sub-Populations by Cluster Analysis. *Pharmaceutics*. 2021;13(10):1578. DOI: 10.3390/pharmaceutics13101578.
49. Lim C.N., Salem A.H. A semi-mechanistic integrated pharmacokinetic/pharmacodynamic model of the testosterone effects of the gonadotropin-releasing hormone agonist leuprolide in prostate cancer patients. *Clinical Pharmacokinetics*. 2015;54(9):963–973. DOI: 10.1007/s40262-015-0251-9.
50. Müller F.O., Terblanché J., Schall R., van Zyl Smit R., Tucker T., Marais K., Groenewoud G., Porchet H.C., Weiner M., Hawarden D. Pharmacokinetics of triptorelin after intravenous bolus administration in healthy males and in males with renal or hepatic insufficiency. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1997;44(4):335–341. DOI: 10.1046/j.1365-2125.1997.t01-1-00592.x.
51. Romero E., Vélez de Mendizabal N., Cendrós J.-M., Peiraire C., Bascompta E., Obach R., Trocóniz I.F. Pharmacokinetic/pharmacodynamic model of the testosterone effects of triptorelin administered in sustained release formulations in patients with prostate cancer. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2012;342(3):788–798. DOI: 10.1124/jpet.112.195560.
52. Glatard A., Friberg-Hietala S., Keutzer L., Hansson A., Johnson M., Tiberg F. Population Pharmacokinetic Analysis of an Octreotide Depot (CAM2029) in the Treatment of Acromegaly. *Clinical Pharmacokinetics*. 2025;64(7):1079–1092. DOI: 10.1007/s40262-025-01522-3.
53. Snelder N., Drenth H.-J., Riber Bergmann K., Wood N.D., Hibberd M., Scott G. Population pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the relationship between testosterone and prostate specific antigen in patients with prostate cancer during treatment with leuporelin. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2019;85(6):1247–1259. DOI: 10.1111/bcp.13891.



ХІІІ РОССИЙСКИЙ ФОРУМ БИОТЕХНОЛОГИЙ

22 - 25 СЕНТЯБРЯ 2026, наукоград Кольцово

БИЗНЕС-ФОРУМ

для бизнеса, науки и государства

НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

вирусология, молекулярная биология, фундаментальная медицина,
биотехнология, биоинформатика, биофизика

ОТРАСЛЕВАЯ ВЫСТАВКА

биотехнологических и биофармацевтических компаний



[OPENBIO.RU](https://openbio.ru)



Исследование влияния метформина в малых дозах на поведенческие характеристики и биохимические показатели половозрелых крыс

А. З. Хафизова, Д. О. Никитин, Р. Г. Садыкова, В. Б. Гаврилова, А. В. Никитина, Р. И. Мустафин✉, И. И. Семина✉✉

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России). 420012, Россия, Приволжский федеральный округ, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49

✉ **Контактное лицо:** Мустафин Руслан Ибрагимович. **E-mail:** ruslan.mustafin@kazangmu.ru

✉✉ **Контактное лицо:** Семина Ирина Ивановна. **E-mail:** irina.semina@kazangmu.ru

ORCID: А. З. Хафизова – <https://orcid.org/0009-0007-3795-1407>;
Д. О. Никитин – <https://orcid.org/0000-0001-5773-867X>;
Р. Г. Садыкова – <https://orcid.org/0000-0002-5316-8902>;
В. Б. Гаврилова – <https://orcid.org/0009-0008-8002-645X>;
А. В. Никитина – <https://orcid.org/0000-0001-6219-6246>;
Р. И. Мустафин – <https://orcid.org/0000-0002-0916-2853>;
И. И. Семина – <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>.

Статья поступила: 20.09.2025

Статья принята в печать: 29.10.2025

Статья опубликована: 17.04.2026

Резюме

Введение. Метформин – пероральное противодиабетическое средство с известным профилем эффективности и безопасности. В настоящее время появляется все больше данных о влиянии метформина на функции ЦНС в малых дозах, не связанных с гипогликемическим действием, с целью воздействия на процесс старения и сопутствующих возраст-ассоциированных заболеваний. Однако сведений о влиянии метформина на поведенческие характеристики и когнитивные функции здорового организма недостаточно.

Цель. Исследование влияния метформина в малых дозах на поведенческие характеристики и некоторые биохимические показатели сыворотки крови (уровень глюкозы, холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП)) половозрелых крыс.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 72 крысах-самцах линии *Wistar* массой 200–250 г. После 30-дневного введения метформина в дозах 35 и 70 мг/кг было проведено поведенческое тестирование. Для исследования влияния на процессы обучения и памяти применяли установку «Т-образный лабиринт», для изучения пространственной памяти – «Водный лабиринт Морриса». Установки «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Экстраполяционное избавление» применяли для оценки влияния метформина на состояние тревожности крыс. Для оценки влияния на физическую активность крыс применяли комплекс «Ротарод». Измерение биохимических показателей сыворотки крови крыс проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе DIRUI CS-300B.

Результаты и обсуждение. Установлено, что 30-дневное введение метформина в обеих дозах (35 и 70 мг/кг) улучшало процессы обучения и памяти в тесте «Т-образный лабиринт» ($p < 0,05$). Кроме того, введение метформина в малых дозах (35 и 70 мг/кг) способствовало развитию анксиолитического эффекта в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Экстраполяционное избавление» ($p < 0,05$). Показано, что введение метформина (70 мг/кг) улучшало мышечную выносливость крыс в тесте «Ротарод» ($p < 0,05$) на фоне неизменного уровня глюкозы.

Заключение. Результаты проведенных исследований определяют направление дальнейшего исследования по изучению возможности применения метформина в дозах, не оказывающих гипогликемического действия, для коррекции тревожных и когнитивных нарушений при патологических состояниях ЦНС, в том числе в процессе физиологического старения.

Ключевые слова: когнитивные функции, тревожность, мышечная выносливость, метформин, малые дозы, половозрелые крысы

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

Вклад авторов. А.З. Хафизова – проведение экспериментов, статистическая обработка, написание текста статьи. Д. О. Никитин – проведение экспериментов, статистическая обработка. Р. И. Мустафин, Р. Г. Садыкова – редактирование текста статьи. В. Б. Гаврилова – проведение биохимического анализа. А. В. Никитина – участие в проведении экспериментов. И. И. Семина – дизайн эксперимента, написание и редактирование текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00333).

Для цитирования: Хафизова А.З., Никитин Д.О., Садыкова Р.Г., Гаврилова В.Б., Никитина А.В., Мустафин Р.И., Семина И.И. Исследование влияния метформина в малых дозах на поведенческие характеристики и биохимические показатели половозрелых крыс. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2026;15(2):137–145. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2186>

Study of the effect of metformin in small doses on the behavioral characteristics and biochemical parameters of rats

Ajgul Z. Hafizova, Dmitry O. Nikitin, Raziya G. Sadykova, Viktoriya B. Gavrilova, Anastasiya V. Nikitina, Rouslan I. Moustafine✉, Irina I. Semina✉✉

Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia. 49, Butlerova str., Kazan, Republic of Tatarstan, Volga Federal District, 420012, Russia

✉ **Corresponding author:** Rouslan I. Moustafine. **E-mail:** ruslan.mustafin@kazangmu.ru

✉✉ **Corresponding author:** Irina I. Semina. **E-mail:** irina.semina@kazangmu.ru

ORCID: Ajgul Z. Hafizova – <https://orcid.org/0009-0007-3795-1407>;
Dmitry O. Nikitin – <https://orcid.org/0000-0001-5773-867X>;
Raziya G. Sadykova – <https://orcid.org/0000-0002-5316-8902>;
Viktoriya B. Gavrilova – <https://orcid.org/0009-0008-8002-645X>;
Anastasiya V. Nikitina – <https://orcid.org/0000-0001-6219-6246>;
Rouslan I. Moustafine – <https://orcid.org/0000-0002-0916-2853>;
Irina I. Semina – <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>.

Received: 20.09.2025

Accepted: 29.10.2025

Published: 17.04.2026

Abstract

Introduction. Metformin is an oral antidiabetic drug with a known efficacy and safety profile. Currently, there is more data on the effect of metformin on central nervous system functions in small doses, not associated with hypoglycemic effects to influence the aging process and concomitant age-related diseases. However, there is insufficient information about the effect of metformin on the behavioral characteristics and cognitive functions of a healthy body.

Aim. Investigation of the effect of metformin in small doses on behavioral characteristics and some biochemical parameters of blood serum (glucose, cholesterol, and low-density lipoprotein (LDL) levels) in rats.

Materials and methods. The study was performed on 72 male rats weighing 200–250 g of the *Wistar* line. Behavioral testing was performed after 30 days of metformin administration at doses of 35 and 70 mg/kg. The «T-maze test» installation was used to study the effects on learning and memory processes, and the «Water maze test» was used to study spatial memory. The «Elevated plus-maze test» and «Extrapolation escape task» settings were used to assess the effect of metformin on anxiety in rats. «The Rotarod» complex was used to assess the effect on the physical activity of rats. The biochemical parameters of rat blood serum were measured using an automatic DIRUI CS-300B biochemical analyzer.

Results and discussion. It was found that 30-day administration of metformin in both doses (35 and 70 mg/kg) improved learning and memory processes in «T-maze test» test ($p < 0.05$). In addition, administration of metformin in small doses (35 and 70 mg/kg) contributed to the development of the anxiolytic effect in «Elevated plus-maze» test and «Extrapolation escape task» tests ($p < 0.05$). It was shown that the administration of metformin (70 mg/kg) improved muscle endurance in «Rotarod» test ($p < 0.05$) against the background of unchanged glucose levels.

Conclusion. The results of the conducted studies determine the direction of further research on the possibility of using metformin in small doses that do not have a hypoglycemic effect for the correction of anxiety and cognitive disorders in pathological conditions of the CNS, including in the process of physiological aging.

Keywords: cognitive functions, anxiety, muscular endurance, metformin, low doses, 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. Ajgul Z. Hafizova – conducting experiments, statistical processing, writing the text of the article. Dmitry O. Nikitin – conducting experiments, statistical processing. Rouslan I. Moustafine, Raziya G. Sadykova – editing the text of an article. Viktoriya B. Gavrilova – conducting a biochemical analysis. Anastasiya V. Nikitina – participation in conducting

experiments. Irina I. Semina – experiment design, writing and editing the text of the article. All authors participated in the discussion of the results.

Acknowledgment. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 23-25-00333).

For citation: Hafizova A. Z., Nikitin D. O., Sadykova R. G., Gavrilova V. B., Nikitina A. V., Moustafine R. I., Semina I. I. Study of the effect of metformin in small doses on the behavioral characteristics and biochemical parameters of rats. *Drug development & registration*. 2026;15(2):137–145. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2186>

ВВЕДЕНИЕ

Перспективным средством для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций может явиться метформин – пероральное противодиабетическое средство с известным профилем безопасности [1–8]. Дозы метформина, применяемые при сахарном диабете 2-го типа, являются относительно высокими (0,5–2 г), что обусловлено его фармакокинетическими параметрами [1, 3, 6, 7, 9]. В настоящее время появляется все больше сведений о влиянии метформина на функции центральной нервной системы (ЦНС) в малых дозах, не оказывающих гипогликемического действия [1–6, 8, 10]. Показано, что у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа метформин улучшает когнитивные функции, проявляет противовоспалительные [1, 3, 6, 7, 11] и антиоксидантные свойства [1, 3, 7, 9, 11], а также снижает выраженность тревожного поведения [12, 13]. Основные механизмы нейротропной активности метформина у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа связывают с его сахароснижающим эффектом путем активации 5'-АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) [1–3, 6–8, 9, 11], в результате чего улучшается метаболизм глюкозы в ЦНС. Эти данные подтверждены и на крысах с моделью сахарного диабета 2-го типа [3, 14, 15]. В настоящее время появляется все больше данных о действии метформина в малых дозах на функции ЦНС [2, 3, 9, 16], о его способности влиять на патогенез старения и возраст-ассоциированных заболеваний. При этом данные эффекты не связаны с его основным гипогликемическим действием [1, 2, 12, 17]. Однако сведений о влиянии метформина на поведение и когнитивные функции здорового организма недостаточно. В свете новых данных о фармакологической активности метформина потенциально полезным эффектом может быть гиполипидемическое действие [10, 20, 21], что может способствовать снижению риска смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в процессе физиологического старения и усилению плейотропности метформина.

Цель работы – исследование влияния метформина в малых дозах на поведенческие характеристи-

ки и биохимические показатели сыворотки крови (уровень глюкозы, холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП)) половозрелых крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 72 крысах-самцах линии *Wistar* массой 200–250 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животные содержались в стандартных условиях, при естественном световом режиме на полнорационной сбалансированной диете с соблюдением принципов гуманности международных требований, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации, используемых при экспериментальных исследованиях. Выполненные исследования одобрены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России [протокол заседания № 2 от 20.06.2023].

Объект исследования: метформин (ПАО «Озон Фарм», Россия), применяемый путем внутрижелудочного (в/ж) введения крысам в дозах, составляющих 35 и 70 мг/кг. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Методы поведенческого тестирования, позволяющие анализировать влияние лекарственного средства на поведение, процессы обучения и памяти, когнитивные функции и мышечную выносливость:

1. Тест «Т-образный лабиринт» (ООО «НПК Открытая наука», Россия) применялся для изучения процессов памяти [2]. Регистрируемые параметры: латентный период выбора правильного рукава (с) (т. е. рукав с пищевым подкреплением) [18, 19].
2. Тест «Водный лабиринт Морриса» (ООО «НПК Открытая наука», Россия) применялся для изучения пространственной памяти крыс [19]. Регистрируемые показатели: длительность поиска платформы (с). Предполагается, что уменьшение данного показателя может свидетельствовать об улучшении процессов пространственной памяти.



Рисунок 1. Дизайн эксперимента

Figure 1. Design of the experiment

- Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ООО «НПК Открытая наука», Россия) применялся для исследования тревожного поведения: считается, что увеличение времени нахождения в открытых, ярко освещенных рукавах (ОР) ассоциировано со снижением уровня тревожности [19].
- Тест «Экстраполяционное извращение» (ООО «НПК Открытая наука», Россия) использовался для изучения состояния тревожности в острой стрессовой ситуации [20]. За 2 мин теста учитывали длительность аверсивных реакций в форме карабка-

ний и прыжков внутри цилиндра, что отражает общий уровень стресса, т.е. чем больше прыжков, тем больше уровень стресса.

- Комплекс «Ротарод» (ООО «Нейроботикс», Россия) применялся для изучения мышечной выносливости животных и представляет собой барабан (стержень, диаметром 70 мм), вращающийся (10 об/мин) на неподвижном лафете. В основу методики положена способность крыс избегать падения. Тестируемое животное помещали на вращающийся стержень и регистрировали время удержания на нем (с) в течение 2 мин [21].

После завершения поведенческого тестирования животные подверглись процедуре декапитации на гильотине (ООО «НПК Открытая наука», Россия), в ходе которой был осуществлен забор цельной крови из магистральных сосудов шеи крыс. Полученную цельную кровь крыс центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин при 4 °С. Сыворотку переносили в сухие чистые пробирки и хранили до проведения анализа при –20 °С не более 5 дней. Измерение необходимых параметров для исследования проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе DIRUI CS-300B после обязательного проведения калибровки и контроля качества исследуемых параметров с заводскими контрольными сыворотками. Проанализированы следующие показатели:

- 1) глюкоза, ммоль/л (измерение содержания глюкозы методом с применением глюкооксидазы);
- 2) холестерин, ммоль/л (ферментативный метод получения общего холестерина);
- 3) ЛПНП, ммоль/л (определение холестерина липопротеинов низкой плотности прямым методом).

Регистрацию и анализ поведенческих изменений проводили с использованием компьютерной программы EthoVision^{XT} (Noldus Information Technology, Нидерланды) с автоматическим способом анализа треков. Для статистической обработки был использован t-критерий Стьюдента в программе GraphPad Prism 8.0.1. Результаты поведенческих тестов представлены графически в виде $M \pm SEM$, где M – среднее значение, SEM – стандартная ошибка среднего, p – уровень значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что введение метформина в обеих дозах (35 и 70 мг/кг) половозрелым крысам-самцам сокращало латентный период выбора рукава в 5,4 ($p = 0,023$) и 4,3 раза ($p = 0,046$) соответственно по сравнению с группой контроля (рисунок 2) в тесте

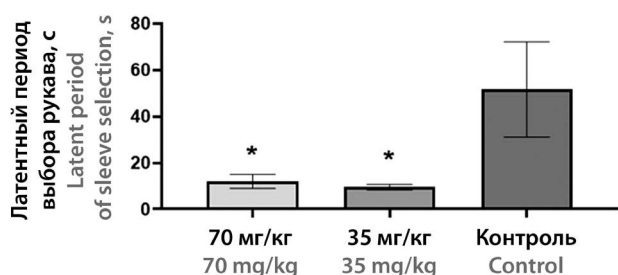


Рисунок 2. Влияние метформина на процессы обучения и памяти крыс в тесте «Т-образный лабиринт».

* ($p < 0,05$) – статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы

Figure 2. Effect of metformin on learning and memory processes of rats in «T-maze» test.

* ($p < 0,05$) – statistically significant differences with respect to the index of the control group

«Т-образный лабиринт». Полученные данные свидетельствуют об улучшении процессов обучения и памяти животных.

В отличие от обнаруженного эффекта в тесте «Т-образный лабиринт» в другом тесте, «Водный лабиринт Морриса», введение метформина в обеих дозах половозрелым крысам-самцам статистически значимого результата не показало (таблица 1). Отсутствие эффекта может быть обусловлено тем, что тестирование проводится в водной среде, что является фактором стрессогенности для животных. Кроме того, следует учитывать, что в данном исследовании мы анализировали один показатель, таким образом в дальнейшем необходимо исследовать более широкий спектр показателей, например длительность плавания в зоне платформы.

Таблица 1. Влияние метформина на пространственную память крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса»

Table 1. Effect of metformin on spatial memory of rats in «Water Maze» test

Исследуемые группы Study groups	Длительность поиска платформы, с Platform search duration, s
Метформин 70 мг/кг Metformin 70 mg/kg	38,38 ± 12,18
Метформин 35 мг/кг Metformin 35 mg/kg	35,25 ± 12,62
Контроль Control	15,55 ± 5,73

Введение метформина в дозе 70 мг/кг половозрелым крысам-самцам способствовало развитию анксиолитического эффекта в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», то есть увеличению времени пребывания в открытых рукавах (ОР) установки в 3,0 раза ($p = 0,01$) по сравнению с группой контроля (рисунок 3, А). Наличие анксиолитического эффекта подтверждается и тем, что происходило снижение времени нахождения в закрытых рукавах (ЗР) в 1,3 ($p = 0,03$) и 1,28 ($p = 0,0001$) раза соответственно по сравнению с группой контроля (рисунок 3, Б).

Введение метформина в обеих дозах уменьшало продолжительность периода прыжков в 3,9 ($p = 0,036$) и в 2,8 ($p = 0,038$) раза соответственно в тесте «Экстрараполяционное избавление» в условиях острой стрессовой ситуации (рисунок 4). Исходя из этого, мы наблюдаем развитие анксиолитического эффекта метформина в обеих дозах.

Установлено, что 30-дневное введение метформина в малой дозе (70 мг/кг) половозрелым крысам-самцам способствовало увеличению времени удержания на вращающемся стержне в 4,0 раза ($p = 0,007$) по сравнению с группой контроля в тесте «Ротарод» (рисунок 5). Полученные данные свидетельствуют о повышении мышечной выносливости крыс.

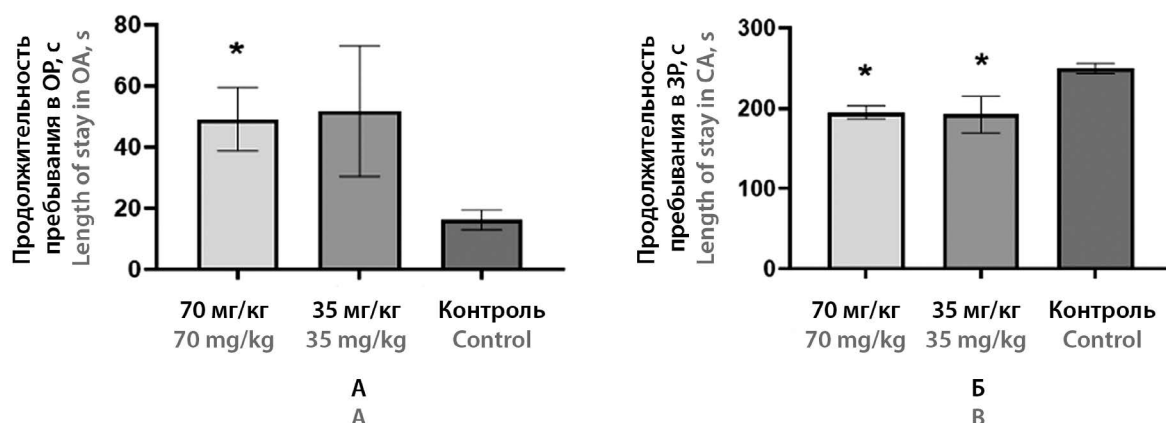


Рисунок 3. Влияние метформина на состояние тревожности крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ОР – открытые рукава, ЗР – закрытые рукава).

* ($p < 0,05$) – статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы

Figure 3. Effect of metformin on the state of anxiety of rats in the «Elevated plus-maze test» (OA – open arms, CA – closed arms).

* ($p < 0,05$) – statistically significant differences with respect to the index of the control group

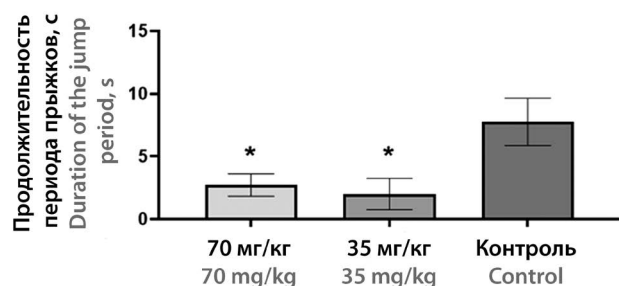


Рисунок 4. Влияние метформина на поведение крыс в тесте «Экстраполяционное избавление».

* ($p < 0,05$) – статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы

Figure 4. Effect of metformin on the behavior of rats in «Extrapolation escape task».

* ($p < 0,05$) – statistically significant differences in relation to the index of the control group

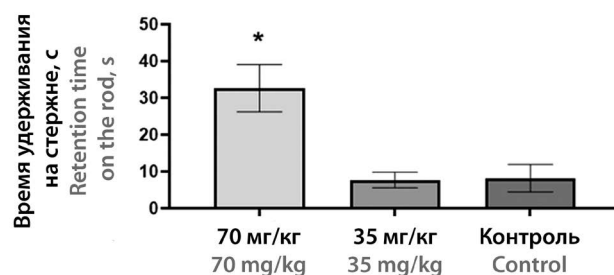


Рисунок 5. Влияние метформина на мышечную выносливость крыс в тесте «Ротарод».

* ($p < 0,05$) – статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы

Figure 5. The effect of metformin on the muscular endurance of rats in Rotarod test.

* ($p < 0,05$) – statistically significant differences in relation to the index of the control group

Как показано в таблице 2, применение метформина в малых дозах не вызывало изменения уровня глюкозы в сыворотке крови половозрелых крыс. Кроме того, статистически значимых отличий уровня холестерина и ЛПНП в сыворотке крови половозрелых крыс не обнаружено.

Результаты проведенного экспериментального исследования демонстрируют, что метформин в малых дозах, не вызывающих гипогликемического эффекта, способен оказывать положительное влияние на процессы обучения и памяти здорового организма. Кроме того, мы наблюдали развитие анксиолитического эффекта, что может быть следствием влияния на экспрессию и мембранный транспорт ГАМК-ре-

цепторов в гиппокампе [1], в том числе и за счет активации 5'-АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК); аналогичные результаты были получены в ранее проведенном исследовании при применении метформина в более высокой дозе (100 мг/кг) [3, 12, 17]. При этом авторы исследований позиционируют метформин как перспективный и более безопасный анксиолитик [1, 3, 12, 17]. В настоящее время для лечения тревожных расстройств применяют производные бензодиазепинов, однако следует учитывать, что данная группа имеет ряд серьезных побочных эффектов, что ограничивает их применение. Таким образом, выявленный анксиолитический эффект метформина может иметь перспективу применения его

Таблица 2. Влияние метформина на биохимические показатели сыворотки крови крыс

Table 2. The effect of metformin on the biochemical parameters of rat blood

Исследуемые группы Study groups	Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	ЛПНП, ммоль/л LDL, mmol/L
Метформин 70 мг/кг Metformin 70 mg/kg	6,85 ± 0,26	2,1 ± 0,16	0,39 ± 0,05
Метформин 35 мг/кг Metformin 35 mg/kg	7,98 ± 0,35	2,28 ± 0,07	0,44 ± 0,02
Контроль Control	7,25 ± 0,27	2,32 ± 0,15	0,5 ± 0,03

как более безопасного анксиолитика. Введение метформина продемонстрировало улучшение мышечной выносливости крыс-самцов (70 мг/кг) в тесте «Ротород», что свидетельствует о необходимости дальнейшего исследования по изучению влияния метформина на мышечную функцию и локомоторную активность крыс. Известно, что одной из причин преждевременной смерти являются сердечно-сосудистые заболевания у пациентов с сахарным диабетом [1, 3, 22]. При этом нужно отметить, что усиливающим фактором является наличие дислипидемии. Повышение уровня ЛПНП и изменение его структуры может увеличивать риск развития атеросклероза. В проведенном исследовании мы не отметили влияния метформина в исследованных дозах на уровень холестерина и ЛПНП. Это говорит о возможной взаимосвязи между способностью снижать уровень глюкозы при сахарном диабете 2-го типа и снижением ЛПНП.

Проведенное исследование на здоровых животных подтверждает тезисы о возможном наличии у метформина в малых дозах анксиолитического действия и влиянии на процессы обучения и памяти в малых дозах, не оказывающих гипогликемического действия. В дальнейшем метформин может послужить средством для профилактики (замедления) процессов физиологического старения и возрастассоциированных заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты определяют направленность дальнейших исследований, а именно изучение возможности применения метформина в малых дозах, не вызывающих гипогликемического эффекта, для коррекции тревожных и когнитивных нарушений при патологических состояниях ЦНС, в том числе в процессе физиологического старения.

ЛИТЕРАТУРА

- Хафизова А.З., Семина И.И., Никитин Д.О., Мустафин Р.И. Перспективы применения противодиабетического средства метформина как способ замедле-

- ния биологического старения и возраст-ассоциированных заболеваний. *Казанский медицинский журнал*. 2025;106(1):105–116. DOI: 10.17816/KMJ382686105.
- Хафизова А.З., Семина И.И. Изучение возможности применения метформина при интраназальном введении для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций половозрелых крыс. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2025;(1):35–42. DOI: 10.37489/2587-7836-2025-1-35-42.
- Markowicz-Piasecka M., Sikora J., Szydłowska A., Skupień A., Mikiciuk-Olasik E., Huttunen K.M. Metformin – a Future Therapy for Neurodegenerative Diseases. *Pharmaceutical Research*. 2017;34(12):2614–2627. DOI: 10.1007/s11095-017-2199-y.
- Li Z., Zhang Z., Ren Y., Wang Y., Fang J., Yue H., Ma S., Guan F. Aging and age-related diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. *Biogerontology*. 2021;22(2):165–187. DOI: 10.1007/s10522-021-09910-5.
- Moskalev A., Guvatova Z., De Almeida Lopes I., Beckett C.W., Kennedy B.K., De Magalhaes J.P., Makarov A.A. Targeting aging mechanisms: pharmacological perspectives. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2022;33(4):266–280. DOI: 10.1016/j.tem.2022.01.007.
- LaMoia T.E., Shulman G.I. Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. *Endocrine Reviews*. 2021;42(1):77–96. DOI: 10.1210/endrev/bnaa023.
- Triggle C.R., Mohammed I., Bshesh K., Marei I., Ye K., Ding H., MacDonald R., Hollenberg M.D., Hill M.A. Metformin: Is it a drug for all reasons and diseases? *Metabolism*. 2022;133:155223. DOI: 10.1016/j.metabol.2022.155223.
- Li N., Zhou T., Fei E. Actions of Metformin in the Brain: A New Perspective of Metformin Treatments in Related Neurological Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(15):8281. DOI: 10.3390/ijms23158281.
- Mohammed I., Hollenberg M.D., Ding H., Triggle C.R. A Critical Review of the Evidence That Metformin Is a Putative Anti-Aging Drug That Enhances Healthspan and Extends Lifespan. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:718942. DOI: 10.3389/fendo.2021.718942.
- Guo J., Huang X., Dou L., Yan M., Shen T., Tang W., Li J. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7(1):391. DOI: 10.1038/s41392-022-01251-0.

11. Foretz M., Guigas B., Viollet B. Metformin: update on mechanisms of action and repurposing potential. *Nature Reviews Endocrinology*. 2023;19(8):460–476. DOI: 10.1038/s41574-023-00833-4.
12. Fan J., Li D., Chen H.-S., Huang J.-G., Xu J.-F., Zhu W.-W., Chen J.-G., Wang F. Metformin produces anxiolytic-like effects in rats by facilitating GABA_A receptor trafficking to membrane. *British Journal of Pharmacology*. 2019;176(2):297–316. DOI: 10.1111/bph.14519.
13. Kang M., Liu H., Hui J., Gou Y., Zhou R., Liu Y., Liu C., Shi P., Wang B., Wen Y., Cheng B., Jia Y., Li C., Zhang F. Metformin use on the risks of depression and anxiety in people with type 2 diabetes. *Communications Medicine*. 2025;5(1):302. DOI: 10.1038/s43856-025-01006-2.
14. Morsli S., Bellantuono I. The use of geroprotectors to prevent multimorbidity: Opportunities and challenges. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2021;193:111391. DOI: 10.1016/j.mad.2020.111391.
15. Aghaalkhani N., Goodarzi M. T., Latifi Z., Farimani A. R., Fattahi A. Effects of Different Doses of Metformin on Serum Fatty Acid Composition in Type 2 Diabetic Rats. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*. 2017;5(1):22–28. DOI: 10.15171/ajmb.2017.04.
16. Tahmi M., Benitez R., Luchsinger J. A. Metformin as a Potential Prevention Strategy for Alzheimer's Disease and Alzheimer's Disease Related Dementias. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2024;101(s1):S345–S356. DOI: 10.3233/JAD-240495.
17. Allard J. S., Perez E. J., Fukui K., Carpenter P., Ingram D. K., de Cabo R. Prolonged metformin treatment leads to reduced transcription of Nrf2 and neurotrophic factors without cognitive impairment in older C57BL/6J mice. *Behavioral Brain Research*. 2016;301:1–9. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.12.01.
18. Wu C. Y. C., Lerner F. M., Couto e Silva A., Possoit H. E., Hsieh T.-H., Neumann J. T., Minagar A., Lin H. W., Lee R. H. C. Utilizing the Modified T-Maze to Assess Functional Memory Outcomes After Cardiac Arrest. *Journal of Visualized Experiments*. 2018;(131):56694. DOI: 10.3791/56694.
19. Семина И. И., Байчурина А. З., Никитин Д. О., Никитина А. В., Мустафин Р. И., Хуторянский В. В. Поведенческая фармакология как основной подход в изучении эффективности потенциальных психотропных средств: анализ современных методов (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(1):161–181. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181.
20. Титович И. И., Радько С. В., Лисицкий Д. С., Оковитый С. В., Болотова В. Ц., Бельская А. В., Михайлова М. В., Сысоев Ю. И. Изучение влияния производного аминокислот на когнитивные функции лабораторных животных. *Биомедицина*. 2017;3:102–110.
21. Шустов Е. Б., Оковитый С. В., Болотова В. Ц., Ким А. Е. Батарея тестов для изучения адаптогенного действия биологически активных веществ в доклинических исследованиях. *Формулы Фармации*. 2021;3(2):10–25. DOI: 10.17816/phf65230.
22. Forouzandeh F., Salazar G., Patrushev N., Xiong S., Hilenski L., Fei B., Alexander R. W. Metformin Beyond Diabetes: Pleiotropic Benefits of Metformin in Attenuation of Atherosclerosis. *Journal of the American Heart Association*. 2014;3(6):e001202. DOI: 10.1161/JAHA.114.001202.

REFERENCES

1. Hafizova A. Z., Semina I. I., Nikitin D. O., Mustafin R. I. Perspectives for the use of the antidiabetic drug metformin as a strategy to slow biological aging and age-related diseases. *Kazan Medical Journal*. 2025;106(1):105–116. (In Russ.) DOI: 10.17816/KMJ382686.
2. Hafizova A. Z., Semina I. I., Study of the possibility of using metformin by intranasal administration for the correction of behavioral and cognitive dysfunctions of rats. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2025;(1):35–42. (In Russ.) DOI: 10.37489/2587-7836-2025-1-35-42.
3. Markowicz-Piasecka M., Sikora J., Szydłowska A., Skupień A., Mikiciuk-Olasik E., Huttunen K. M. Metformin – a Future Therapy for Neurodegenerative Diseases. *Pharmaceutical Research*. 2017;34(12):2614–2627. DOI: 10.1007/s11095-017-2199-y.
4. Li Z., Zhang Z., Ren Y., Wang Y., Fang J., Yue H., Ma S., Guan F. Aging and age-related diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. *Biogerontology*. 2021;22(2):165–187. DOI: 10.1007/s10522-021-09910-5.
5. Moskalev A., Guvatova Z., De Almeida Lopes I., Beckett C. W., Kennedy B. K., De Magalhaes J. P., Makarov A. A. Targeting aging mechanisms: pharmacological perspectives. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2022;33(4):266–280. DOI: 10.1016/j.tem.2022.01.007.
6. LaMoia T. E., Shulman G. I. Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. *Endocrine Reviews*. 2021;42(1):77–96. DOI: 10.1210/endrev/bnaa023.
7. Triggie C. R., Mohammed I., Bshesh K., Marei I., Ye K., Ding H., MacDonald R., Hollenberg M. D., Hill M. A. Metformin: Is it a drug for all reasons and diseases? *Metabolism*. 2022;133:155223. DOI: 10.1016/j.metabol.2022.155223.
8. Li N., Zhou T., Fei E. Actions of Metformin in the Brain: A New Perspective of Metformin Treatments in Related Neurological Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(15):8281. DOI: 10.3390/ijms23158281.
9. Mohammed I., Hollenberg M. D., Ding H., Triggie C. R. A Critical Review of the Evidence That Metformin Is a Putative Anti-Aging Drug That Enhances Healthspan and Extends Lifespan. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:718942. DOI: 10.3389/fendo.2021.718942.
10. Guo J., Huang X., Dou L., Yan M., Shen T., Tang W., Li J. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7(1):391. DOI: 10.1038/s41392-022-01251-0.
11. Foretz M., Guigas B., Viollet B. Metformin: update on mechanisms of action and repurposing potential. *Nature Reviews Endocrinology*. 2023;19(8):460–476. DOI: 10.1038/s41574-023-00833-4.
12. Fan J., Li D., Chen H.-S., Huang J.-G., Xu J.-F., Zhu W.-W., Chen J.-G., Wang F. Metformin produces anxiolytic-like effects in rats by facilitating GABA_A receptor trafficking to membrane. *British Journal of Pharmacology*. 2019;176(2):297–316. DOI: 10.1111/bph.14519.
13. Kang M., Liu H., Hui J., Gou Y., Zhou R., Liu Y., Liu C., Shi P., Wang B., Wen Y., Cheng B., Jia Y., Li C., Zhang F. Metformin use on the risks of depression and anxiety in

- people with type 2 diabetes. *Communications Medicine*. 2025;5(1):302. DOI: 10.1038/s43856-025-01006-2.
14. Morsli S., Bellantuono I. The use of geroprotectors to prevent multimorbidity: Opportunities and challenges. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2021;193:111391. DOI: 10.1016/j.mad.2020.111391.
15. Aghaalkhani N., Goodarzi M.T., Latifi Z., Farimani A.R., Fattahi A. Effects of Different Doses of Metformin on Serum Fatty Acid Composition in Type 2 Diabetic Rats. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*. 2017;5(1):22–28. DOI: 10.15171/ajmb.2017.04.
16. Tahmi M., Benitez R., Luchsinger J. A. Metformin as a Potential Prevention Strategy for Alzheimer's Disease and Alzheimer's Disease Related Dementias. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2024;101(s1):S345–S356. DOI: 10.3233/JAD-240495.
17. Allard J. S., Perez E. J., Fukui K., Carpenter P., Ingram D. K., de Cabo R. Prolonged metformin treatment leads to reduced transcription of Nrf2 and neurotrophic factors without cognitive impairment in older C57BL/6J mice. *Behavioral Brain Research*. 2016;301:1–9. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.12.01.
18. Wu C. Y. C., Lerner F. M., Couto e Silva A., Possoit H. E., Hsieh T.-H., Neumann J. T., Minagar A., Lin H. W., Lee R. H. C. Utilizing the Modified T-Maze to Assess Functional Memory Outcomes After Cardiac Arrest. *Journal of Visualized Experiments*. 2018;(131):56694. DOI: 10.3791/56694.
19. Semina I. I., Baichurina A. Z., Nikitin D. O., Nikitina A. V., Moustafine R. I., Khutoryanskiy V. V. Behavioral Pharmacology as the Main Approach to Study the Efficiency of Potential Psychotropic Drugs: Analysis of Modern Methods (Review). *Drug development & registration*. 2023;12(1):161–181. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181.
20. Titovich I. A., Radko S. V., Lisitskiy D. S., Okovityi S. V., Bolotova V. Ts., Belskaya A. V., Mikhailova M. V., Sysoev Yu. I. The study of the effect of the aminoethanol derivative on cognitive functions of laboratory animals. *Journal of Biomedicine*. 2017;3:102–110. (In Russ.).
21. Shustov E. B., Okovityi S. V., Bolotova V. T., Kim T. E. Battery of tests for studying the adaptogenic effects of biologically active substances in preclinical trials. *Pharmacy Formulas*. 2021;3(2):10–25. (In Russ.). DOI:10.17816/phf65230.
22. Forouzandeh F., Salazar G., Patrushev N., Xiong S., Hilen-ski L., Fei B., Alexander R. W. Metformin Beyond Diabetes: Pleiotropic Benefits of Metformin in Attenuation of Atherosclerosis. *Journal of the American Heart Association*. 2014;3(6):e001202. DOI: 10.1161/JAHA.114.001202.



Оценка состояния кратковременной распознающей памяти у агути-мутантных мышей A^y/a

В. А. Приходько , Е. А. Карелина, Т. М. Матузок, А. Б. Изотова, С. В. Оковитый

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, литера А

 **Контактное лицо:** Приходько Вероника Александровна. **E-mail:** vaprikhodko@mail.ru

ORCID: В. А. Приходько – <https://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;
Е. А. Карелина – <https://orcid.org/0009-0000-2629-683X>;
Т. М. Матузок – <https://orcid.org/0000-0002-1640-016X>;
А. Б. Изотова – <https://orcid.org/0000-0001-8356-1863>;
С. В. Оковитый – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Статья поступила: 08.12.2025

Статья принята в печать: 01.04.2026

Статья опубликована: 17.04.2026

Резюме

Введение. Ожирение и его осложнения являются ведущей медико-социальной проблемой в России и во всем мире. Агути-мутантные мыши A^y/a используются в качестве модели моногенного ожирения, связанного с угнетением функции меланокортиновой оси. Так называемый меланокортиновый синдром включает не только разнообразные проявления метаболической дисфункции, но и ряд нейрокогнитивных нарушений, в настоящее время изученных сравнительно мало.

Цель. Целью работы являлась оценка кратковременной распознающей памяти у самцов и самок мышей A^y/a по сравнению с однопометниками дикого типа.

Материалы и методы. В исследование были взяты 8 самцов и 7 самок мышей C57Bl/6- A^y/a , а также 8 самцов и 7 самок их однопометников дикого типа (C57Bl/6- a/a) в возрасте 1 года. Состояние распознающей памяти оценивали путем последовательного выполнения тестов «Распознавание нового объекта», «Локация нового объекта», «Объект-на-месте» (ОНМ) и «Определение новизны объекта» (ОНО) с интервалом в 5 мин и 3 сут между попытками в одном тесте и между тестами соответственно. Для каждого теста рассчитывали индекс дискриминации (ИД) по конвенциональной формуле.

Результаты и обсуждение. Для мышей дикого типа обоих полов были получены положительные значения ИД во всех тестах. Самцы A^y/a имели сопоставимые результаты со своими однопометниками дикого типа во всех тестах, в то время как самки A^y/a демонстрировали статистически значимое снижение средних значений ИД в тестах ОНМ и ОНО ($p < 0,05$ для обоих). Такие изменения могут отражать нарушение аллоцентрической пространственной памяти и ассоциативного распознавания объектов, что может указывать на поражение медиальной префронтальной коры, дорсомедиального и/или соединяющего ядер таламуса. Специфичность наблюдаемых отклонений для самок A^y/a может быть связана с большей выраженностью системных и центральных метаболических нарушений, инсулинорезистентности и оксидативного стресса.

Заключение. Проведенными экспериментами установлено наличие нарушений высокоуровневых компонентов кратковременной распознающей памяти у самок агути-мутантных мышей C57Bl/6- A^y/a . Состояние других видов памяти, половозрастные различия и динамика мнестических нарушений у мышей A^y/a требуют дальнейшего уточнения. Особенности кратковременной распознающей памяти у самцов и самок мышей A^y/a необходимо учитывать при планировании и проведении доклинических исследований.

Ключевые слова: распознающая память, мнестический дефицит, ожирение, меланокортиновый синдром, мутация *lethal yellow*, мыши A^y/a , поведенческие тесты

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

Вклад авторов. В. А. Приходько – идея и планирование исследования. В. А. Приходько, Е. А. Карелина, Т. М. Матузок – проведение экспериментов и обработка данных. В. А. Приходько – подготовка иллюстраций. В. А. Приходько, А. Б. Изотова, С. В. Оковитый – подготовка и редакция рукописи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Приходько В. А., Карелина Е. А., Матюзок Т. М., Изотова А. Б., Оковитый С. В. Оценка состояния кратковременной распознающей памяти у агути-мутантных мышей *A^{y/a}*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):146–153. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2257>

Short-time recognition memory assessment in agouti-mutant *A^{y/a}* mice

Veronika A. Prikhodko✉, Ekaterina A. Karelina, Tatyana M. Matuzok,
Anna B. Izotova, Sergey V. Okovityi

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

✉ **Corresponding author:** Veronika A. Prikhodko. **E-mail:** vaprikhodko@mail.ru

ORCID: Veronika A. Prikhodko – <https://orcid.org/0000-0002-4690-1811>;
Ekaterina A. Karelina – <https://orcid.org/0009-0000-2629-683X>;
Tatyana M. Matuzok – <https://orcid.org/0000-0002-1640-016X>;
Anna B. Izotova – <https://orcid.org/0000-0001-8356-1863>;
Sergey V. Okovityi – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>.

Received: 08.12.2025

Accepted: 01.04.2026

Published: 17.04.2026

Abstract

Introduction. Obesity and its complications are a leading medical and social problem in Russia and worldwide. The agouti-mutant *A^{y/a}* mice are used as a model of monogenic obesity caused by a suppression of the melanocortin system. The so-called melanocortin syndrome includes not only a variety of metabolic abnormalities but also a number of neurocognitive alterations, which have been relatively little studied.

Aim. Our objective was to assess the short-term recognition memory in male and female *A^{y/a}* mice compared to wild-type littermates.

Materials and methods. The experiments were carried out on 8 male and 7 female C57Bl/6-*A^{y/a}* mice along with 8 male and 7 female wild-type (C57Bl/6-*a/a*) littermates, aged 1 year. Recognition memory was assessed via sequential testing in the "Novel object recognition", "Novel object location", "Object-in-Place" (OiP), and "Object recency discrimination" (ORD) tests with a 5 min- and 3 day-long intervals between the testing phases and between the tests themselves, respectively. For each of the tests, we calculated the discrimination index (DI) using a conventional formula.

Results and discussion. Wild-type mice of both sexes demonstrated positive DI values in all of the tests. *A^{y/a}* males performed comparably with their wild-type littermates in all of the tests, while *A^{y/a}* females had significantly lower mean DI values in the OiP and ORD tests ($p < 0.05$ for both). These results may reflect an impairment of allocentric spatial memory and associative recognition, which may indicate damage to the medial prefrontal cortex, the medial dorsal nucleus and/or nucleus reuniens of the thalamus. The presence of such deficit in *A^{y/a}* females exclusively may be related to greater severity of systemic and central metabolic abnormalities, insulin resistance, and oxidative stress.

Conclusion. In this study, we found an impairment of higher-level aspects of short-term recognition memory in female agouti-mutant C57Bl/6-*A^{y/a}* mice. The state of other types of memory, sex- and age-specific differences and dynamics of memory deficits in *A^{y/a}* mice require further elucidation. The distinct features of short-term recognition memory in male and female *A^{y/a}* mice need to be taken into consideration when planning and conducting preclinical trials.

Keywords: recognition memory, memory deficits, obesity, melanocortin syndrome, *lethal yellow* mutation, *A^{y/a}* mice, behavioural testing

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. Veronika A. Prikhodko – study design and planning. Veronika A. Prikhodko, Ekaterina A. Karelina, Tatyana M. Matuzok – experiment conduction and data analysis. Veronika A. Prikhodko – visualization. Veronika A. Prikhodko, Anna B. Izotova, Sergey V. Okovityi – manuscript writing and review.

Funding. The results of this work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of the Saint-Petersburg Chemical Pharmaceutical University" (agreement No. 075-15-2021-685 from 26 July 2021) with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

For citation: Prikhodko V. A., Karelina E. A., Matuzok T. M., Izotova A. B., Okovityi S. V. Short-time recognition memory assessment in agouti-mutant *A^{y/a}* mice. *Drug development & registration*. 2026;15(2):146–153. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2257>

ВВЕДЕНИЕ

Избыточная масса тела и ожирение являются важнейшей медико-социальной проблемой современности. За период с 1990 по 2022 год общемировая распространенность ожирения увеличилась более чем в два раза и достигла 13 % с ожидаемым ростом до 20 % и более к 2030 г. [1]. В странах с высоким уровнем доходов совокупная доля населения с избыточной массой тела или ожирением в 2022 г. превышала 40 % [2]; в России в 2023 г. этот показатель равнялся 69,8 и 63,1 % для мужчин и женщин соответственно [3]. Ожирение является ключевым фактором неинфекционной заболеваемости, включая такие состояния, как сахарный диабет II типа, метаболически ассоциированная (неалкогольная) жировая болезнь печени, артериальная гипертензия, инфаркт миокарда, инсульт, некоторые виды новообразований, и в целом приводит к значительному сокращению продолжительности жизни [3, 4].

Агути-мутантные мыши *A^y/a* являются распространенной моделью ожирения и метаболического синдрома, применяемой в доклинических исследованиях [5]. Эти мыши гетерозиготны по гену агути-сигнального белка (ASP) с мутацией *lethal yellow* («летальный желтый»; у) в локусе *agouti*, представляющей собой делецию промотора. Наличие такой мутации переводит ген ASP под контроль более универсального промотора RALY и нарушает механизм отрицательной регуляции экспрессии. В результате этого ASP экспрессируется в супрафизиологических количествах, в том числе в тканях, в норме полностью лишенных его. ASP является прямым конкурентом меланокортинов (α -, β - и γ -меланокортимимулирующих гормонов) и выступает в качестве инверсного агониста меланокортиновых рецепторов (MCR), проявляя наибольшую аффинность к MC1R и MC4R [6, 7]. Генетически детерминированные нарушения функции меланокортиновой оси, включая главным образом первичный дефицит MC4R, являются наиболее распространенным вариантом моногенного ожирения у человека [6].

Блокада эффектов меланокортинов приводит к развитию комплекса нейроэндокринных нарушений, получившего название «меланокортинового синдрома». У мышей *A^y/a* наблюдают характерный желтый окрас шерсти, возникающий вследствие гиперпродукции феомеланина под влиянием ASP, активацию линейного роста, гиперфагию и замедление энергетического обмена, приводящие к прогрессирующему ожирению, включая висцеральное накопление жира. При отсутствии лечения в дальнейшем развиваются резистентность к инсулину и лептину, сахарный диабет II типа, дислипидемия, атеросклеротическое поражение сосудов, артериальная гипертензия и другие сердечно-сосудистые заболевания [5, 7].

Кроме метаболических нарушений, для мышей *A^y/a* характерно наличие нейропсихиатрических особенностей, обусловленных центральными эффектами

ASP. Установлено, что *A^y/a* склонны к депрессивному, тревожному, обсессивно-компульсивному поведению [8, 9], демонстрируют сниженную обучаемость и визуально-пространственную память [10]. Потенциальные изменения распознающей памяти у *A^y/a* в настоящее время не изучены. В связи с этим **целью настоящей работы** стала оценка кратковременной распознающей памяти у самцов и самок мышей *A^y/a* по сравнению с однопометниками дикого типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в соответствии с Базельской декларацией и Правилами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств после одобрения биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ. Для эксперимента использовали 30 мышей, полученных путем скрещивания самок линии C57Bl/6-*a/a* (дикий тип; питомник филиала «Столовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская обл., Россия) и самцов линии C57Bl/6-*A^y/a* (агути-мутанты; питомник ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия). Распределение животных по полу и генотипу отражено в таблице 1.

Таблица 1. Распределение мышей по полу и генотипу

Table 1. Distribution of mice by sex and genotype

Генотип Genotype	Пол Sex	
	Самцы Males	Самки Females
C57Bl/6- <i>a/a</i> (дикий тип) C57Bl/6- <i>a/a</i> (wild type)	<i>n</i> = 8	<i>n</i> = 7
C57Bl/6- <i>A^y/a</i> (агути-мутанты) C57Bl/6- <i>A^y/a</i> (agouti mutants)	<i>n</i> = 8	<i>n</i> = 7

Возраст животных на момент тестирования составлял 1 год. Мы выбрали эту временную точку, поскольку развитие метаболической дисфункции и ассоциированных нарушений у мышей *A^y/a* носит отсроченный характер [5, 11]. Мыши получали «Полнорационный комбикорм для лабораторных животных» (ООО «Лабораторкорм», Россия) и воду, соответствовавшую требованиям ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая», с доступом *ad libitum*.

Состояние распознающей памяти оценивали в батарее тестов, основанных на избирательном предпочтении здоровыми животными объектов, обладающих свойством новизны [12, 13]. Используя специализированную установку (ООО «НПК Открытая наука», Россия), последовательно выполняли тесты «Распознавание нового объекта» (РНО), «Локация нового объекта» (ЛНО), «Объект-на-месте» (ОНМ) и «Определение новизны объекта» (ОНО) по ранее опубликованному протоколу [12] с интервалом в 5 мин и 3 сут между попытками в одном тесте и меж-

ду тестами соответственно. Схемы расположения объектов в каждом из тестов изображены на рисунке 1. Для каждого теста осуществляли видеозапись активности животного в последней из попыток и рассчитывали индекс дискриминации (ИД) по формуле:

$$\text{ИД} = (t_n - t_3) / (t_n + t_3),$$

где t_n – время (с) изучения нового объекта; t_3 – время (с) изучения знакомого объекта [14].

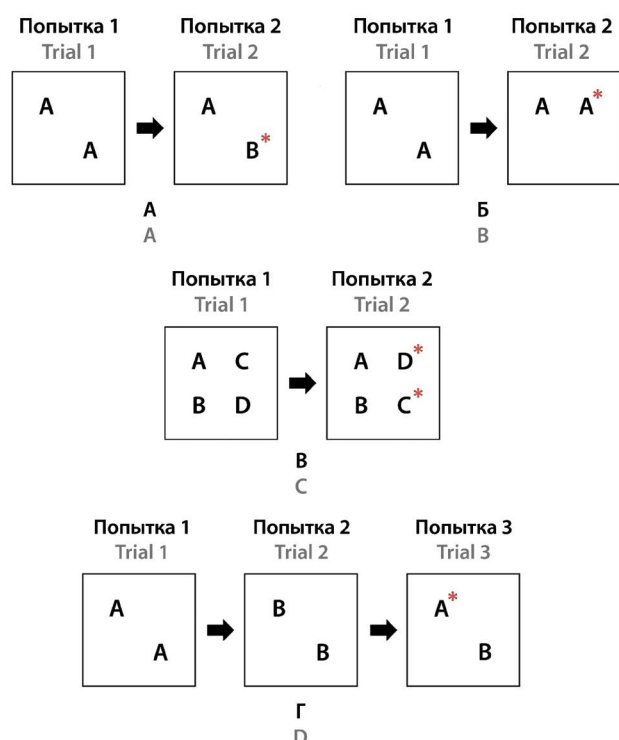


Рисунок 1. Расположение объектов в поведенческих тестах.

A – «Распознавание нового объекта»; B – «Локация нового объекта»; C – «Объект-на-месте»; D – «Определение новизны объекта»; символом * – обозначены объекты, предпочитаемые здоровыми животными. Адаптировано из [12]

Figure 1. Object placement in the behavioural tests.

A – "Novel object recognition"; B – "Novel object location"; C – "Object-in-place"; D – "Object recency discrimination"; * – indicates objects preferred by healthy animals. Adapted from [12]

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программы Prism 10.4.1 (GraphPad Software Inc., США). При помощи критерия Шапиро–Уилка было установлено, что количественные данные во всех тестах имели нормальное распределение. Значимость межгрупповых различий определяли путем двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с оценкой факторов «пол», «генотип» и их взаимодействия; для межгрупповых сравнений

использовали тест наименьших квадратов Фишера. Порог статистической значимости устанавливали на уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для мышей дикого типа обоих полов были получены положительные значения ИД во всех тестах, что свидетельствует о нормальном состоянии кратковременной распознающей памяти. Самцы A/a имели сопоставимые результаты со своими однопометниками дикого типа во всех тестах, в то время как самки A/a демонстрировали статистически значимое снижение средних значений ИД в тестах ОНМ (–0,07 против 0,37, $p < 0,05$) и ОНО (–0,19 против 0,50, $p < 0,05$). Полученные результаты отражены на рисунке 2.

Тест РНО предназначен для оценки способности грызуна к различению между новым и знакомым объектом на основании их воспринимаемой идентичности без учета контекста (местоположения). Положительные значения ИД, наблюдаемые нами у всех мышей в этом тесте, свидетельствуют о сохранности базового компонента визуальной эпизодической памяти, реализуемого нейронами задней теменной и периринальной коры головного мозга [12]. Хотя в запоминание и распознавание объектов также вовлечены гиппокамп и медиальная энторинальная кора, экспериментальное повреждение этих структур не всегда приводит к нарушению выполнения теста РНО [12, 15, 16].

Тест ЛНО позволяет оценить способность животного к запоминанию пространственного контекста и идентификации уже знакомого ему объекта, изменившего свое местоположение. Избирательное нарушение выполнения этого теста у грызунов наблюдают при поражениях гиппокампа, ретроспленальной и париеальной коры, а также обширных медиолатеральных участков энторинальной коры [12, 15, 17]. Таким образом, сохранение положительной дискриминации в пользу нового объекта в тестах РНО и ЛНО позволяет судить о функциональной сохранности всех вышеперечисленных структур головного мозга у мышей A/a обоих полов.

ОНМ и ОНО являются более «ресурсоемкими» тестами, и для их успешного выполнения требуется не только вовлечение некоторых дополнительных областей мозга, но и сохранение нормальной функциональной связности между ними [12]. По сравнению с ЛНО в тесте ОНМ животному необходимо идентифицировать объекты, изменяющие свое расположение друг относительно друга, но сохраняющие постоянными как свою идентичность, так и общий пространственный контекст. Благодаря этому тест ОНМ позволяет оценить формирование аллоцентрических репрезентаций пространственной информации, а также так называемое ассоциативное распознавание, основанное на запоминании не только самих объектов, но и их комбинаций. Невыполне-

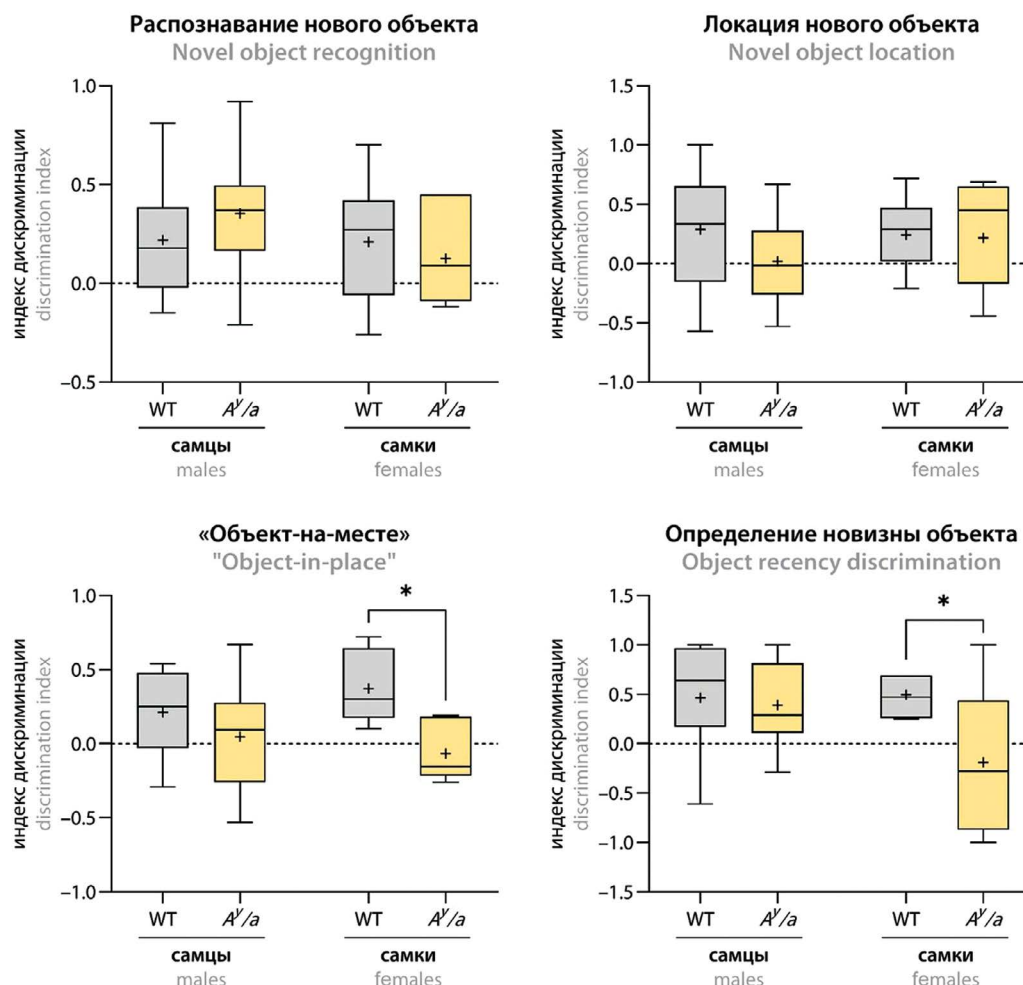


Рисунок 2. Значения индекса дискриминации между объектами (среднее (+), медиана, межквартильный интервал, 5–95-процентильный интервал).

WT – дикий тип; * – $p < 0,05$

Figure 2. Object discrimination index values (mean (+), median, interquartile range, 5–95 percentile range).

WT – wild type; * – $p < 0,05$

ние этого теста при нормальных результатах в ЛНО позволяет предполагать поражение ядер таламуса (дорсолатерального (поверхностного), дорсомедиального, соединяющего, передних), мамиллярных тел и мамиллоталамического тракта, медиальной префронтальной коры (мПФК) [12, 18].

Тест ОНО основан на различении грызунами знакомых объектов по времени последнего контакта с ними и предпочтении объекта, предъявленного раньше другого. Неспособность к определению новизны может указывать на нарушение функциональной активности широкого ряда структур мозга, включая главным образом гиппокамп и мПФК, а также периринальную и ретроспленальную зоны коры, дорсомедиальное и передние ядра таламуса, мамиллоталамический тракт и стриатум [12, 19].

Таким образом, в совокупности полученные нами результаты отражают нарушение у самок A^{y/a} интеграции различных аспектов информации, необходи-

мых для распознавания объектов (идентичность объекта, пространство, время, контекст), и с наибольшей долей вероятности могут быть связаны с поражением мПФК, дорсомедиального и/или соединяющего ядер таламуса. Это предположение косвенно подтверждается высоким уровнем экспрессии MC4R в перечисленных областях мозга, особенно в мПФК, у грызунов [20, 21]. Кроме этого, вносить вклад в формирование когнитивно-мнестического дефицита могут наблюдаемые у мышей A^{y/a} снижение общего объема коры головного мозга [22], нарушение синаптической пластичности и долговременной потенциации [10], уменьшение продукции нейротрофических факторов, а также потенцирование реакций нейровоспаления в условиях блокады MC1R [23].

Отдельный интерес представляет обнаруженная нами избирательная подверженность дефициту распознающей памяти самок, но не самцов A^{y/a}. Ранее в экспериментах у самок A^{y/a} были зафиксированы

нарушения обучаемости и пространственной памяти в «Водном лабиринте Морриса» [24, 25] и формирования условной реакции пассивного избегания [24], при этом самцы во всех случаях демонстрировали значительно лучшие результаты. Кроме этого, сообщается о более тяжелом течении ишемического инсульта [26], а также нечувствительности к катаболическим эффектам фактора-21 роста фибробластов (FGF21) [27] у самок по сравнению с самцами A^y/a .

Эти различия связывают с большей выраженностью инсулинорезистентности и реакций окислительного стресса в головном мозге у самок, что, в свою очередь, может быть обусловлено нарушением сигнальных путей рецептора эстрогенов [24, 26]. Для самок A^y/a также характерны значительные отличия экспрессии ряда генов углеводного и липидного обмена [27], включая снижение уровней экспрессии рецептора γ , активируемого пероксисомным пролифератором (PPAR- γ), в центральной нервной системе [24].

Следует отметить, что большая часть вышеупомянутых экспериментов выполнена с использованием мышей KK- A^y/a , родительская линия которых (KK, Kyo Kondo) является самостоятельной моделью полигенного сахарного диабета II типа и умеренного ожирения. В нашей работе мы использовали мышей с условно нейтральным генетическим бэкграундом C57Bl/6, что может ограничивать возможности экстраполяции результатов. Другими ограничениями исследования являются выбор животных зрелого (1 год) возраста, а также проведение тестирования с коротким (5 мин) интервалом между попытками, что не позволяет оценивать долговременное сохранение памятного следа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями у самок, но не самцов агути-мутантных мышей C57Bl/6- A^y/a установлено наличие нарушений высокоуровневых компонентов кратковременной распознающей памяти, включая способность к формированию аллоцентрических пространственных представлений и ассоциативному распознаванию объектов. Предположительно, такие нарушения могут свидетельствовать о поражении мПФК, дорсомедиального и/или соединяющего ядер таламуса. Половая специфичность наблюдаемых отклонений может быть связана с большей выраженностью инсулинорезистентности и окислительного стресса, а также измененными уровнями экспрессии ряда генов углеводного и липидного обмена в головном мозге у самок по сравнению с самцами A^y/a . Состояние других видов памяти и возрастная динамика мнестических нарушений у мышей A^y/a представляют интерес для дальнейшего изучения. Особенности кратковременной распознающей памяти у самцов и самок мышей A^y/a требуют учета при проведении доклинических исследований лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). World-wide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*. 2024;403(10431):1027–1050. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)02750-2.
2. Ahmed S.K., Mohammed R.A. Obesity: Prevalence, causes, consequences, management, preventive strategies and future research directions. *Metabolism Open*. 2025;27:100375. DOI: 10.1016/j.metop.2025.100375.
3. Мартинчик А. Н., Батурин А. К., Никитюк Д. Б., Тутельян В. А. Ожирение в Российской Федерации: эпидемиология, социально-демографические и нутрициологические факторы развития. *Гигиена и санитария*. 2024;103(12):1504–1513. DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-12-1504-1513.
4. Bhaskaran K., dos-Santos-Silva I., Leon D. A., Douglas I. J., Smeeth L. Association of BMI with overall and cause-specific mortality: a population-based cohort study of 3.6 million adults in the UK. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2018;6(12):944–953. DOI: 10.1016/S2213-8587(18)30288-2.
5. Ковалева М. А., Макарова М. Н., Макаров В. Г. Генетически модифицированные линии лабораторных животных, используемые в качестве модели метаболического синдрома и сахарного диабета. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018;1:22–31. DOI: 10.29296/2618723X-2018-01-03.
6. Fatima M. T., Ahmed I., Fakhro K. A., Al-Shabeeb Akil A. S. Melanocortin-4 receptor complexity in energy homeostasis, obesity and drug development strategies. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2022;24(4):583–598. DOI: 10.1111/dom.14618.
7. Khotskin N. V., Izyurov A. E., Kulikov A. V. Lethal yellow mutation in the Raly-Agouti locus reduces the energy expenditure in male mice. *Neuroscience Letters*. 2025;866:138374. DOI: 10.1016/j.neulet.2025.138374.
8. Fursenko D. V., Bazhenova E. Yu., Khotskin N. V., Sorokin I. E., Kulikova E. A., Kulikov A. V. Effect of Photoperiod and Lethal Yellow Mutation on Depression-Like Behavior and Expression of Proinflammatory Cytokines in the Hypothalamus in Mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(1):100–103. DOI: 10.1007/s10517-019-04470-8.
9. Izyurov A. E., Plyusnina A. V., Kulikova E. A., Kulikov A. V., Khotskin N. V. Lethal Yellow Mutation Causes Anxiety, Obsessive-compulsive Behavior and Affects the Brain Melanocortin System in Males and Females of Mice. *Current Protein & Peptide Science*. 2023;24(4):329–338. DOI: 10.2174/1389203724666230320145556.
10. Yin H., Wang W., Yu W., Li J., Feng N., Wang L., Wang X. Changes in Synaptic Plasticity and Glutamate Receptors in Type 2 Diabetic KK-Ay Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;57(4):1207–1220. DOI: 10.3233/JAD-160858.
11. Клёсов Р. А., Степанова О. И. Генетические биомодели метаболического синдрома. *Биомедицина*. 2018;(1):50–58.
12. Aggleton J. P., Nelson A. J. D. Distributed interactive brain circuits for object-in-place memory: A place for time? *Brain and Neuroscience Advances*. 2020;4:2398212820933471. DOI: 10.1177/2398212820933471.
13. Koivisto H., Maguire C., Tanila H. Novel object recognition task for mice: Is it a test for memory, object neophobia or innate preference? *Behavioural Brain Research*. 2025;491:115649. DOI: 10.1016/j.bbr.2025.115649.

14. Szczepańska K., Bojarski A. J., Popik P., Malikowska-Racia N. Novel object recognition test as an alternative approach to assessing the pharmacological profile of sigma-1 receptor ligands. *Pharmacological Reports*. 2023;75(5):1291–1298. DOI: 10.1007/s43440-023-00516-x.
15. Barker G. R. I., Warburton E. C. When is the hippocampus involved in recognition memory? *The Journal of Neuroscience*. 2011;31(29):10721–10731. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6413-10.2011.
16. Hunsaker M. R., Chen V., Tran G. T., Kesner R. P. The medial and lateral entorhinal cortex both contribute to contextual and item recognition memory: A test of the binding of items and context model. *Hippocampus*. 2013;23(5):380–391. DOI: 10.1002/hipo.22097.
17. de Landeta A. B., Pereyra M., Medina J. H., Katche C. Anterior retrosplenial cortex is required for long-term object recognition memory. *Scientific Reports*. 2020;10(1):4002. DOI: 10.1038/s41598-020-60937-z.
18. Warburton E. C., Brown M. W. Neural circuitry for rat recognition memory. *Behavioural Brain Research*. 2015;285:131–139. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.09.050.
19. Micheau J., Catheline G., Barse E., Hiba B., Marclhac A., Allard M., Platt B., Riedel G. PLB2_{Tau} mice are impaired in novel and temporal object recognition and show corresponding traits in brain MRI. *Brain Research Bulletin*. 2025;220:111161. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2024.111161.
20. Tao Y.-X. The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocrine Reviews*. 2010;31(4):506–543. DOI: 10.1210/er.2009-0037.
21. Ross R. A., Kim A., Das P., Li Y., Choi Y. K., Thompson A. T., Douglas E., Subramanian S., Ramos K., Callahan K., Bolshakov V. Y., Ressler K. J. Prefrontal cortex melanocortin 4 receptors (MC4R) mediate food intake behavior in male mice. *Physiology & Behavior*. 2023;269:114280. DOI: 10.1016/j.physbeh.2023.114280.
22. Khotskin N. V., Plyusnina A. V., Kulikova E. A., Bazhenova E. Y., Fursenko D. V., Sorokin I. E., Kolotygin I., Mormede P., Terenina E. E., Shevelev O. B., Kulikov A. V. On association of the lethal yellow (A^y) mutation in the agouti gene with the alterations in mouse brain and behavior. *Behavioural Brain Research*. 2019;359:446–456. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.11.013.
23. Shi S., Yin H.-J., Li J., Wang L., Wang W.-P., Wang X.-L. Studies of pathology and pharmacology of diabetic encephalopathy with KK-Ay mouse model. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2020;26(3):332–342. DOI: 10.1111/cns.13201.
24. Sakata A., Mogi M., Iwanami J., Tsukuda K., Min L.-J., Jing F., Iwai M., Ito M., Horiuchi M. Female exhibited severe cognitive impairment in type 2 diabetes mellitus mice. *Life Sciences*. 2010;86(17–18):638–645. DOI: 10.1016/j.lfs.2010.03.003.
25. Sakata A., Mogi M., Iwanami J., Tsukuda K., Min L.-J., Jing F., Ohshima K., Ito M., Horiuchi M. Improvement of cognitive impairment in female type 2 diabetes mellitus mice by spironolactone. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2012;13(1):84–90. DOI: 10.1177/1470320311412810.
26. Sakata A., Mogi M., Iwanami J., Tsukuda K., Min L.-J., Jing F., Ohshima K., Ito M., Horiuchi M. Female type 2 diabetes mellitus mice exhibit severe ischemic brain damage. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2011;5(1):7–11. DOI: 10.1016/j.jash.2010.12.003.
27. Makarova E. N., Yakovleva T. V., Balyibina N. Yu., Baranov K. O., Denisova E. I., Dubinina A. D., Feofanova N. A., Bazhan N. M. Pharmacological effects of fibroblast growth

factor 21 are sex-specific in mice with the lethal yellow (A^y) mutation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(2):200–208. DOI: 10.18699/VJ20.40-o.

REFERENCES

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). World-wide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *The Lancet*. 2024;403(10431):1027–1050. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)02750-2.
2. Ahmed S. K., Mohammed R. A. Obesity: Prevalence, causes, consequences, management, preventive strategies and future research directions. *Metabolism Open*. 2025;27:100375. DOI: 10.1016/j.metop.2025.100375.
3. Martinchik A. N., Baturin A. K., Nikityuk D. B., Tutelyan V. A. Obesity in the Russian Federation: epidemiology, socio-demographic and nutritional factors for development. *Hygiene and Sanitation*. 2024;103(12):1504–1513. (In Russ.) DOI: 10.47470/0016-9900-2024-103-12-1504-1513.
4. Bhaskaran K., dos-Santos-Silva I., Leon D. A., Douglas I. J., Smeeth L. Association of BMI with overall and cause-specific mortality: a population-based cohort study of 3.6 million adults in the UK. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2018;6(12):944–953. DOI: 10.1016/S2213-8587(18)30288-2.
5. Kovaleva M. A., Makarova M. N., Makarov V. G. Review of genetically modified lines of the laboratory animals used as metabolic syndrome and diabetes mellitus models. *Laboratory Animals for Science*. 2018;(1):22–31. (In Russ.) DOI: 10.29296/2618723X-2018-01-03.
6. Fatima M. T., Ahmed I., Fakhro K. A., Al-Shabeeb Akil A. S. Melanocortin-4 receptor complexity in energy homeostasis, obesity and drug development strategies. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2022;24(4):583–598. DOI: 10.1111/dom.14618.
7. Khotskin N. V., Izyurov A. E., Kulikov A. V. Lethal yellow mutation in the Raly-Agouti locus reduces the energy expenditure in male mice. *Neuroscience Letters*. 2025;866:138374. DOI: 10.1016/j.neulet.2025.138374.
8. Fursenko D. V., Bazhenova E. Yu., Khotskin N. V., Sorokin I. E., Kulikova E. A., Kulikov A. V. Effect of Photoperiod and Lethal Yellow Mutation on Depression-Like Behavior and Expression of Proinflammatory Cytokines in the Hypothalamus in Mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(1):100–103. DOI: 10.1007/s10517-019-04470-8.
9. Izyurov A. E., Plyusnina A. V., Kulikova E. A., Kulikov A. V., Khotskin N. V. Lethal Yellow Mutation Causes Anxiety, Obsessive-compulsive Behavior and Affects the Brain Melanocortin System in Males and Females of Mice. *Current Protein & Peptide Science*. 2023;24(4):329–338. DOI: 10.2174/1389203724666230320145556.
10. Yin H., Wang W., Yu W., Li J., Feng N., Wang L., Wang X. Changes in Synaptic Plasticity and Glutamate Receptors in Type 2 Diabetic KK-Ay Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;57(4):1207–1220. DOI: 10.3233/JAD-160858.
11. Klesov R. A., Stepanova O. I. Genetic biomodels of metabolic syndrome. *Journal Biomed*. 2018;(1):50–58. (In Russ.)
12. Aggleton J. P., Nelson A. J. D. Distributed interactive brain circuits for object-in-place memory: A place for time? *Brain and Neuroscience Advances*. 2020;4:2398212820933471. DOI: 10.1177/2398212820933471.
13. Koivisto H., Maguire C., Tanila H. Novel object recognition task for mice: Is it a test for memory, object neophobia or innate preference? *Behavioural Brain Research*. 2025;491:115649. DOI: 10.1016/j.bbr.2025.115649.

14. Szczepańska K., Bojarski A. J., Popik P., Malikowska-Racia N. Novel object recognition test as an alternative approach to assessing the pharmacological profile of sigma-1 receptor ligands. *Pharmacological Reports*. 2023;75(5):1291–1298. DOI: 10.1007/s43440-023-00516-x.
15. Barker G. R. I., Warburton E. C. When is the hippocampus involved in recognition memory? *The Journal of Neuroscience*. 2011;31(29):10721–10731. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6413-10.2011.
16. Hunsaker M. R., Chen V., Tran G. T., Kesner R. P. The medial and lateral entorhinal cortex both contribute to contextual and item recognition memory: A test of the binding of items and context model. *Hippocampus*. 2013;23(5):380–391. DOI: 10.1002/hipo.22097.
17. de Landeta A. B., Pereyra M., Medina J. H., Katche C. Anterior retrosplenial cortex is required for long-term object recognition memory. *Scientific Reports*. 2020;10(1):4002. DOI: 10.1038/s41598-020-60937-z.
18. Warburton E. C., Brown M. W. Neural circuitry for rat recognition memory. *Behavioural Brain Research*. 2015;285:131–139. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.09.050.
19. Micheau J., Catheline G., Barse E., Hiba B., Marclhac A., Allard M., Platt B., Riedel G. PLB2_{Tau} mice are impaired in novel and temporal object recognition and show corresponding traits in brain MRI. *Brain Research Bulletin*. 2025;220:111161. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2024.111161.
20. Tao Y.-X. The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocrine Reviews*. 2010;31(4):506–543. DOI: 10.1210/er.2009-0037.
21. Ross R. A., Kim A., Das P., Li Y., Choi Y. K., Thompson A. T., Douglas E., Subramanian S., Ramos K., Callahan K., Bolshakov V. Y., Ressler K. J. Prefrontal cortex melanocortin 4 receptors (MC4R) mediate food intake behavior in male mice. *Physiology & Behavior*. 2023;269:114280. DOI: 10.1016/j.physbeh.2023.114280.
22. Khotskin N. V., Plyusnina A. V., Kulikova E. A., Bazhenova E. Y., Fursenko D. V., Sorokin I. E., Kolotygin I., Mormede P., Terenina E. E., Shevelev O. B., Kulikov A. V. On association of the lethal yellow (A^y) mutation in the agouti gene with the alterations in mouse brain and behavior. *Behavioural Brain Research*. 2019;359:446–456. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.11.013.
23. Shi S., Yin H.-J., Li J., Wang L., Wang W.-P., Wang X.-L. Studies of pathology and pharmacology of diabetic encephalopathy with KK-Ay mouse model. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2020;26(3):332–342. DOI: 10.1111/cns.13201.
24. Sakata A., Mogi M., Iwanami J., Tsukuda K., Min L.-J., Jing F., Iwai M., Ito M., Horiuchi M. Female exhibited severe cognitive impairment in type 2 diabetes mellitus mice. *Life Sciences*. 2010;86(17–18):638–645. DOI: 10.1016/j.lfs.2010.03.003.
25. Sakata A., Mogi M., Iwanami J., Tsukuda K., Min L.-J., Jing F., Ohshima K., Ito M., Horiuchi M. Improvement of cognitive impairment in female type 2 diabetes mellitus mice by spironolactone. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2012;13(1):84–90. DOI: 10.1177/1470320311412810.
26. Sakata A., Mogi M., Iwanami J., Tsukuda K., Min L.-J., Jing F., Ohshima K., Ito M., Horiuchi M. Female type 2 diabetes mellitus mice exhibit severe ischemic brain damage. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2011;5(1):7–11. DOI: 10.1016/j.jash.2010.12.003.
27. Makarova E. N., Yakovleva T. V., Balyibina N. Yu., Baranov K. O., Denisova E. I., Dubinina A. D., Feofanova N. A., Bazhan N. M. Pharmacological effects of fibroblast growth factor 21 are sex-specific in mice with the lethal yellow (A^y) mutation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(2):200–208. DOI: 10.18699/VJ20.40-o.



Разработка и валидация ВЭЖХ-МС/МС-методики количественного определения нового производного сиднонимина и его метаболитов в плазме крови кроликов

Н. С. Попов¹, Д. А. Гавриленко¹, М. С. Баранов^{2,4}, Д. Е. Каурова^{2✉}, И. Н. Мяснянко^{2,4},
И. А. Солоха³, В. Ю. Балабаньян²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава). 170100, Россия, г. Тверь, ул. Советская, д. 4

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России). 117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

³ Тверской филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр охраны здоровья животных» (Тверской филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ»). 170007, Россия, г. Тверь, ул. Шишкова, д. 100

⁴ 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, вн. тер. г. муниципальный округ Коньково, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 1

✉ Контактное лицо: Каурова Диана Евгеньевна. E-mail: berseneva_diana@mail.ru

ORCID: Н. С. Попов – <https://orcid.org/0000-0002-1792-7414>;

Д. А. Гавриленко – <https://orcid.org/0009-0003-8692-0878>;

М. С. Баранов – <https://orcid.org/0000-0002-9339-7603>;

Д. Е. Каурова – <https://orcid.org/0000-0002-6261-9832>;

И. Н. Мяснянко – <https://orcid.org/0000-0002-2168-3555>;

И. А. Солоха – <https://orcid.org/0009-0003-9918-6342>;

В. Ю. Балабаньян – <https://orcid.org/0000-0002-5744-7060>.

Статья поступила: 05.08.2025

Статья принята в печать: 26.02.2026

Статья опубликована: 24.04.2026

Резюме

Введение. ВВР2023 – новый лекарственный кандидат группы сиднонимин, обладающий церебральной вазодилатирующей активностью и прокогнитивными свойствами. Фармакологические эффекты ВВР2023 обусловлены наличием активных метаболитов. Для проведения фармакокинетических исследований на доклиническом этапе необходимо разработать биоаналитическую методику определения ВВР2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов.

Цель. Разработка и валидация хромато-масс-спектрометрической методики количественного определения нового производного сиднонимина и его метаболитов в плазме крови кроликов.

Материалы и методы. Количественное определение ВВР2023 в плазме крови кроликов проводили методом ВЭЖХ-МС/МС. В процессе пробоподготовки биоматериала применяли способ осаждения белков метанолом. Хроматографическое разделение проводили смесью деионизированной воды и ацетонитрила в градиентном режиме на колонке ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4,6 × 50 мм, 5 мкм, с помощью хроматографа Agilent 1260 Infinity II. Детектирование осуществляли в режиме MRM с использованием масс-спектрометра AB Sciex QTRAP 3200 MD. В качестве внутреннего стандарта применяли N-(этоксикарбонил)-3-(4-метилпентан-2-ил)сиднонимин.

Результаты и обсуждение. Разработана методика пробоподготовки плазмы крови кроликов, подобраны оптимальные условия хроматографирования и детектирования исследуемого соединения и его метаболитов. Биоаналитическая методика валидирована по следующим показателям: селективности, матричному эффекту, степени извлечения, переносу пробы, линейности калибровочного диапазона, нижнему пределу количественного определения, внутри- и межсерийной точности и прецизионности, а также стабильности аналитов и внутреннего стандарта на этапах анализа.

Заключение. Разработана и валидирована методика количественного определения нового производного сиднонимина ВВР2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов с применением ВЭЖХ-МС/МС. Подтвержденные аналитические диапазоны для ВВР2023, ВВР2023 А и ВВР2023 С составили 5,0–500,0 нг/мл (5,0–1000,0 нг/мл для геранамина). Методика

была использована при проведении аналитической части доклинического фармакокинетического исследования BBP2023 на кроликах.

Ключевые слова: биотрансформация, фармакокинетика, сиднонимины, вазодилататоры, хромато-масс-спектрометрия

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

Вклад авторов. Н. С. Попов – масс-спектрометрическая идентификация метаболитов, разработка биоаналитической методики, подготовка рукописи. Д. А. Гавриленко – анализ литературных источников, проведение биологической части исследования, анализ результатов, подготовка рукописи. М. С. Баранов – разработка концепции исследования, синтез метаболитов, подготовка рукописи. Д. Е. Каурова – обзор литературы, анализ полученных результатов, подготовка рукописи. И. Н. Мяснянко – разработка концепции исследования, синтез метаболитов, подготовка рукописи. И. А. Солоха – выполнение оперативных вмешательств у лабораторных животных, подготовка рукописи. В. Ю. Балабаньян – постановка цели, разработка дизайна исследования, подготовка рукописи.

Финансирование. Данное исследование было выполнено в рамках государственного задания, номер госрегистрации – 124020900020-4.

Для цитирования: Попов Н. С., Гавриленко Д. А., Баранов М. С., Каурова Д. Е., Мяснянко И. Н., Солоха И. А., Балабаньян В. Ю. Разработка и валидация ВЭЖХ-МС/МС-методики количественного определения нового производного сиднонимина и его метаболитов в плазме крови кроликов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):154–170. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2164>

Development and validation of HPLC-MS/MS technique for the quantitative determination of a new derivative of sydnonymine and its metabolites in rabbit plasma

Nikita S. Popov¹, Dmitry A. Gavrilenko¹, Mikhail S. Baranov^{2, 4}, Diana E. Kaurova²✉, Ivan N. Myasnyanko^{2, 4}, Ivan A. Solokha³, Vadim Yu. Balabanyan²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Tver State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 4, Sovetskaya str., Tver, 170100, 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 (Pirogov Russian National Research Medical University). 1, Ostrovityanova str., Moscow, 117513, Russia

³ Tver Branch of Federal State-Financed Institution «Federal Centre for Animal Health» (FGBI «ARRIAH»). 100, Shishkova str., Tver, 170007, Russia

⁴ Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences (IBCh RAS). Building 1, 16/10, Miklukho-Maklaya str., intra-city territory of a federal city Konkovo, Moscow, 117997, Russia

✉ **Corresponding author:** Diana E. Kaurova. **E-mail:** berseneva_diana@mail.ru

ORCID: Nikita S. Popov – <https://orcid.org/0000-0002-1792-7414>;
Dmitry A. Gavrilenko – <https://orcid.org/0009-0003-8692-0878>;
Mikhail S. Baranov – <https://orcid.org/0000-0002-9339-7603>;
Diana E. Kaurova – <https://orcid.org/0000-0002-6261-9832>;
Ivan N. Myasnyanko – <https://orcid.org/0000-0002-2168-3555>;
Ivan A. Solokha – <https://orcid.org/0009-0003-9918-6342>;
Vadim Yu. Balabanyan – <https://orcid.org/0000-0002-5744-7060>.

Received: 05.08.2025

Accepted: 26.02.2026

Published: 24.04.2026

Abstract

Introduction. BBP2023 is a new drug candidate of the sydnonymine group with cerebral vasodilating activity and procognitive properties. The pharmacological effects of BBP2023 are due to the presence of active metabolites. To conduct pharmacokinetic studies at the preclinical stage, it is necessary to develop a bioanalytical method for the determination of BBP2023 and its metabolites in rabbit blood plasma.

Aim. Development and validation of a chromatography-mass spectrometric method for the quantitative determination of a new derivative of sydnonymine and its metabolites in rabbit blood plasma.

Materials and methods. Quantitative determination of BBP2023 in rabbit blood plasma was performed by HPLC-MS/MS. The biomaterial sample preparation was based on the method of protein precipitation with methanol. Chromatographic separation was performed with a mixture of deionized water and acetonitrile in a gradient mode on a ZORBAX Eclipse XDB-C18 analytical column (4.6 × 50 mm, 5 μm) using an Agilent 1260 Infinity II chromatograph. Detection was performed in the MRM mode using an AB Sciex QTRAP 3200 MD mass spectrometer. N-(ethoxycarbonyl)-3-(4-methylpentan-2-yl)sydnonymine was used as the internal standard.

Results and discussion. The method for sample preparation of rabbit blood plasma has been developed, optimal conditions for chromatography and detection of the studied compound and its metabolites have been selected. The bioanalytical method has been validated according to the following parameters: selectivity, matrix effect, recovery rate, carry-over effect, linearity of the calibration range, lower limit of quantitative determination, intra- and inter-run accuracy and precision, as well as stability of analytes and the internal standard at the analysis stages.

Conclusion. A method for the quantitative determination of a new derivative of sydnonymine BBP2023 and its metabolites in rabbit blood plasma using HPLC-MS/MS has been developed and validated. The confirmed analytical ranges for BBP2023, BBP2023 A and BBP2023 C were 5.0–500.0 ng/ml (5.0–1000.0 ng/ml for geranamine). The method was used in the analytical part of the preclinical pharmacokinetic study of BBP2023 in rabbits.

Keywords: biotransformation, pharmacokinetics, sydnonymines, vasodilators, chromatography-mass spectrometry

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. Popov – mass spectrometric metabolite identification, bioanalytical method development, manuscript preparation. Dmitry A. Gavrilenko – literature review, biological study execution, results analysis, manuscript preparation. Mikhail S. Baranov – research concept development, metabolite synthesis, manuscript preparation. Diana E. Kaurova – literature review, results analysis, manuscript preparation. Ivan N. Myasnyanko – research concept development, metabolite synthesis, manuscript preparation. Ivan A. Solokha – Surgical procedures on laboratory animals, manuscript preparation. Vadim Yu. Balabanyan – study objective formulation, research design development, manuscript preparation.

Funding. This study was performed as part of a state-funded research project, state registration number – 124020900020-4.

For citation: Popov N.S., Gavrilenko D.A., Baranov M.S., Kaurova D.E., Myasnyanko I.N., Solokha I.A., Balabanyan V.Yu. Development and validation of HPLC-MS/MS technique for the quantitative determination of a new derivative of sydnonymine and its metabolites in rabbit plasma. *Drug development & registration*. 2026;15(2):154–170. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2164>

ВВЕДЕНИЕ

Профилактика и лечение сосудистых заболеваний центральной нервной системы являются актуальной проблемой клинической неврологии [1]. Острые нарушения мозгового кровообращения имеют высокую частоту встречаемости и являются одной из основных причин смертности и инвалидности во всем мире [2–5]. Также большую распространенность имеет хроническая ишемия головного мозга (дисциркуляторная энцефалопатия, ДЭ) – медленно прогрессирующая дисфункция головного мозга, причиной которой является диффузное или мелкоочаговое повреждение мозговой ткани в условиях длительно существующей недостаточности церебрального кровоснабжения [6–8]. К основным проявлениям ДЭ относят снижение когнитивных способностей; аффективные, экстрапирамидные, мозжечковые, вестибулярные, псевдобульбарные и другие нарушения. Кроме того, расстройства кровоснабжения мозга могут быть причинами развития депрессии [9, 10], тревожных расстройств [11–13], эмоциональной лабильности [14], а также важным фактором риска развития инсульта [1].

На данный момент наиболее эффективным и патогенетически обоснованным подходом к терапии ДЭ является воздействие прежде всего на сосудистые факторы риска. К основным фармакотерапев-

тическим средствам, рекомендованным для терапии ДЭ, относятся антигипертензивные препараты (ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, антагонисты рецепторов ангиотензина), антиагреганты, статины, средства, влияющие на функции эндотелия (доноры NO, ингибиторы фосфодиэстераз, активаторы и стимуляторы гуанилатциклазы, иные вазодилататоры). Однако терапия дисциркуляторной энцефалопатии далека от совершенства, поскольку используемые лекарственные средства имеют ряд недостатков, обусловленных недостаточной эффективностью, побочными действиями, индивидуальными реакциями. Принимая во внимание мультифакторность патогенеза заболевания, можно прийти к заключению, что актуальным остается изыскание новых средств, реализующих свой фармакологический эффект посредством взаимодействия с разными мишенями.

С учетом значимой роли оксида азота (NO) в регуляции тонуса сосудов одним из направлений разработки центральных вазодилататоров является исследование донаторов NO [15]. Ограничение применения с этой целью классических донаторов оксида азота (нитропруссид натрия, нитроглицерин) обусловлено нежелательными эффектами, в первую очередь развитием гипотонии [16]. Исходя из этого актуальным является поиск центральных вазоди-

лататоров – донаторов NO, обладающих тропизмом к мозговой ткани. Перспективной химической группой для разработки препаратов с данными свойствами являются сиднонимины [17], представителем которых является лекарственный кандидат BVP2023 (N-(этоксикарбонил)-3-(4-метилгексан-2-ил)сиднонимин). Пилотные исследования данного соединения позволили выявить наличие у него церебральной вазодилатирующей активности в сочетании с прогностическими свойствами [18]. По результатам скрининговых исследований биотрансформации у мышей, кроликов и крыс установлено, что соединение BVP2023 метаболизируется в печени путем отщепления этоксикарбонильной группы, образуя нестойкий при физиологических значениях pH промежуточный продукт BVP2023 A (4-метилгексан-2-ил)сиднонимин). Данное соединение самопроизвольно распадается в плазме крови с высвобождением оксида азота и образованием промежуточного продукта метаболизма BVP2023 C ((4-метилгексан-2-ил)аминоацетонитрил) [19–20]. Дальнейший путь биотрансформации приводит к образованию геранамина (4-метилгексан-2-амин), также являющегося активным метаболитом с известной психостимулирующей активностью¹.

Для доклинического исследования фармакокинетики лекарственного кандидата BVP2023 необходимо провести разработку и валидацию бионалитической методики, позволяющей одновременно количественно определить исходное соединение и вышеописанные метаболиты в плазме крови кроликов.

Цель исследования: разработка и валидация хромато-масс-спектрометрической методики количественного определения нового производного сиднонимина и его метаболитов в плазме крови кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы и расходные материалы

Для разработки методики применяли стандартные образцы исследуемого препарата и его метаболитов: BVP2023 ((5Z)-5-[(этоксикарбонил)имино]-3-(4-метилгексан-2-ил)-5H-1,2,3-оксадиазол-3-ий-2-ид, вязкая жидкость, содержание вещества 99,8 %, серия LOT 1309, годен до 31.03.2026 г.); BVP2023 A (5-имино-3-(4-метилгексан-2-ил)-5H-1,2,3-оксадиазол-3-ий-2-ид гидрохлорид, субстанция-порошок, содержание вещества более 95 %, серия LOT 1306, годен до 30.11.2025 г.); BVP2023 C ((4-метилгексан-2-ил)аминоацетонитрил), жидкость, содержание вещества 85,5 %, серия LOT 1321, годен до 30.11.2025 г.); герани-

намин (4-метилгексан-2-амин) гидрохлорид, содержание вещества 98 %, серия LOT C16037674, CAS: 13803-74-2, годен до 15.06.2025 г.), внутренний стандарт (IS, (5Z)-5-[(этоксикарбонил)имино]-3-(4-метилпентан-2-ил)-5H-1,2,3-оксадиазол-3-ий-2-ид, вязкая жидкость, содержание вещества – более 95 %, серия LOT 1318, годен до 15.10.2025 г.). Все вещества, за исключением геранамина (Shanghai Macklin Biochemical Technology Co., Ltd., Китай), были синтезированы в научно-исследовательской лаборатории химии лекарственных субстанций НИИ трансляционной медицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, структурные формулы представлены на рисунке 1.

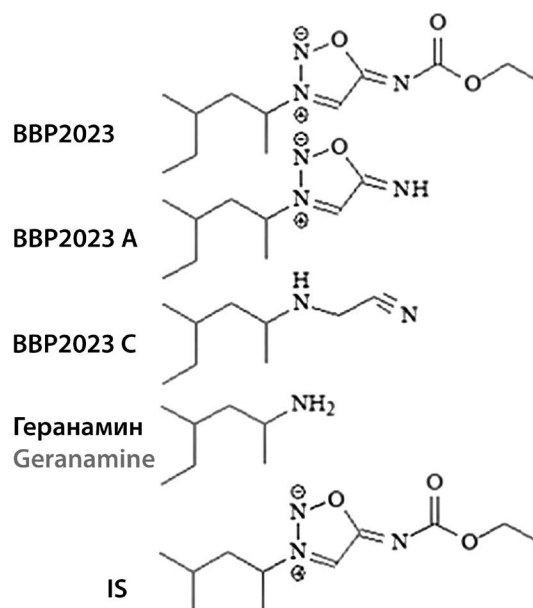


Рисунок 1. Структурные формулы BVP2023, его метаболитов и внутреннего стандарта

Figure 1. Structural formulas of BVP2023, its metabolites, and internal standard

Для приготовления растворов и проведения хроматографического анализа использовали ацетонитрил для ВЭЖХ-МС (Scharlau, Испания), метанол для ВЭЖХ (J.T. Backer, Нидерланды), муравьиную кислоту (ч., PanReac Applichem, Испания), лимонную кислоту (х.ч., PanReac Applichem, Испания), двузамещенный фосфат натрия (х.ч., PanReac Applichem, Испания), деионизированную воду (удельное сопротивление 18,2 МΩ, Milli-Q). Калибровочные и контрольные образцы готовили на интактной плазме крови кроликов.

В процессе разработки и валидации методики использовали нестерильные наконечники различного объема для автоматических дозаторов и микроцентрифужные пробирки типа «эппендорф» (Zhejiang Gongdong Medical Technology Co., Ltd., Китай).

¹ Решение Совета Евразийского экономического союза от 03.11.2016 г. № 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 17.10.2025.

Оборудование и программное обеспечение

Хроматографическое разделение BBP2023 и его метаболитов выполняли с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Германия), оснащенного четырехканальным градиентным насосом (G7111B) со встроенным блоком дегазации, автоматическим пробоотборником (G7129A), термостатом колонок (G1316A). Детектирование осуществляли с помощью масс-спектрометра типа «тройной квадруполь» AB Sciex QTRAP 3200 MD (AB Sciex Pte. Ltd., Сингапур).

При разработке биоаналитической методики применяли следующее оборудование: весы аналитические ВЛ-124В (ООО «НПП «Госметр», Россия), вортекс V-1 plus (SIA Biosan, Латвия), автоматические пипетки переменного объема Research Plus (Eppendorf, Германия), термостатируемый шейкер TS-100C (SIA Biosan, Латвия). Хранение биологических образцов и стандартных растворов осуществляли в морозильных шкафах LGT 3725 (Liebherr, Австрия) и MDF-193 (SANYO, Япония) соответственно. Получение плазмы крови и супернатанта в процессе пробоподготовки осуществляли с помощью центрифуг LMC-4200R (SIA Biosan, Латвия) и D-37520 (SIGMA, Германия) соответственно. Деионизированную воду получали с помощью лабораторной системы очистки воды Milli-Q (Millipore, Франция).

Приготовление исходных и рабочих растворов

Исходные растворы исследуемых веществ приготовлены путем растворения точных навесок (BBP2023 – 200 мг, BBP2023 A и геранамин в пересчете на основание – 200 мг, BBP2023 C с учетом содержания вещества в субстанции – 234 мг) в метаноле с добавлением 0,05%-й (по объему) муравьиной кислоты в мерных колбах вместимостью 100 мл (1 класс точности, ПАО «Химлаборприбор», Россия). Таким образом, концентрация каждого вещества в индивидуальных исходных растворах составила 2 мг/мл.

Из исходных растворов готовили 10-кратные комбинированные рабочие растворы с равным содержанием анализируемых веществ, которые затем были использованы для приготовления калибровочных (k) образцов в 8 уровнях концентраций и образцов контроля качества (QC) в 5 уровнях концентраций: LLOQ (нижний предел количественного определения), L (низкий), M1 и M2 (средние), H (высокий) – в плазме крови кроликов (таблица 1).

Для приготовления исходного раствора внутреннего стандарта (IS) навеску субстанции массой 50 мг вносили в мерную колбу объемом 25 мл и растворяли в метаноле, концентрация полученного раствора составила 2,0 мг/мл. Из исходного раствора внутрен-

него стандарта готовили раствор с концентрацией 100 нг/мл в метаноле с добавлением 0,1%-й муравьиной кислоты, который использовали для извлечения аналитов и осаждения белков в процессе пробоподготовки биоматериала. Исходные и рабочие растворы хранили при температуре –40 °С не более 2 месяцев.

Пробоподготовка

С учетом того факта, что метаболит BBP2023 A самопроизвольно распадается при физиологических значениях pH крови, получение биоматериала с использованием общепринятых антикоагулянтов (соли ЭДТА, гепарин) в настоящем эксперименте неприменимо. Для стабилизации активного метаболита кровь собирали с помощью одноразовых медицинских шприцев объемом 1 мл, в которые заранее вносили 10 мкл 2М цитратного буферного раствора со значением pH = 1,9, переносили в одноразовые пробирки и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин.

Для выбора способа пробоподготовки были приготовлены образцы плазмы крови кроликов с индивидуальной концентрацией каждого аналита 100 нг/мл. На предварительном этапе сравнивали степень извлечения каждого определяемого вещества при осаждении белков ацетонитрилом или метанолом, а также при применении жидкость-жидкостной экстракции гексаном или хлороформом. Альтернативным вариантом являлось использование твердофазной экстракции (ТФЭ), однако предпочтение отдавалось более доступным и быстрым способам пробоподготовки при достижении приемлемых значений степени извлечения.

Стандартные образцы, содержащие BBP2023 и его метаболиты, готовили следующим образом: 90 мкл интактной плазмы крови переносили в пробирки Эппендорфа объемом 1,5 мл. Добавляли 10 мкл соответствующего 10-кратного комбинированного рабочего раствора (таблица 1) и перемешивали на вортексе. Нулевые пробы были приготовлены путем добавления 10 мкл метанола к 90 мкл плазмы.

Для приготовления анализируемых растворов и подвижной фазы использовали стеклянные мерные колбы и цилиндры различного объема (класс точности 1). Хроматографическое разделение BBP2023 и его метаболитов выполняли на аналитической колонке ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4,6 × 50 мм, 5 мкм (Agilent Technologies, США), в сочетании с предколонкой Phenomenex C18, 4,0 × 3 мм (Phenomenex, США).

Для обработки первичных данных хроматографического анализа применяли программное обеспечение (ПО) AB Sciex Analyst (ver. 1.3.6), Sciex, США; статистический анализ результатов выполняли с помощью ПО StatPlus (ver. 7), AnalystSoft Inc., США.

Таблица 1. Калибровочные и контрольные образцы нового производного сиднонимина и его метаболитов в плазме крови кроликов

Table 1. Calibration samples and control samples of the new derivative of sydnonimine and its metabolites in rabbit blood plasma

Уровень Concentration level	Маркировка образца Sample name	Концентрация в биообразце, нг/мл Biosample concentration, ng/ml	Концентрация 10-кратного рабочего раствора в метаноле, нг/мл Concentration of tenfold work solution in methanol, ng/ml
Калибровочные образцы Calibration samples			
1	k 5	5	50
2	k 10	10	100
3	k 20	20	200
4	k 50	50	500
5	k 100	100	1000
6	k 200	200	2000
7	k 500	500	5000
8	k 1000	1000	10000
Образцы контроля качества для ВВР2023, ВВР2023 А, ВВР2023 С Quality control samples for ВВР2023, ВВР2023 А, ВВР2023 С			
LLOQ	QC 5	5	50
L	QC 15	15	150
M	QC 200	200	2000
H	QC 400	400	4000
Образцы контроля качества для геранамина Quality control samples for geranamine			
LLOQ	QC 5	5	50
L	QC 15	15	150
M	QC 400	400	4000
H	QC 800	800	8000

Валидация биоаналитической методики

В процессе валидации оценивались следующие параметры биоаналитической методики: селективность, матричный эффект, перенос пробы, степень извлечения, линейность калибровочного диапазона, нижний предел количественного определения (LLOQ),

внутри- и межсерийная точность и прецизионность, а также стабильность аналитов на этапах анализа. Валидацию методики проводили в соответствии с требованиями^{1,2}.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка биоаналитической методики

Для выбора условий масс-спектрометрического детектирования, обеспечивающих наибольшую чувствительность, растворы анализируемых веществ и IS (50 нг/мл) в 50%-м метаноле с добавлением 0,1%-й муравьиной кислоты анализировали путем прямого ввода в масс-спектрометр при помощи шприцевого насоса со скоростью 10 мкл/мин при ионизации электрораспылением (ESI) в режиме регистрации положительных ионов.

При сканировании в режиме полного ионного тока (MS1) определяли m/z ионов-предшественников для ВВР2023, его метаболитов и IS, основные ионы-продукты регистрировали в режиме Product Ion (MS2). Для количественного анализа была проведена оптимизация МС/МС-методики в режиме MRM для достижения максимальной чувствительности. Масс-спектры второго порядка показаны на рисунке 2, параметры детектирования представлены в таблице 2.

Для хроматографического разделения веществ использовали колонку ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4,6 × 50 мм, 5 мкм, с предколонкой Phenomenex C18, 4,0 × 3 мм. Разделение проводили в градиентном режиме, при скорости потока 0,6 мл/мин. В качестве подвижной фазы А использовали 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде, в качестве подвижной фазы В использовали 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (таблица 2), поток элюента в источник ионов детектора был направлен с 2,5 по 3,8 мин. На рисунке 3 представлен фрагмент общей хроматограммы стандартного образца плазмы крови кроликов с индивидуальной концентрацией каждого аналита 200 нг/мл.

Результаты оценки степени извлечения определяемых веществ из плазмы крови кроликов в процессе пробоподготовки при использовании способа жидкостной экстракции гексаном показали низ-

¹ Решение Совета Евразийского экономического союза от 03.11.2016 г. № 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 17.10.2025.

² ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m10-bioanalytical-method-validation-step-5_en.pdf Accessed: 17.10.2025.

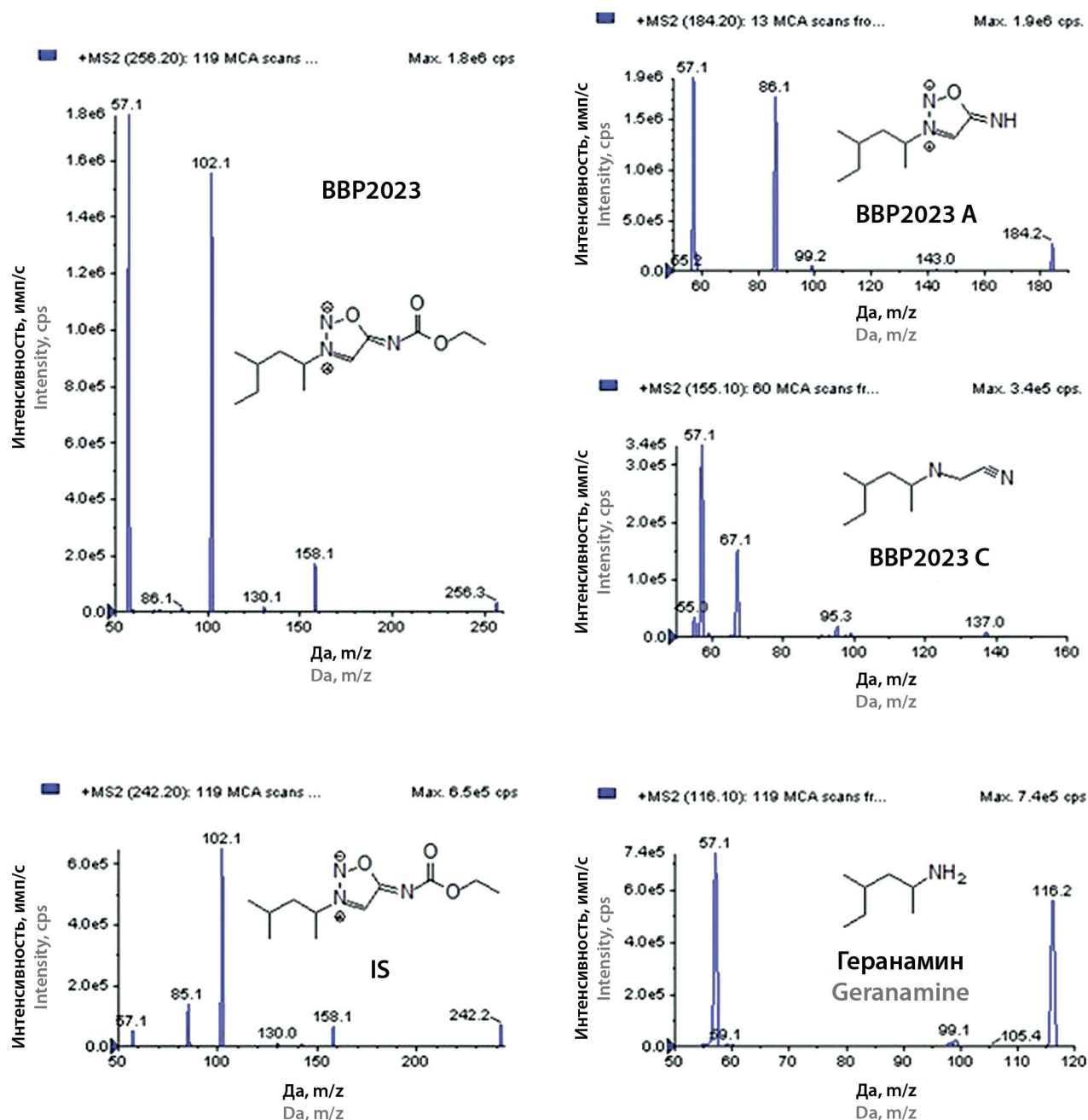


Рисунок 2. Масс-спектр второго порядка BBP2023, его метаболитов и внутреннего стандарта

Figure 2. Mass spectrum of product ions of BBP2023, its metabolites and internal standard

кие значения данного показателя для метаболитов BBP2023 C (в среднем 45 %) и BBP2023 A (в среднем 61 %). Для остальных веществ степень извлечения составила более 95 %. Применение в качестве экстрагента хлороформа характеризуется меньшими значениями степени извлечения для всех аналитов.

Альтернативным способом пробоподготовки биоматериала явилось осаждение белков органическим растворителем. Для выбора осадителя были приготовлены образцы плазмы крови кроликов с индиви-

дуальной концентрацией аналитов 100 нг/мл (pre-spike), образцы в растворителе (solvent-spike) и экстракты матрицы с добавкой аналитов (post-spike). Проводили подготовку образцов осаждением метанолом и ацетонитрилом и рассчитывали матричный эффект (ME, %) как отношение площади пика в образцах post-spike к площади пика в образце solvent-spike и степень извлечения (Recovery, %) как отношение площади пика в экстрагированном образце к площади пика в экстракте матрицы с добавкой аналитов.

Таблица 2. ВЭЖХ-МС/МС-параметры определения BBP2023 и его метаболитов
Table 2. HPLC-MS/MS parameters for the determination of BBP2023 and its metabolites

Хроматографические параметры Chromatographic parameters				
Элюент А Eluent A	0,1%-й (по объему) раствор муравьиной кислоты в деионизированной воде 0,1 % (v/v) solution of formic acid in deionized water			
Элюент В Eluent B	0,1%-й (по объему) муравьиной кислоты в ацетонитриле 0,1 % (v/v) solution of formic acid in acetonitrile			
Хроматографическая колонка Chromatographic column	ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4,6 × 50 мм, 5 мкм ZORBAX Eclipse XDB-C18, 4.6 x 50 mm, 5 µm			
Предколонка Guard column	Phenomenex C18, 4,0 × 3 мм Phenomenex C18, 4.0 x 3 mm			
Программа градиента Gradient program	Время, мин Time, min	Скорость потока, мкл/мин Flow rate, µL/min	% A	% B
	0,0	600	90	10
	2		0	100
	3,5		0	100
	3,6		90	10
	5		90	10
Промывка иглы инжектора Injector needle rinse	25%-й водный раствор метанола в течение 5 с 25 % aqueous methanol solution, 5 s			
Температура колонки, °C Column temperature, °C	30			
Объем ввода, мкл Injection volume, µL	10			
Время удерживания, мин Retention time, min	BBP2023	3,5		
	BBP2023 A	2,9		
	BBP2023 C	2,8		
	Геранамин Geranamine	2,7		
	IS	3,3		
Параметры масс-спектрометрической детекции Mass-spectrometric detection parameters				
Источник ионов Ion source	Turbo Ion Spray			
Режим ионизации Ionization mode	Положительный Positive			
Температура источника ионов, °C Ion source temperature, °C	450			
Напряжение ионизации, В Ionization voltage, V	5500			
Давление газа-завесы, psi Curtain gas pressure, psi	20			
Давление газа-распылителя, psi Spray gas pressure, psi	35			
Давление газа-нагревателя, psi Heater gas pressure, psi	45			
Потенциал на входе в ячейку соударений (EP), В Collision cell enter potential, V	10			

Окончание таблицы 2

Аналит Analyte	MRM-переход, m/z MRM-transition, m/z	Dwell, мс Dwell, ms	Потенциал декластеризации (DP), В Declustering potential, V	Энергия соударений (CE), эВ Collision energy, V	Потенциал на выходе из ячейки соударений (CXP), В Collision cell exit potential, V
BBP2023	256,2/102,0 256,2/57,1	50	38,0	14,0 25,0	3,5 2,5
BBP2023 A	184,1/86,1 184,1/57,1	50	28,0	11,0 21,0	2,9 2,3
BBP2023 C	155,1/57,1 155,1/99,1	50	38,0	18,0 10,0	2,5 3,0
Геранамин Geranamine	116,1/57,1 116,1/99,1	50	32,0	16,0 10,0	2,3 3,2
IS	242,2/102,0 242,2/57,1	50	32,0	14,0 25,0	3,5 2,7

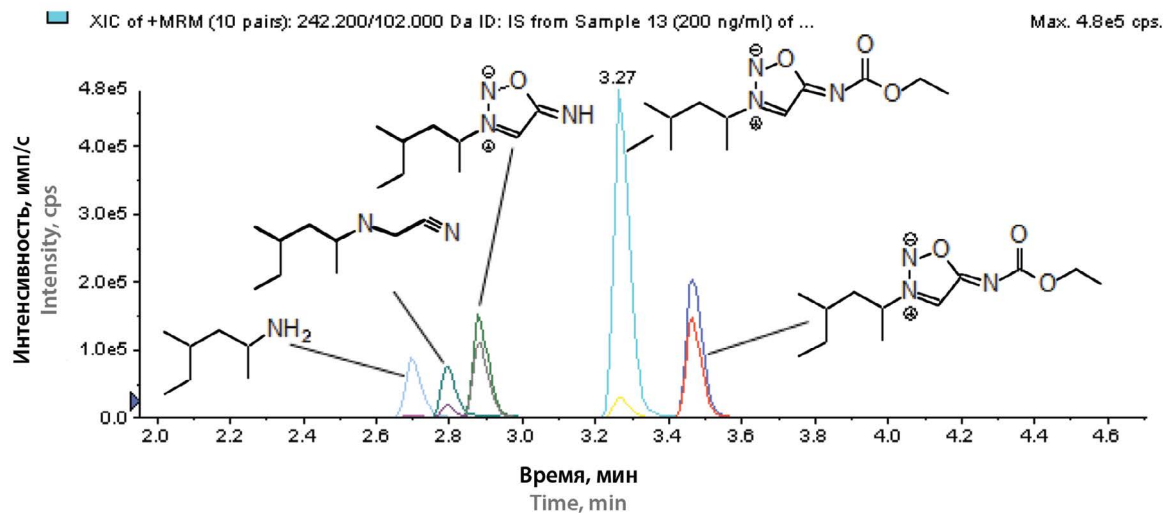


Рисунок 3. Фрагмент общей хроматограммы стандартного образца плазмы крови кроликов с индивидуальной концентрацией каждого аналита 200 нг/мл

Figure 3. Fragment of the total chromatogram of a standard sample of rabbit blood plasma with an individual concentration of each analyte of 200 ng/ml

Сравнение результатов при осаждении белков ацетонитрилом и метанолом показало, что оба подхода характеризуются высокими значениями степени извлечения при определении всех анализируемых веществ и приемлемыми значениями матричного эффекта для аналитов и внутреннего стандарта. Поэтому в качестве растворителя для осаждения белков использовали более доступный в лаборатории метанол с добавкой IS до концентрации 100 нг/мл. К данному раствору добавляли 0,1 % муравьиной кислоты с целью сохранения нестабильного в щелочной среде BBP2023 A при пробоподготовке и последующем анализе. Так как при осаждении белков метанолом получены приемлемые

значения показателей MF и Recovery, способ ТФЭ в настоящем эксперименте не оценивался.

Таким образом, процесс пробоподготовки включал следующие операции: в пробирку типа «эппендорф» объемом 1,5 мл вносили 100 мкл экспериментального образца плазмы крови кроликов, стандартного образца, образца контроля качества или нулевой пробы; добавляли 400 мкл раствора IS в метаноле с добавлением 0,1%-й муравьиной кислоты (100 нг/мл), перемешивали на вортексе в течение 10 с и выдерживали в морозильнике при –28 °C в течение 15 мин для лучшего осаждения белков. После этого образцы центрифугировали в течение 15 мин при 15000g, 100 мкл супернатанта переноноси-

ли в полиэтиленовые вставки в хроматографические вials и использовали для последующего ВЭЖХ-МС/МС-анализа.

Концентрации BVP2023 и его метаболитов в образцах плазмы крови кроликов были рассчитаны по калибровочным кривым, построенным по площадям хроматографических пиков стандартных образцов аналитов в биоматериале, нормированных на площадь пика IS. Построение калибровочной кривой осуществлялось путем подбора простейшей модели, адекватно описывающей зависимость аналитического сигнала от концентрации, и использования подходящего нормирования.

Валидация биоаналитической методики

Селективность

Исследование селективности было проведено путем анализа холостых проб и проб с концентрацией BVP2023 и его метаболитов 5,0 нг/мл, приготовленных в 6 индивидуальных образцах интактной плазмы крови кроликов.

Результаты определения BVP2023 и его метаболитов в холостых образцах (k0) и в образцах LLOQ представлены в таблице 3. Пример хроматограммы холостого образца представлен на рисунке 4. Средние значения селективности составили 0,01 % для IS и менее 15 % для аналитов, что свидетельствует о способности методики дифференцировать BVP2023, его метаболиты и IS и эндогенные вещества матрицы и иные компоненты, содержащиеся в образце.

Таблица 3. Селективность определения BVP2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов

Table 3. Selectivity of determination of BVP2023 and its metabolites in rabbit blood plasma

Вещество Analyte	Площадь пика в образце k0 k0 sample peak area	Площадь пика в образце k5 k5 sample peak area	Селективность, % Selectivity, %
BVP2023	2420,0	18733,3	13,0
BVP2023 A	748,8	15250,0	4,9
BVP2023 C	5786,6	39616,7	14,6
Геранамин Geranamine	0,0	14250,0	0,0
IS	150,2	1283333,3	0,0

Эффект матрицы

Оценку влияния матричного эффекта на определение изучаемых веществ проводили для концентраций BVP2023, BVP2023 A, BVP2023 C 15 и 400 нг/мл (15 и 800 нг/мл для геранамин) в 6 индивидуальных образцах плазмы крови кроликов. Матричный

эффект рассчитывался как отношение сигнала аналита в неэкстрагированном образце (post-spike sample) к усредненному значению сигнала аналита в чистом растворителе (solvent-spike sample, $n = 6$).

Нормированный матричный фактор (NMF) рассчитывался как отношение нормированного на IS индивидуального значения площади пика аналита в плазме крови кроликов (post-spike sample) к усредненному значению отношения нормированного на IS значения площади пика аналита в стандартном растворе (solvent-spike sample).

Средние значения нормированного матричного фактора при анализе плазмы крови кроликов для BVP2023 и его метаболитов были приближены к 1 для низких (L) и высоких (H) концентраций (таблица 4). Приемлемые значения $CV < 15\%$ для NMF показывают, что используемый в качестве внутреннего стандарта 5-[(этоксикарбонил)имино]-3-(4-метилпентан-2-ил)-5H-1,2,3-оксадиазол-3-ий-2-ид эффективно компенсирует влияние матрицы на сигнал BVP2023 и его метаболитов и что присутствие матричных компонентов в индивидуальных образцах плазмы крови кроликов не будет отражаться на точности определения при анализе испытуемых биологических образцов.

Перенос пробы

Перенос вещества во время ВЭЖХ-МС/МС-анализа оценивали путем сравнения хроматограмм холостой пробы k0, анализируемой после 6-кратного ввода пробы с индивидуальной концентрацией веществ 800 нг/мл, и пробы с LLOQ (5 нг/мл) и рассчитывали как отношение сигнала в холостом образце к сигналу в образце LLOQ. Результаты представлены в таблице 5. Отклик детектора на BVP2023, его метаболиты и IS в холостых пробах был ниже максимально допустимого уровня (20 % для аналитов и 5 % для IS), что свидетельствует о незначительности переноса вещества при переходе от большей концентрации к меньшей.

Степень извлечения

Определение степени извлечения BVP2023 и его метаболитов проводили для концентраций BVP2023, BVP2023 A, BVP2023 C 15 и 400 нг/мл (15 и 800 нг/мл для геранамин) в 6 индивидуальных образцах плазмы крови кроликов. Степень извлечения была рассчитана как отношение сигнала в экстрагированном образце (pre-spike sample) к сигналу в неэкстрагированном образце (post-spike sample). Результаты определения степени извлечения представлены в таблице 6. Средние значения степени извлечения находятся в пределах 85–115 %, максимальный разброс (CV) не превышает 15 %, что свидетельствует о практически количественном извлечении анализируемых веществ.

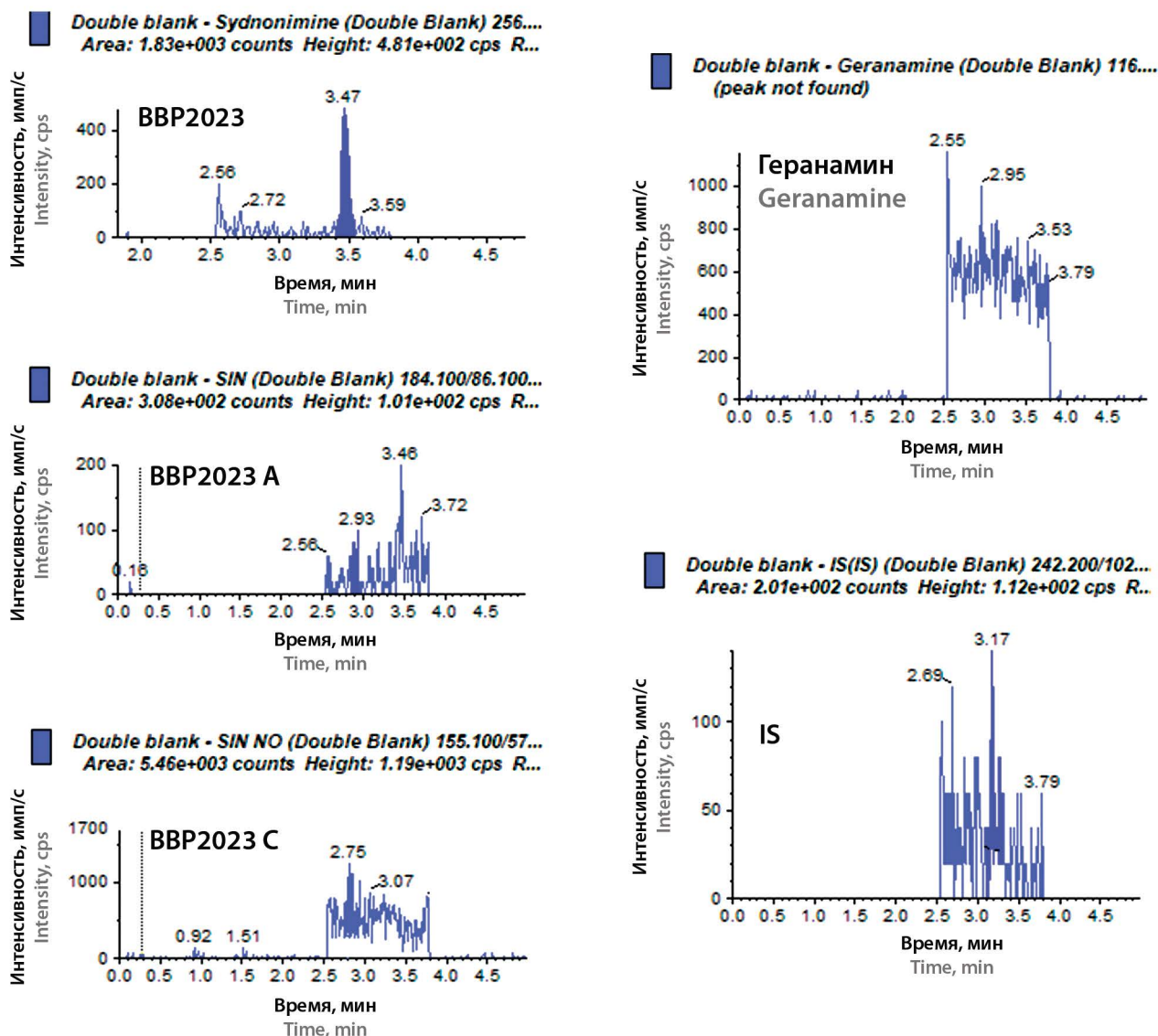


Рисунок 4. Фрагменты индивидуальных хроматограмм аналитов и внутреннего стандарта холостого образца плазмы крови кроликов

Figure 4. Fragments of individual chromatograms of analytes and the internal standard of a blank sample of rabbit blood plasma

Таблица 4. Эффект матрицы при определении BBP2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов

Table 4. Matrix effect in the determination of BBP2023 and its metabolites in rabbit plasma

Уровень Concentration level	Аналит Analyte	NMF						Среднее Mean	CV, %
L	BBP2023	0,85	0,82	0,87	0,81	1,01	0,82	0,86	8,82
	BBP2023 A	1,08	1,10	1,13	1,09	1,00	1,10	1,08	4,23
	BBP2023 C	0,99	0,98	1,02	1,05	1,03	0,99	1,01	2,76
	Геранамин Geranamine	1,17	1,12	1,15	1,17	1,00	1,15	1,13	5,81
H	BBP2023	0,87	0,90	0,96	0,96	0,90	0,92	0,93	3,16
	BBP2023 A	1,03	1,03	1,08	1,05	0,96	0,98	1,02	4,17
	BBP2023 C	1,01	1,09	1,19	1,02	0,98	1,06	1,06	7,06
	Геранамин Geranamine	1,13	1,11	1,13	1,15	1,06	1,15	1,12	3,07

Таблица 5. Оценка переноса пробы при определении ВВР2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов
Table 5. Estimation of sample carryover in the determination of ВВР2023 and its metabolites in rabbit blood plasma

Вещество Analyte	ВВР2023	ВВР2023 А	ВВР2023 С	Геранамин Geranamine	IS
Площадь пика в образце k5 k5 sample peak area	21700,0	14600,0	18100,0	27600,0	1400000,0
Площадь пика в образце k0 k0 sample peak area	876,0	838,0	0,0	0,0	297,0
Перенос пробы, % Carry-over, %	4,0	5,7	0,0	0,0	0,0

Таблица 6. Оценка степени извлечения ВВР2023 и его метаболитов из плазмы крови кроликов
Table 6. Estimation of the recovery of ВВР2023 and its metabolites in rabbit blood plasma

Уровень Concentration level	Вещество Analyte	ВВР2023	ВВР2023 А	ВВР2023 С	Геранамин Geranamine
L	Среднее, % Mean, %	98,9	101,2	94,9	87,3
	CV, %	9,6	5,3	6,0	8,3
H	Среднее, % Mean, %	89,3	94,2	92,8	101,4
	CV, %	12,7	6,7	12,7	6,1

Линейность калибровочного диапазона

Для выбора калибровочных диапазонов при определении ВВР2023 и его метаболитов образцы с концентрациями 1,0–4000,0 нг/мл (ожидаемый диапазон), а также нулевые пробы (с добавлением и без добавления IS) были приготовлены в плазме крови кроликов и проанализированы пятикратно в трех независимых сериях анализа. Построение калибровочных зависимостей проводилось с использованием ПО Analyst 1.6.3 (AB Sciex). Для построения калибровочных кривых по всем анализам использовали линейную регрессию с нормированием $1/x^2$, как простейшую модель, позволяющую описать зависимость нормированного сигнала от концентрации с соблюдением следующих критериев: коэффициент корреляции (r) > 0,995; точность определения калибровочного образца с концентрацией на уровне LLOQ лежит в диапазоне 80–120 %, остальных калибровочных образцов – в диапазоне 85–115 %. Нулевые пробы не были учтены при установлении зависимости.

По результатам анализа калибровочных образцов установлены следующие диапазоны линейности: 5,0–500,0 нг/мл для ВВР2023, ВВР2023 А и ВВР2023 С; 5,0–1000,0 нг/мл для геранамин. Отклонения от номинальной концентрации для не менее чем 75 % калибровочных образцов не превышали допустимые

значения (20 % для LLOQ и 15 % для остальных стандартов). Калибровочные графики, уравнения регрессии и коэффициенты корреляции валидационного цикла № 1 представлены на рисунке 5.

Точность и прецизионность

Определение внутри- и межсерийной точности и прецизионности определения ВВР2023 и его метаболитов проводили в трех независимых сериях путем анализа 5 контрольных образцов для 4 уровней концентрации – 5, 15, 200 и 400 нг/мл для ВВР2023, ВВР2023 А и ВВР2023 С (5, 15, 400 и 800 нг/мл для геранамин). Точность была определена как отношение рассчитанной концентрации в контрольном образце к номинальному значению, выраженное в процентах. Прецизионность определена как относительное стандартное отклонение (CV) между результатами определения аналита в контрольных образцах, выраженное в процентах. Критериями приемлемости считают: точность в диапазоне 80–120 %, прецизионность менее 20 % для концентрации на уровне LLOQ; точность в диапазоне 85–115 %, прецизионность менее 15 % для концентраций выше LLOQ. Полученные результаты показывают, что значения внутрисерийной и межсерийной (таблица 7) точности и прецизионности соответствуют вышеуказанным критериям.

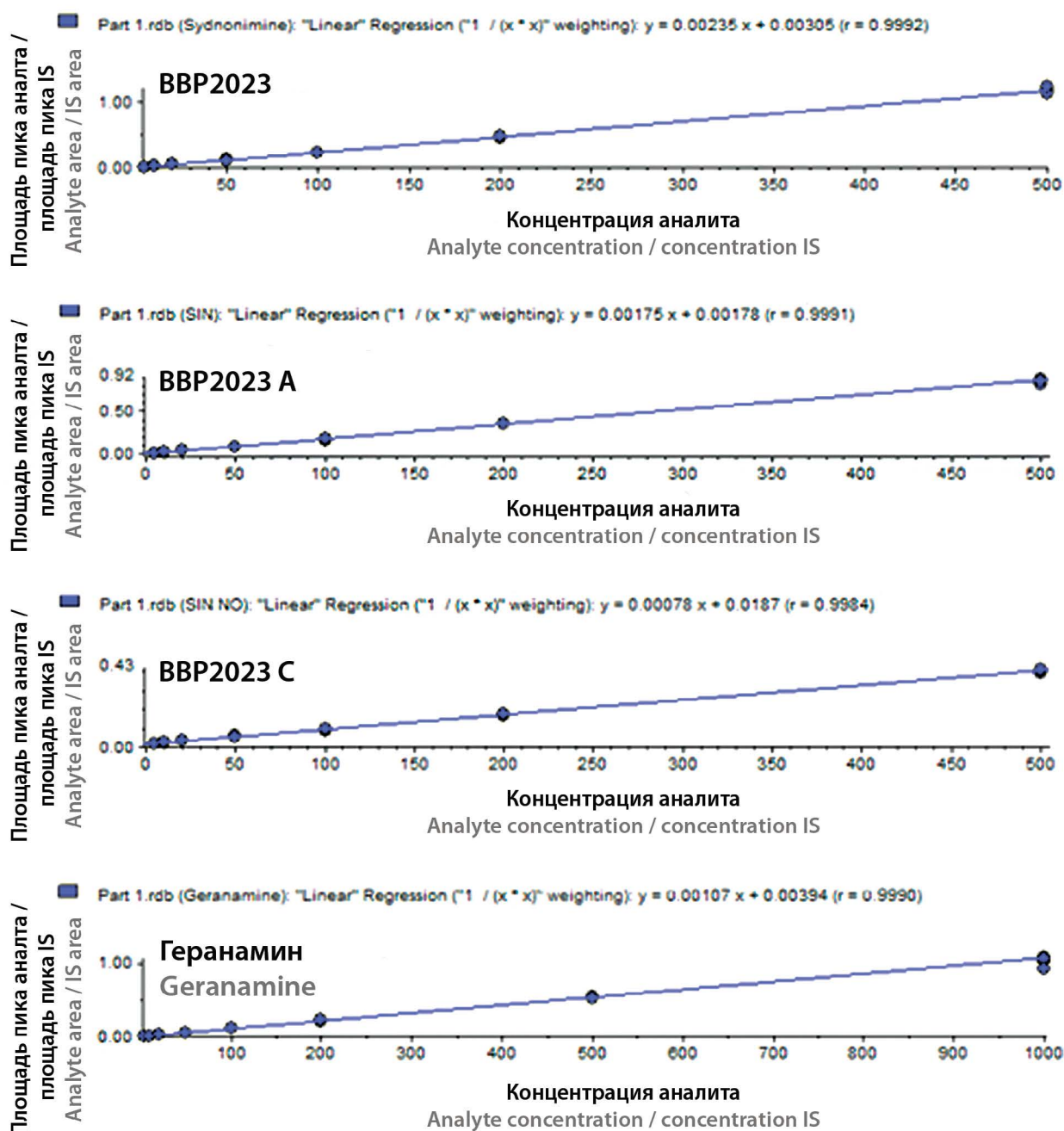


Рисунок 5. Калибровочные графики определения BVP2023 и его метаболитов валидационного цикла № 1

Figure 5. Calibration curves for the determination of BVP2023 and its metabolites from validation cycle 1

Нижний предел количественного определения

При анализе калибровочных образцов плазмы крови кроликов LLOQ для BVP2023 и его метаболитов установлен на уровне 5,0 нг/мл. При этом хроматографический сигнал соответствовал критериям приемлемости по точности и прецизионности, калибровочной кривой, соотношение «сигнал – шум» составило не менее 5. Запланированного LLOQ 1 нг/мл достичь не удалось. Фрагмент хроматограммы стандартного образца с содержанием аналитов на уровне НПКО представлен на рисунке 6.

Стабильность

Определение стабильности проводилось в соответствии с рекомендациями правил¹, были определены следующие виды стабильности BVP2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов: стабиль-

¹ ICH guideline M10 on bioanalytical method validation and study sample analysis. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m10-bioanalytical-method-validation-step-5_en.pdf Accessed: 17.10.2025

ность после 3 циклов заморозки/разморозки; краткосрочная стабильность; постпрепаративная стабильность; стабильность стандартных растворов аналитов и внутреннего стандарта в растворителе и долгосрочная стабильность. Критерием приемлемости в данном эксперименте является отклонение отклика на определяемое соединение по отношению к номинальному значению не более чем на 15 % (таблица 8).

Таблица 7. Межсерийная точность и прецизионность определения BBP2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов

Table 7. Inter-day accuracy and precision for the determination of BBP2023 and its metabolites in rabbit blood plasma

Уровень Concentration level	LLOQ	L	M	H
BBP2023				
Номинальная концентрация, нг/мл Nominal concentration, ng/ml	5,00	15,00	200,00	400,00
Среднее по трем сериям, нг/мл 3 series mean value, ng/ml	4,96	16,32	217,74	402,60
SD	0,17	0,46	2,33	13,24
Точность, % Accuracy, %	99,16	108,82	108,87	100,65
CV, %	3,34	2,83	1,07	3,29
BBP2023 A				
Номинальная концентрация, нг/мл Nominal concentration, ng/ml	5,00	15,00	200,00	400,00

Уровень Concentration level	LLOQ	L	M	H
Среднее по трем сериям, нг/мл 3 series mean value, ng/ml	4,90	16,56	213,93	380,83
SD	0,16	0,36	7,57	6,99
Точность, % Accuracy, %	98,08	110,42	106,97	95,21
CV, %	3,35	2,15	3,54	1,83
BBP2023 C				
Номинальная концентрация, нг/мл Nominal concentration, ng/ml	5,00	15,00	200,00	400,00
Среднее по трем сериям, нг/мл 3 series mean value, ng/ml	5,16	15,38	213,70	410,91
SD	0,14	0,30	7,74	18,23
Точность, % Accuracy, %	103,13	102,52	106,85	102,73
CV, %	2,64	1,97	3,62	4,44
Геранамин Geranamine				
Номинальная концентрация, нг/мл Nominal concentration, ng/ml	5,00	15,00	400,0	800,0
Среднее по трем сериям, нг/мл 3 series mean value, ng/ml	5,18	15,72	404,84	774,49
SD	0,04	0,43	10,55	20,87
Точность, % Accuracy, %	103,61	104,78	101,21	96,81
CV, %	0,86	2,72	2,61	2,70

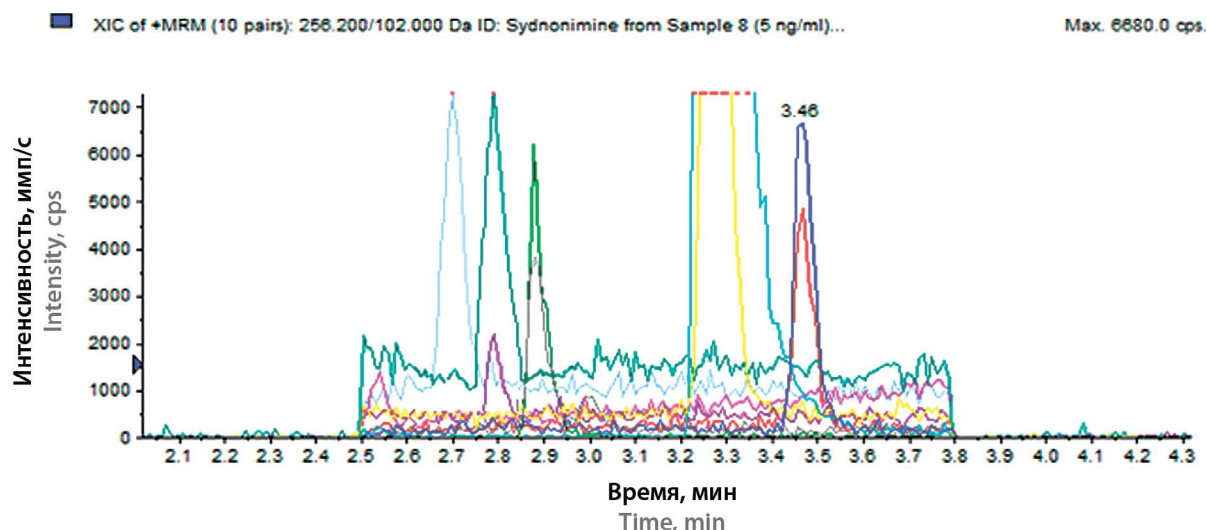


Рисунок 6. Фрагмент общей хроматограммы образца плазмы крови кроликов с содержанием аналитов на уровне нижнего предела количественного определения

Figure 6. Fragment of a general chromatogram of a rabbit blood plasma sample with analyte content at the lower limit of quantification

Таблица 8. Результаты оценки стабильности ВВР2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов

Table 8. Results of stability assessment of ВВР2023 and its metabolites in rabbit blood plasma

Вид стабильности Stability type	Стабильность, % Stability, %							
	ВВР2023		ВВР2023 А		ВВР2023 С		Геранамин Geranamine	
	L	H	L	H	L	H	L	H
Краткосрочная стабильность: хранение образцов при 20 ± 2 °С в течение 2 ч Short-term stability: samples stored at 20 ± 2 °C for 2 h	112,0	102,4	90,0	88,3	99,6	97,8	109,5	104,2
Постпрепаративная стабильность: хранение образцов при 20 ± 2 °С в течение 24 ч в автосамплере хроматографа Post-preparative stability: samples stored at 20 ± 2 °C for 24 h in autosampler	99,5	100,3	112,0	97,8	91,1	86,0	106,8	100,5
Стабильность после 3 циклов заморозки/разморозки: не менее 72 ч при -40 ± 2 °С, не менее 2 ч при 20 ± 2 °С Stability after 3 cycles of freezing and thawing: not less than 72 h at -40 ± 2 °C, not less than 2 h at 20 ± 2 °C	111,6	108,7	88,4	93,4	91,2	97,6	106,4	99,2
Долгосрочная стабильность: 90 суток при -80 ± 2,5 °С Long-term stability: 90 days at -80 ± 2,5 °C	98,4	95,6	94,7	95,1	96,0	93,8	98,1	99,3
Стабильность исходных растворов: 60 суток при -40 ± 2 °С Stock solutions stability: 60 days at -40 ± 2 °C	101,2	100,4	98,8	97,5	95,6	97,1	100,9	102,0
Стабильность 10-кратных рабочих растворов: 60 суток при -40 ± 2 °С Tenfold work solution stability: 60 days at -40 ± 2 °C	96,8	96,1	97,4	96,8	94,9	97,5	95,4	99,1

Применение разработанной методики

Разработанная методика была использована при проведении аналитической части фармакокинетических исследований лекарственного кандидата ВВР2023 у кроликов, выполняемых в процессе реализации научно-исследовательской работы в рамках государственного задания (124020900020-4) «Разработка лекарственного кандидата, обладающего преимущественно центральным сосудорасширяющим действием для лечения цереброваскулярных патологий». С помощью данной биоаналитической методики были определены концентрации ВВР2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов после однократного внутривенного, внутривентрикулярного, внутримышечного и ректального введения АФС, а также после однократного и многократного введения ГЛС (мягкие желатиновые капсулы). Кроме того, данная методика была использована при исследовании линейности фармакокинетики ВВР2023 при внутривентрикулярном введении кроликам, а также явилась основой для разработки и валидации биоаналитической методики определения ВВР2023 и его метаболитов в органах и тканях крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана и валидирована методика количественного определения нового производного сиднонимина ВВР2023 и его метаболитов в плазме крови кроликов с применением ВЭЖХ-МС/МС [21]. Подтвержденные аналитические диапазоны для ВВР2023, ВВР2023 А и ВВР2023 С составили 5,0–500,0 нг/мл (5,0–1000,0 нг/мл для геранамин). Разработанная методика была использована при выполнении аналитической части исследования фармакокинетики лекарственного кандидата у кроликов при внутривенном, внутривентрикулярном, ректальном и внутримышечном путях введения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zivadinov R., Chung C.-P. Potential involvement of the extracranial venous system in central nervous system disorders and aging. *BMC Medicine*. 2013;11:260. DOI: 10.1186/1741-7015-11-260.

2. Kolmos M., Christoffersen L., Kruuse C. Recurrent ischemic stroke – a systematic review and meta-analysis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2021;30(8):105935. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105935.

3. Ding R., Zhang H. Efficacy of very early mobilization in patients with acute stroke: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Palliative Medicine*. 2021;10(11):11776–11784. DOI: 10.21037/apm-21-2997.
4. Shahid J., Kashif A., Shahid M. K. A comprehensive review of physical therapy interventions for stroke rehabilitation: impairment-based approaches and functional goals. *Brain Sciences*. 2023;13(5):717. DOI: 10.3390/brainsci13050717.
5. Yuan M., Xiao Z.-L., Zhou H.-Y., Rao W., Huang G., Nie H.-B., Cao W.-F., Xu R.-S. Bipolar disorder and the risk for stroke incidence and mortality: a meta-analysis. *Neurological Sciences*. 2022;43(1):467–476. DOI: 10.1007/s10072-021-05348-2.
6. Rajeev V., Chai Y. L., Poh L., Selvaraji S., Fann D. Y., Jo D.-G., De Silva T. M., Drummond G. R., Sobey C. G., Arumugam T. V., Chen C. P., Lai M. K. P. Chronic cerebral hypoperfusion: a critical feature in unravelling the etiology of vascular cognitive impairment. *Acta Neuropathologica Communications*. 2023;11(1):93. DOI: 10.1186/s40478-023-01590-1.
7. Кулеш А. А., Емелин А. Ю., Боголепова А. Н., Дорони-на О. Б., Захаров В. В., Колоколов О. В., Котов С. В., Кор-сунская Л. Л., Кутлубаев М. А., Ласков В. Б., Левин О. С., Парфенов В. А. Клинические проявления и вопро-сы диагностики хронического цереброваскулярно-го заболевания (хронической ишемии головного моз-га) на ранней (додементной) стадии. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2021;13(1):4–12. DOI: 10.14412/2074-2711-2021-1-4-12.
8. Rajeev V., Fann D. Y., Dinh Q. N., Kim H. A., De Silva T. M., Lai M. K. P., Chen C. L.-H., Drummond G. R., Sobey C. G., Arumugam T. V. Pathophysiology of blood brain bar-rier dysfunction during chronic cerebral hypoperfu-sion in vascular cognitive impairment. *Theranostics*. 2022;12(4):1639–1658. DOI: 10.7150/thno.68304.
9. Cross J. G., May B. R., Mai P. Q. M., Anderson E., Welsh C., Chandran S., Chorath K. T., Herr S., Gonzalez D. A sys-tematic review and evaluation of post-stroke de-pression clinical practice guidelines. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2023;32(9):107292. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2023.107292.
10. Castello J. P., Pasi M., Kubiszewski P., Abramson J. R., Charidimou A., Kourkoulis C., DiPucchio Z., Schwab K., Anderson C. D., Gurol M. E., Greenberg S. M., Ro-sand J., Viswanathan A., Biffi A. Cerebral small ves-sel disease and depression among intracerebral he-morrhage survivors. *Stroke*. 2022;53(2):523–531. DOI: 10.1161/STROKEAHA.121.035488.
11. Iľtoňová M., Dorko E., Knap V., Stehlíková B., Murgová A., Ondová P., Rimárová K. Assessment of depressive di-sorders and states of anxiety in patients following ce-rebrovascular accidents in connection with health care provision. *Central European Journal of Public Health*. 2024;32(Suppl):S18–S24. DOI: 10.21101/cejph.a7888.
12. Ghosh P. A., Chaudhury S., Rohatgi S. Assessment of Depression, Anxiety, Stress, Quality of Life, and Fatigue in Patients After a Cerebrovascular Accident. *Cureus*. 2024;16(10):e72051. DOI: 10.7759/cureus.72051.
13. McAleese N., Guzman A., O'Rourke S. J., Gillespie D. C. Post-stroke emotionalism: a qualitative investigation. *Disability and Rehabilitation*. 2021;43(2):192–200. DOI: 10.1080/09638288.2019.1620876.
14. Wu J., Yin W., Huang Z., Zhang Y., Jia J., Cheng H., Kang F., Huang K., Sun T., Tian J., Xu X., Zhang Y. Design, synthe-sis, and biological evaluation of organic nitrite (NO₂⁻) donors as potential anticerebral ischemia agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2021;64(15):10919–10933. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c00282.
15. Archavlis E., Nievas M. C. Y. Cerebral vasospasm: a review of current developments in drug therapy and research. *Journal of Pharmaceutical Technology and Drug Research*. 2013;2(1):18. DOI: 10.7243/2050-120X-2-18.
16. Idocin A. F., Specklin S., Taran F. Sydnonimines: synthe-sis, properties and applications in chemical biology. *Chemical Communications*. 2025;61(31):5704–5718. DOI: 10.1039/d5cc00535c.
17. Попов Н. С., Баранов М. С., Балабаньян В. Ю. Целенаправ-ленное изучение фармакокинетики соединений-ли-деров из группы сиднониминов как основа для созда-ния вазодилаторов с преимущественно центральным действием. *Трансляционная медицина*. 2024;11(S2):112.
18. Docherty J. R., Alsufyani H. A. Pharmacology of drugs used as stimulants. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2021;61:S53–S69. DOI: 10.1002/jcph.1918.
19. Popov N. S., Gavrilenko D. A., Pavlov R. D., Baranov M. S., Kaurova D. E., Myasnyanko I. N., Ivanov D. S., Balaba-nyan V. Y. Study of the biotransformation of a new syd-nonimine derivative with predominant cerebral va-sodilatory activity. *Research Results in Pharmacology*. 2025;11(4):258–271. DOI: 10.18413/rrpharmacology.11.1042.
20. Попов Н. С., Терехов В. М., Баранов М. С., Балаба-ньян В. Ю., Каурова Д. Е., Мяснянко И. Н. и др. Оцен-ка роли печеночного метаболизма в биотрансформа-ции сиднониминов *in vivo*. *Вестник РГМУ*. 2025;(3):50–57. DOI: 10.24075/vrgmu.2025.026.
21. Попов Н. С., Гавриленко Д. А., Баранов М. С., Кауро-ва Д. Е., Мяснянко И. Н., Балабаньян В. Ю. Исследо-вание фармакокинетики нового производного сиднони-мина у кроликов при различных путях введения. *Фар-макокинетика и Фармакодинамика*. 2025;(4):69–76. DOI: 10.37489/2587-7836-2025-4-69-76.

REFERENCES

1. Zivadnov R., Chung C.-P. Potential involvement of the extracranial venous system in central nervous system disorders and aging. *BMC Medicine*. 2013;11:260. DOI: 10.1186/1741-7015-11-260.
2. Kolmos M., Christoffersen L., Kruuse C. Recurrent ische-mic stroke – a systematic review and meta-analysis. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2021;30(8):105935. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105935.
3. Ding R., Zhang H. Efficacy of very early mobilization in patients with acute stroke: a systematic review and me-ta-analysis. *Annals of Palliative Medicine*. 2021;10(11):11776–11784. DOI: 10.21037/apm-21-2997.
4. Shahid J., Kashif A., Shahid M. K. A comprehensive review of physical therapy interventions for stroke rehabilitation: impairment-based approaches and functional goals. *Brain Sciences*. 2023;13(5):717. DOI: 10.3390/brainsci13050717.
5. Yuan M., Xiao Z.-L., Zhou H.-Y., Rao W., Huang G., Nie H.-B., Cao W.-F., Xu R.-S. Bipolar disorder and the risk for stroke incidence and mortality: a meta-ana-lysis. *Neurological Sciences*. 2022;43(1):467–476. DOI: 10.1007/s10072-021-05348-2.

6. Rajeev V., Chai Y.L., Poh L., Selvaraji S., Fann D.Y., Jo D.-G., De Silva T.M., Drummond G.R., Sobey C.G., Arumugam T.V., Chen C.P., Lai M.K.P. Chronic cerebral hypoperfusion: a critical feature in unravelling the etiology of vascular cognitive impairment. *Acta Neuropathologica Communications*. 2023;11(1):93. DOI: 10.1186/s40478-023-01590-1.
7. Kulesh A.A., Emelin A.Yu., Bogolepova A.N., Doronina O.B., Zakharov V.V., Kolokolov O.V., Kotov S.V., Korsunskaya L.L., Kutlubaev M.A., Laskov V.B., Levin O.S., Parfenov V.A. Clinical manifestations and issues of diagnosis of chronic cerebrovascular disease (chronic cerebral ischemia) at an early (pre-dementia) stage. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2021;13(1):4–12. DOI: 10.14412/2074-2711-2021-1-4-12.
8. Rajeev V., Fann D.Y., Dinh Q.N., Kim H.A., De Silva T.M., Lai M.K.P., Chen C.L.-H., Drummond G.R., Sobey C.G., Arumugam T.V. Pathophysiology of blood brain barrier dysfunction during chronic cerebral hypoperfusion in vascular cognitive impairment. *Theranostics*. 2022;12(4):1639–1658. DOI: 10.7150/thno.68304.
9. Cross J.G., May B.R., Mai P.Q.M., Anderson E., Welsh C., Chandran S., Chorath K.T., Herr S., Gonzalez D. A systematic review and evaluation of post-stroke depression clinical practice guidelines. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2023;32(9):107292. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2023.107292.
10. Castello J.P., Pasi M., Kubiszewski P., Abramson J.R., Charidimou A., Kourkoulis C., DiPucchio Z., Schwab K., Anderson C.D., Gurol M.E., Greenberg S.M., Rosand J., Viswanathan A., Biffi A. Cerebral small vessel disease and depression among intracerebral hemorrhage survivors. *Stroke*. 2022;53(2):523–531. DOI: 10.1161/STROKEAHA.121.035488.
11. Ištoňová M., Dorko E., Knap V., Stehlíková B., Murgová A., Ondová P., Rimárová K. Assessment of depressive disorders and states of anxiety in patients following cerebrovascular accidents in connection with health care provision. *Central European Journal of Public Health*. 2024;32(Suppl):S18–S24. DOI: 10.21101/cejph.a7888.
12. Ghosh P.A., Chaudhury S., Rohatgi S. Assessment of Depression, Anxiety, Stress, Quality of Life, and Fatigue in Patients After a Cerebrovascular Accident. *Cureus*. 2024;16(10):e72051. DOI: 10.7759/cureus.72051.
13. McAleese N., Guzman A., O'Rourke S.J., Gillespie D.C. Post-stroke emotionalism: a qualitative investigation. *Disability and Rehabilitation*. 2021;43(2):192–200. DOI: 10.1080/09638288.2019.1620876.
14. Wu J., Yin W., Huang Z., Zhang Y., Jia J., Cheng H., Kang F., Huang K., Sun T., Tian J., Xu X., Zhang Y. Design, synthesis, and biological evaluation of organic nitrite (NO_2^-) donors as potential anticerebral ischemia agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2021;64(15):10919–10933. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c00282.
15. Archavlis E., Nieves M.C.Y. Cerebral vasospasm: a review of current developments in drug therapy and research. *Journal of Pharmaceutical Technology and Drug Research*. 2013;2(1):18. DOI: 10.7243/2050-120X-2-18.
16. Idocin A.F., Specklin S., Taran F. Sydnonimines: synthesis, properties and applications in chemical biology. *Chemical Communications*. 2025;61(31):5704–5718. DOI: 10.1039/d5cc00535c.
17. Popov N.S., Baranov M.S., Balabanyan V.Yu. Targeted study of the pharmacokinetics of the leading compounds from the group of sydnonymines as a basis for the creation of vasodilators with predominantly central action. *Translational medicine*. 2024;11(S2):112. (In Russ.)
18. Docherty J.R., Alsufyani H.A. Pharmacology of drugs used as stimulants. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2021;61:S53–S69. DOI: 10.1002/jcph.1918.
19. Popov N.S., Gavrilenko D.A., Pavlov R.D., Baranov M.S., Kaurova D.E., Myasnyanko I.N., Ivanov D.S., Balabanyan V.Yu. Study of the biotransformation of a new sydnonimine derivative with predominant cerebral vasodilatory activity. *Research Results in Pharmacology*. 2025;11(4):258–271. DOI: 10.18413/rrpharmacology.11.1042.
20. Popov N.S., Terekhov V.M., Baranov M.S., Balabanyan V.Yu., Kaurova D.E., Myasnyanko I.N., et al. *In vivo* assessment of the role of liver metabolism in sydnone imine biotransformation. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2025;(3):50–57. (In Russ.) DOI: 10.24075/vrgmu.2025.026.
21. Popov N.S., Gavrilenko D.A., Baranov M.S., Kaurova D.E., Myasnyanko I.N., Balabanyan V.Yu. Study of the pharmacokinetics of a new sydnonymine derivative in rabbits with various routes of administration. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2025;(4):69–76. (In Russ.) DOI: 10.37489/2587-7836-2025-4-69-76.



5–6 ОКТЯБРЯ
2026 ГОДА

ГЕЛЕНДЖИК, РОССИЯ
«ГЕЛЕНДЖИК АРЕНА»

биопром

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ФОРУМ

ПРОМЫШЛЕННОСТЬ И ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА



ФАРМАЦЕВТИКА



ПИЩЕВАЯ
ПРОМЫШЛЕННОСТЬ



КОСМЕТИКА



«ЗЕЛЕНАЯ» ХИМИЯ

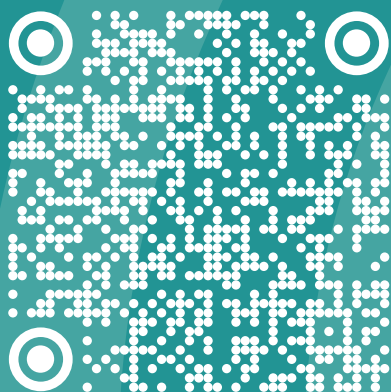


МЕДИЦИНСКИЕ
ИЗДЕЛИЯ



ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ
ПРАКТИКИ

ПРИНЯТЬ
УЧАСТИЕ



12+

РЕКЛАМА | ООО «ФОРМИКА ИВЕНТ»
ИНН 7709889632





Фармакологическое управление выживаемостью ГАМКергических нейронов в условиях острой ишемии: возможности нового производного гидроксипиридина

Р. М. Термулаева¹, Н. Д. Бунятян², Д. О. Шматок³, Д. Е. Тимошкин⁴, И. В. Федосейкин⁴,
А. А. Дмитриев⁵, Е. В. Блинова^{3, 4}, О. Н. Дерябина⁵, Е. В. Семелева⁵, Д. С. Блинов⁶✉

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чеченский государственный университет имени Ахмата Абдулхамидовича Кадырова» (ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А. А. Кадырова»; ФГБОУ ВО «ЧГУ им. А. А. Кадырова»). 364024, Россия, Чеченская Республика, г. Грозный, ул. А. Шерипова, д. 32

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8 стр. 2

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (НИЯУ МИФИ). 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119048, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева» (Национальный исследовательский Мордовский государственный университет; МГУ им. Н. П. Огарева; ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва»). 430005, Россия, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

⁶ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России). 117198, Россия, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1

✉ **Контактное лицо:** Блинов Дмитрий Сергеевич. **E-mail:** blinov-pharm@yandex.ru

ORCID: Р. М. Термулаева – <https://orcid.org/0000-0001-5300-5700>;

Н. Д. Бунятян – <https://orcid.org/0000-0001-9466-1261>;

Д. О. Шматок – <https://orcid.org/0000-0002-9874-3456>;

Д. Е. Тимошкин – <https://orcid.org/0000-0002-1211-1096>;

И. В. Федосейкин – <https://orcid.org/0000-0003-1895-5342>;

А. А. Дмитриев – <https://orcid.org/0000-0002-7635-9701>;

Е. В. Блинова – <https://orcid.org/0000-0003-0050-0251>;

О. Н. Дерябина – <https://orcid.org/0000-0002-8814-3369>;

Е. В. Семелева – <https://orcid.org/0000-0001-6692-4968>;

Д. С. Блинов – <https://orcid.org/0000-0002-8385-4356>.

Статья поступила: 13.03.2026

Статья принята в печать: 03.04.2026

Статья опубликована: 24.04.2026

Резюме

Введение. Повышение выживаемости нейронов перинекротической зоны головного мозга является одной из многообещающих стратегий в комплексном лечении ишемического инсульта.

Цель. Изучение некоторых молекулярных механизмов повышения выживаемости популяции ГАМКергических нейронов головного мозга под действием 3-ЕА в ишемиеподобных условиях.

Материалы и методы. Изучено нейроцитопротекторное действие соединения гидроксипиридина 3-ЕА в сравнении с нимодипином. Провели серии экспериментов на живой 7–9-дневной нейроглиальной культуре гиппокампа крыс, содержащей ГАМКергические нейроны, экспрессирующие кальцийсвязывающие белки кальбиндин и парвальбумин, в ишемиеподобных условиях. Выживаемость нейронов определяли в цитохимической реакции с пропидия иодидом, кальциевую сигнализацию изучили с помощью фиксации флуоресцентного сигнала клеток, загруженных зондом Fura-2.

© Термулаева Р. М., Бунятян Н. Д., Шматок Д. О., Тимошкин Д. Е., Федосейкин И. В., Дмитриев А. А., Блинова Е. В., Дерябина О. Н., Семелева Е. В., Блинов Д. С., 2026

© Termulaeva R. M., Bunyatyan N. D., Shmatok D. O., Timoshkin D. E., Fedoseikin I. V., Dmitriev A. A., Blinova E. V., Deryabina O. N., Semeleva E. V., Blinov D. S., 2026

Результаты и обсуждение. 3-ЕА в концентрации 1 мМ на 25 % ($p = 0,001$) повышает выживаемость популяции ГАМКергических нейронов головного мозга крысы, экспрессирующих кальцийсвязывающие белки, и не уступает по этому параметру препарату сравнения нимодипину. Присутствие в среде культивирования 3-ЕА приводит к подавлению в среднем в 2,5 раза внутриклеточной концентрации кальция в клетках к 40-й минуте формирования ишемиеподобной среды.

Заключение. Соединение 3-гидроксипиридина 3-ЕА проявляет свойства нейроцитопротектора и сохраняет популяцию ГАМКергических нейронов, содержащих кальбиндин и парвальбумин, за счет подавления глутаматергической эксайтотоксичности и поступления кальция в цитозоль клеток. Вещество может рассматриваться как потенциальный кандидат в лекарственное средство.

Ключевые слова: ГАМКергические нейроны, кальцийсвязывающие белки, флюоресценция, соединение гидроксипиридина, $[Ca^{2+}]_i$

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

Вклад авторов. Д. С. Блинов, Н. Д. Бунятян, Р. М. Термулаева – авторы идеи, дизайна исследования, проводили валидацию данных и редактирование рукописи. Д. Е. Тимошкин, Д. О. Шматок, Е. В. Семелева, И. В. Федосейкин, Е. В. Блинова – постановка экспериментов, оценка выживаемости клеток, анализ данных, написание рукописи. О. Н. Дерябина, А. А. Дмитриев – оценка флюоресценции, подготовка изображений, анализ данных, написание рукописи.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был рассмотрен и утвержден на заседании локального этического комитета НИЯУ МИФИ, протокол № 3 от 12.03.2025 г.

Для цитирования: Термулаева Р. М., Бунятян Н. Д., Шматок Д. О., Тимошкин Д. Е., Федосейкин И. В., Дмитриев А. А., Блинова Е. В., Дерябина О. Н., Семелева Е. В., Блинов Д. С. Фармакологическое управление выживаемостью ГАМКергических нейронов в условиях острой ишемии: возможности нового производного гидроксипиридина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):172–178. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2318>

Pharmacological management of GABAergic neurons survival in ischemic conditions: the role of a novel hydroxypyridine compound

Rita M. Termulaeva¹, Natalia D. Bunyatyan², Danil O. Shmatok³, Dmitry E. Timoshkin⁴, Ilya V. Fedoseikin⁴, Aleksandr A. Dmitriev⁵, Ekaterina V. Blinova^{3,4}, Olga N. Deryabina⁵, Elena V. Semeleva⁵, Dmitrii S. Blinov⁶✉

¹ Kadyrov Chechen State University. 32, A. Sheripova str., Grozny, Chechen Republic, 364024, Russia

² Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 8/2, Petrovsky boulevard, Moscow, 127051, Russia

³ National Research Nuclear University MEPhI. 31, Kashirskoe shosse, Moscow, 115409, Russia

⁴ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

⁵ National Research Mordovia State University named after N. P. Ogarev. 68, Bolshevistskaya str., Saransk, Republic of Mordovia, 430005, Russia

⁶ Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology. 1, Samory Mashela str., Moscow, 117198, Russia

✉ **Corresponding author:** Dmitrii S. Blinov. **E-mail:** blinov-pharm@yandex.ru

ORCID: Rita M. Termulaeva – <https://orcid.org/0000-0001-5300-5700>;

Natalia D. Bunyatyan – <https://orcid.org/0000-0001-9466-1261>;

Danil O. Shmatok – <https://orcid.org/0000-0002-9874-3456>;

Dmitry E. Timoshkin – <https://orcid.org/0000-0002-1211-1096>;

Ilya V. Fedoseikin – <https://orcid.org/0000-0003-1895-5342>;

Aleksandr A. Dmitriev – <https://orcid.org/0000-0002-7635-9701>;

Ekaterina V. Blinova – <https://orcid.org/0000-0003-0050-0251>;

Olga N. Deryabina – <https://orcid.org/0000-0002-8814-3369>;

Elena V. Semeleva – <https://orcid.org/0000-0001-6692-4968>;

Dmitrii S. Blinov – <https://orcid.org/0000-0002-8385-4356>.

Received: 13.03.2026

Accepted: 03.04.2026

Published: 24.04.2026

Abstract

Introduction. Increasing the survival of neurons in the perinecrotic zone of the brain is a promising strategy in the comprehensive treatment of ischemic stroke.

Aim. To study some molecular mechanisms of hydroxypyridine derivative 3-EA to increase survival of cerebral GABAergic neurons under ischemia-like conditions.

Materials and methods. The cell-protective property of the novel hydroxypyridine compound 3-EA was compared with that of nimodipine. A series of experiments were conducted on 7–9 DIV rat hippocampal neuroglial cell culture containing GABAergic neurons expressing the calcium-binding proteins calbindin and parvalbumin under ischemia-like conditions.

Neuron survival was determined using a cytochemical reaction with propidium iodide, and calcium signaling was studied by assessment of fluorescence signal emitted by cells loaded with Fura-2.

Results and discussion. 1 mM 3-EA increased the survival rate of rat brain GABAergic neurons expressing calcium-binding proteins by 25 % ($p = 0.001$), and was comparable to the reference drug nimodipine. The compound induced an average 2.5-fold suppression of intracellular calcium concentrations by 40 minutes after the ischemia-like environment onset.

Conclusion. The 3-hydroxypyridine compound 3-EA exhibited cell-protective properties and preserved the population of GABAergic neurons containing calbindin and parvalbumin by suppressing glutamatergic excitotoxicity and calcium influx into the cell cytosol. This compound may be considered a potential drug candidate.

Keywords: GABAergic neurons, calcium-binding proteins, fluorescence, hydroxypyridine compound, $[Ca^{2+}]_i$

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. Dmitrii S. Blinov, Natalia D. Bunyatyan, Rita M. Termulaeva – authors of the study idea and design, they validated the data and edited the manuscript. Dmitry E. Timoshkin, Danil O. Shmatok, Elena V. Semeleva, Ilya V. Fedoseikin, Ekaterina V. Blinova – conducting experiments, cell viability assessment, data analysis, manuscript writing. Olga N. Deryabina, Aleksandr A. Dmitriev – fluorescence assessment, image preparation, data analysis, manuscript writing.

Compliance with the principles of ethics. The study protocol was reviewed and approved at a meeting of the local ethics committee of NRNU MEPhI, protocol No. 3 dated March 12, 2025.

For citation: Termulaeva R. M., Bunyatyan N. D., Shmatok D. O., Timoshkin D. E., Fedoseikin I. V., Dmitriev A. A., Blinova E. V., Deryabina O. N., Semeleva E. V., Blinov D. S. Pharmacological management of GABAergic neurons survival in ischemic conditions: a role of novel hydroxypyridine compound. *Drug development & registration*. 2026;15(2):172–178. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2318>

ВВЕДЕНИЕ

Ишемический инсульт сохраняет высокую медико-социальную значимость во всем мире ввиду стабильно высоких инвалидизации и смертности [1, 2]. Параллельно с интервенционными методами лечения заболевания продолжается поиск фармакологических путей управления выживаемостью популяций нейронов и клеток глии, локализованных в перинекротической зоне и представляющих собой клеточный пул с высоким уровнем функциональной компенсации утрачиваемых в результате ишемической атаки функций [3, 4].

В исследованиях, проведенных в нашей стране и за рубежом, было показано, что высоким нейроцитопротекторным потенциалом обладают соединения гидроксипиридинов с остатками аминокислот [5]. Их влияние на выживаемость нервных клеток в условиях острой ишемии опосредуется снижением активности свободнорадикальных реакций и асептического воспаления. Одним из представителей группы является соединение гидроксипиридина с остатком аскорбиновой кислоты 3-EA, показавшее в эксперименте на животных с фокальной острой ишемией/реперфузией средней мозговой артерии высокую активность по ограничению объема повреждения головного мозга и сохранению жизнеспособности клеточной популяции нейронов [6]. В то же время молекулярные механизмы установленных эффектов до настоящего времени не изучены.

Целью настоящего исследования явилось изучение некоторых молекулярных механизмов повышения выживаемости популяции ГАМКергических нейронов головного мозга под действием 3-EA в условиях моделирования глюкозо-кислородного дефицита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследовано оригинальное отечественное соединение 3-EA, химическое наименование – L-гулонат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния-гаммалактон-2,3-дегидро, в виде мелкокристаллического порошка с чистотой более 98 %, белого цвета с кремовым оттенком, без запаха, синтезированное и любезно предоставленное для исследования учеными АО «ВНЦ БАВ» (Россия). Химическая структура вещества представлена на рисунке 1. Фармакологические эффекты соединения 3-EA сравнивали с селективным блокатором кальциевых каналов нимодипином. Препарат сравнения использовали в форме коммерческой субстанции с заявленной чистотой производителя выше 98,9 % (Merck KGaA, Швейцария).

Исследования выполняли в смешанной 7–9-дневной нейроглиальной живой культуре гиппокампа крыс линии Sprague-Dawley, полученных в SPF-питомнике – филиале ИБОХ РАН (г. Пущино). Приготовление культуры клеток проводили последовательными измельчением, трипсинизацией и трехминутным центрифугированием при 1000 об/мин, как было опи-

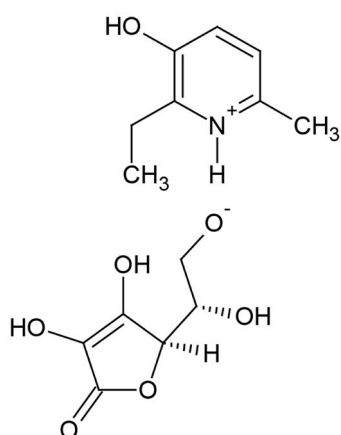


Рисунок 1. Структурная формула 2-этил-6-метил-3-гидрокси-пиридиния-гаммалактон-2,3-дегидро-L-гулоната (лабораторный шифр 3-EA)

Figure 1. Chemical structure of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridinium-gamma-lactone-2,3-dihydro-L-gulonate (laboratory name 3-EA)

сано ранее [7]. Стимуляцию клеток осуществляли добавлением в среду N-метил-D-аспартата (NMDA, Merck KGaA, Швейцария) в концентрации 10 мкМ/мл. Определение кальциевой флуоресценции клеток, нагруженных эфиром Fura-2 AM, осуществляли при температуре 28 °C на оригинальной установке, включающей инвертированный микроскоп модели Axiovert 200M (Carl Zeiss AG, Германия), при этом фиксацию изображений выполняли с временным интервалом 1 кадр в 3 с. Графический дизайн и изображения генерировали в среде Origin 8.5. Каждое измерение выполняли в трех повторениях. Исследуемое соединение и препарат сравнения добавляли в среду культивирования после исходной записи флуоресценции в концентрации 1 мМ.

Для идентификации ГАМК-трансмиссерных нейронов использовали иммуоцитохимическое окрашивание на ГАМК с помощью антител к транскламиназе GAD65/67 (Santa Cruz Biotechnology Inc., США). Определение внутриклеточной экспрессии кальцийсвязывающих белков – парвальбумина (PV) и кальбиндина (CB) – проводили сразу же после измерения кальциевой флуоресценции, использовали первичные антитела к кальбиндину Mouse Anti-Calbindin производства Abcam (Великобритания) и к парвальбумину Mouse Anti-Parvalbumin производства Merck (Швейцария).

Ишемиеподобные условия (OGD – oxygen-glucose deprivation) формировали путем замещения в среде культивирования глюкозы на сахарозу в эквивалентной концентрации, а кислорода на аргон на протяжении 40 мин. Число жизнеспособных и погибших клеток определяли окрашиванием культуры йодидом пропидия PI (Merck KGaA, Швейцария) в концентрации 1 мкг/мл.

Количественные результаты в группах представлены в виде средней и среднеквадратичного отклонения. Межгрупповое сравнение проводили при помощи метода ANOVA с последующим использованием параметрического критерия Даннета при уровне вероятности достоверности более 95 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование транзиторного глюкозо-кислородного дефицитного состояния в течение 40 мин приводит к гибели ГАМКергических нейронов, содержащих кальцийсвязывающие белки парвальбумин и кальбиндин (рисунок 2), при этом как исследуемое соединение 3-EA, так и препарат сравнения нимодипин, введенные в среду культивирования параллельно с формированием OGD в концентрации 1 мМ, сдерживали гибель клеточной популяции (рисунок 3).

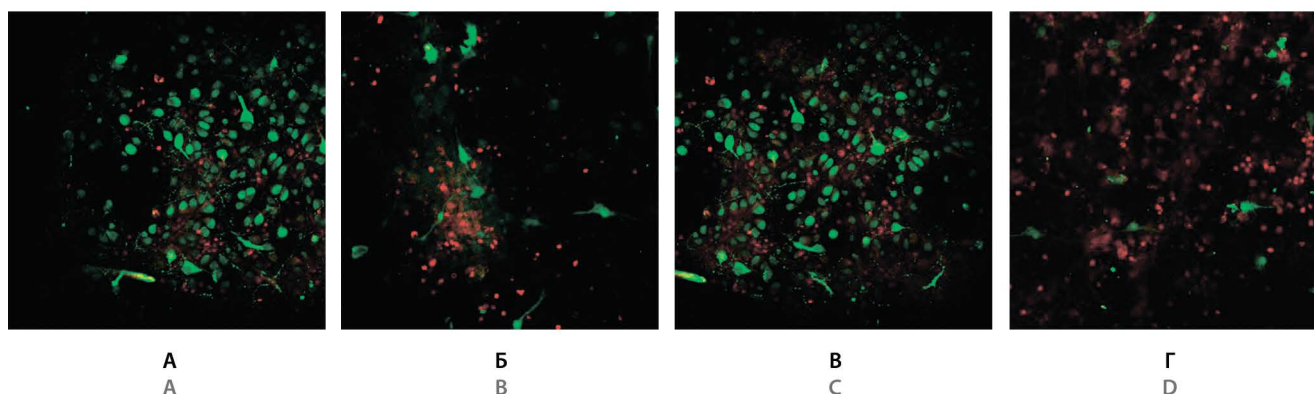


Рисунок 2. Культура ГАМК-трансмиссерных нейронов гиппокампа крысы: экспрессия парвальбумина (А, Б), кальбиндина (В, Г).

А, В – исходное состояние культуры клеток; Б, Г – спустя 40 мин после начала OGD

Figure 2. GABAergic rat hippocampal neurons: expression of parvalbumin (A, B) and calbindin (C, D).

А, С – initial state of the cell cultures; В, D – the cultures 40 min after OGD onset

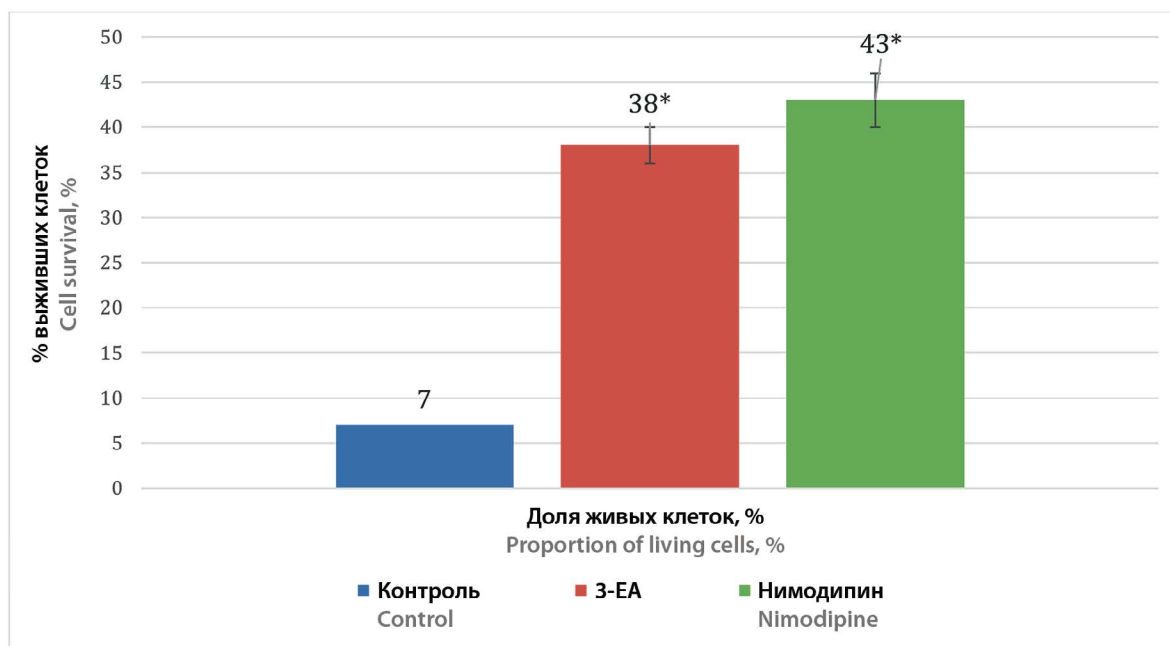


Рисунок 3. Доля выживших ГАМК-трансмиссивных нейронов через 40 мин после начала OGD под действием 1 мМ 3-ЕА и нимодипина: * $p < 0,05$ при сравнении с контролем (ANOVA, критерий Даннета)

Figure 3. Impact of 1 mM 3-EA or nimodipine on GABAergic neuron survival after 40 min of OGD: * $p < 0.05$ in comparison with control (ANOVA, Dunnett's post-hoc test)

Гибель ГАМКергических нейронов была обусловлена лавинообразным поступлением кальция в цитозоль клеток в ответ на их глутаматергическую стимуляцию (рисунок 4), причем, как хорошо видно на рисунке, этот эффект носил двухфазный характер: краткосрочная стимуляция клеток NMDA в начале формирования глюкозо-кислородного дефицита вызвала среднеамплитудный кальциевый ответ и быстро компенсировалась с возвращением внутриклеточной

точной концентрации ионов кальция к исходным значениям. Повторная стимуляция клеток спустя 15 мин после начала OGD приводила к лавинообразному поступлению кальция в цитозоль с формированием эффекта необратимой глутаматергической эксайтотоксичности.

Добавление в среду культивирования исследуемого соединения 3-ЕА сопровождалось снижением амплитуды кальциевой сигнализации целевой попу-

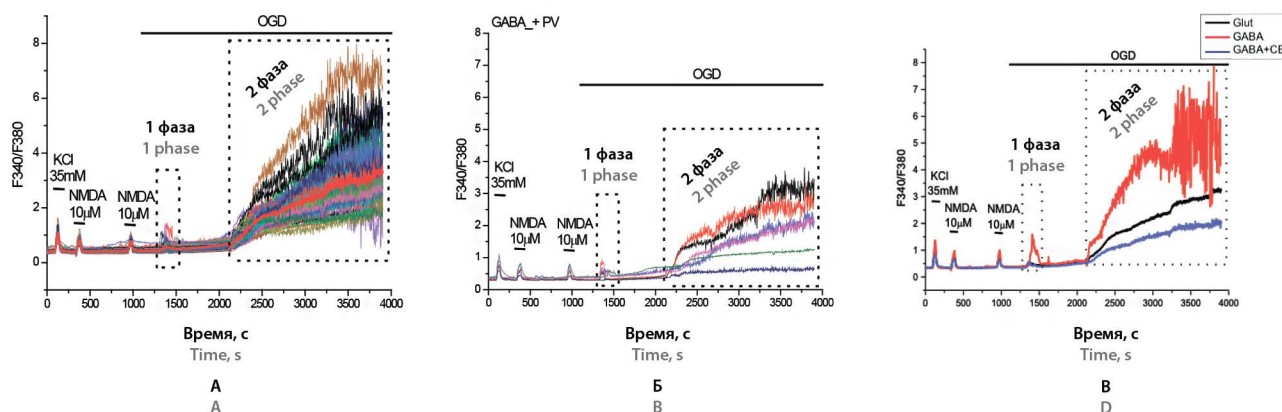


Рисунок 4. Кальциевый ответ всех клеток культуры (А), ГАМК-ергических нейронов, экспрессирующих парвальбумин (GABA + PV) (Б), экспрессирующих кальбиндин (GABA + CB) (В): запись осуществлена исходно, на фоне стимуляции NMDA в безмагниевой среде и через 40 мин после индукции OGD

Figure 4. Ca^{2+} -reply of all cells in culture (A), of GABAergic parvalbumin-expressing neurons (B), and of GABAergic calbindin-expressing neurons (C): initial state, after 10 μM NMDA in magnesium-free medium, and after 40 min of OGD

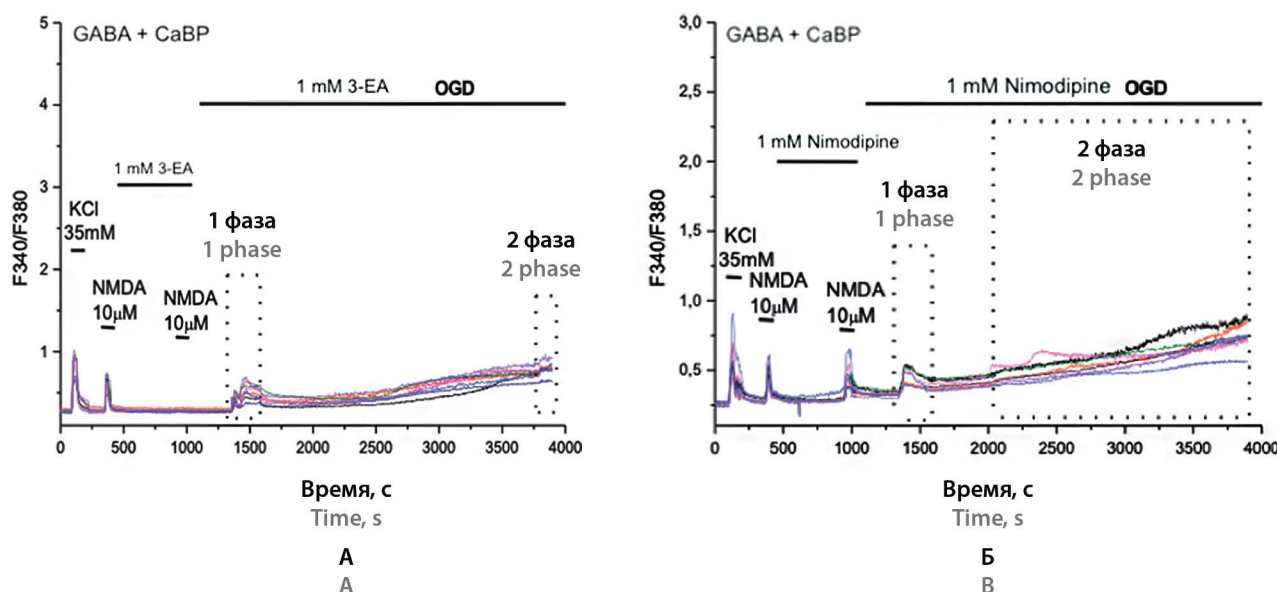


Рисунок 5. Кальциевый ответ клеток культуры ГАМК-ергических нейронов, экспрессирующих кальцийсвязывающие белки (GABA + CaBP) в присутствии 1 mM исследуемого соединения 3-ЕА (А) и препарата сравнения нимодипина (Б): запись осуществлена исходно, на фоне стимуляции NMDA в безмагниевой среде и через 40 мин после индукции OGD

Figure 5. Impact of 1 mM 3-EA or nimodipine on $[Ca^{2+}]_i$ in GABAergic neurons expressing calcium-binding proteins: initial state, after 10 µM NMDA in magnesium-free medium, and after 40 min of OGD

ляции нейронов, сопоставимым с препаратом сравнения нимодипином (рисунок 5). Видно, что внутриклеточная концентрация ионизированного кальция в цитозоле ГАМКергических нейронов, экспрессирующих кальцийсвязывающие белки, нарастает, однако уровень сигнала не более чем в 1,5–2 раза превышает по амплитуде пик первой фазы стимуляции. Продолжающаяся эскалация $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле обусловлена углублением ишемических явлений в культуре к концу эксперимента.

В результате моделирования глюкозо-кислородного дефицита в культуре ГАМКергических нейронов гиппокампа крысы, воспроизводящего механизм клеточного повреждения при ишемическом инсульте, мы показали, что в естественных условиях нейроны способны эффективно поддерживать кальциевый гомеостаз в ответ на глутаматергическую стимуляцию и теряют эту способность на фоне нутриентной депривации. Это соответствует литературным данным о роли кальцийсвязывающих белков в предотвращении чрезмерного нарастания концентрации цитозольного кальция в естественных условиях [8, 9].

Исследованное производное гидроксипиридина с остатком аскорбиновой кислоты 3-ЕА показало сопоставимые с препаратом сравнения результаты как по сохранению жизнеспособности клеточной популяции, так и по ингибированию кальциевой флуоресценции. Возможным объяснением полученных эффектов может быть описанная ранее способность гетероциклических соединений пиридиновой группы

повышать экспрессию генов кальцийсвязывающих белков на фоне повышения активности свободнорадикальных реакций, сопровождающих острую ишемию головного мозга [10, 11]. Косвенным подтверждением этой гипотезы может быть и то, что исследуемое нами вещество сдерживает гидроперекисные процессы в клетках ЦНС [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Соединение 3-гидроксипиридина 3-ЕА проявляет свойства нейроцитопротектора и сохраняет популяцию ГАМКергических нейронов, содержащих кальбиндин и парвальбумин, за счет подавления глутаматергической эксайтотоксичности и поступления кальция в цитозоль клеток. Вещество может рассматриваться как потенциальный кандидат в лекарственное средство.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Feigin V.L., Brainin M., Norrving B., Martins S.O., Pandian J., Lindsay P., Grupper M.F., Rautalin I. World Stroke Organization: Global Stroke Fact Sheet 2025. *International Journal of Stroke*. 2025;20(2):132–144. DOI: 10.1177/17474930241308142.
2. GBD 2019 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Neurology*. 2021;20(10):795–820. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.

3. Yang S.-H., Liu R. Four Decades of Ischemic Penumbra and Its Implication for Ischemic Stroke. *Translational Stroke Research*. 2021;12(6):937–945. DOI: 10.1007/s12975-021-00916-2.
4. Ju H., Kim I.-D., Pavlova I., Mu S., Park K.W., Minkler J., Madkoor A., Wang W., Wang X., Wu Z., Yang J., Febbraio M., Cave J.W., Cho S. Ischemic Conditioning Promotes Transneuronal Survival and Stroke Recovery via CD36-Mediated Efferocytosis. *Circulation Research*. 2025;136(5):e34–e51. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.124.325428.
5. Fassihi A., Hasanzadeh F., Attar A.M., Saghaie L., Mohammadpour M. Synthesis and evaluation of antioxidant activity of some novel hydroxypyridinone derivatives: a DFT approach for explanation of their radical scavenging activity. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2020;15(6):515–528. DOI: 10.4103/1735-5362.301336.
6. Blinova E., Turovsky E., Eliseikina E., Igrunkova A., Semeleva E., Golodnev G., Termulaeva R., Vasilkina O., Skachilova S., Mazov Y., Zhandarov K., Simakina E., Belanov K., Zalogin S., Blinov D. Novel Hydroxypyridine Compound Protects Brain Cells against Ischemic Damage In Vitro and In Vivo. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(21):12953. DOI: 10.3390/ijms232112953.
7. Varlamova E.G., Baryshev A.S., Gudkov S.V., Babenko V.A., Plotnikov E.Y., Turovsky E.A. Cerium Oxide Nanoparticles Protect Cortical Astrocytes from Oxygen-Glucose Deprivation through Activation of the Ca^{2+} Signaling System. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(18):14305. DOI: 10.3390/ijms241814305.
8. Kempuraj D., Dourvetakis K.D., Cohen J., Valladares D.S., Joshi R.S., Kothuru S.P., Anderson T., Chinnappan B., Cheema A.K., Klimas N.G., Theoharides T.C. Neurovascular unit, neuroinflammation and neurodegeneration markers in brain disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2024;18:1491952. DOI: 10.3389/fncel.2024.1491952.
9. Babenko V.A., Varlamova E.G., Saidova A.A., Turovsky E.A., Plotnikov E.Y. Lactate protects neurons and astrocytes against ischemic injury by modulating Ca^{2+} homeostasis and inflammatory response. *The FEBS Journal*. 2024;291(8):1684–1698. DOI: 10.1111/febs.17051.
10. Cisneros-Mejorado A., Colom-Casasnovas A., Pérez-Samartín A., Matute C. Purinergic signaling in Stroke and Multiple Sclerosis: Prospects for therapies. *Neuropharmacology*. 2026;284:110783. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2025.110783.
11. Yu G., Wu F., Wang E.-S. BQ-869, a novel NMDA receptor antagonist, protects against excitotoxicity and attenuates cerebral ischemic injury in stroke. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2015;8(2):1213–1225.
12. Termulaeva R.M., Belanov K.Y., Bunyatyan N.D., Pirozhkov A.S., Timoshkin D.E., Blinova E.V., Vasilkina O.V., Blinov K.D., Semeleva E.V., Dmitriev A.A., Blinov D.S. Ascorbic acid-containing compound efficacy in ischemic brain damage. *Research Results in Pharmacology*. 2024;10(3):25–32. DOI: 10.18413/rrpharmacology.10.508.



Разработка, валидация и апробация биоаналитической методики определения этмабена в плазме крови и органах крыс методом ВЭЖХ-УФ

А. Б. Зеленцова[✉], А. Ю. Гришина, Ю. Э. Генералова, Д. Ю. Ивкин, 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, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Зеленцова Анна Б. E-mail: anna.zelentsova@pharminnotech.com

ORCID: А. Б. Зеленцова – <https://orcid.org/0009-0006-2750-098X>;
А. Ю. Гришина – <https://orcid.org/0000-0003-2448-513X>;
Ю. Э. Генералова – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>;
Д. Ю. Ивкин – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>;
И. И. Тернинко – <https://orcid.org/0000-0002-2942-1015>.

Статья поступила: 27.01.2026

Статья принята в печать: 11.03.2026

Статья опубликована: 22.05.2026

Резюме

Введение. Ввиду сохраняющейся тенденции роста количества пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями и уровня летальности в данной нозологической группе актуальным направлением R&D-исследований является поиск и фармацевтическая разработка инновационных кардиотропных препаратов. Одним из таких препаратов является производное малоновой кислоты – этмабен, синтезированный в Санкт-Петербургском государственном химико-фармацевтическом университете (СПХФУ). Для проведения доклинических исследований необходимо наличие валидной биоаналитической методики, позволяющей с минимальными временными и ресурсными затратами количественно определять этмабен в сложных биологических матрицах.

Цель. Целью исследования является разработка и валидация методики определения этмабена в плазме крови и органах лабораторных крыс методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ) с последующей апробацией и получением пула данных о распределении этмабена в органах и тканях экспериментальных животных.

Материалы и методы. Разработку и валидацию биоаналитической методики, а также определение количественного содержания этмабена проводили на жидкостном хроматографе Flexar (PerkinElmer, США), снабженном УФ-детектором и термостатируемым автодозатором, с использованием колонки Kromasil 100, 150 × 2,1, C8, 3,5 мкм (AkzoNobel, Нидерланды). Детектирование проводили при длине волны 270 нм. Фармакологический эксперимент для целей апробации методики проводили на 20 беспородных крысах-самцах (НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ – ПЛЖ «Рапполово», Россия), разделенных на группу контроля (интактные животные, $n = 10$) и группу экспериментальной хронической сердечной недостаточности (ХСН) ($n = 10$), модель которой индуцировали перевязкой левой коронарной артерии. Все животные в течение 30 дней получали этмабен внутривенно в дозе 60 мг/кг. Для анализа на 30-е сутки у животных отбирали образцы цельной крови и изолировали органы (сердце, почки). В плазме крови и гомогенатах тканей проводили количественное определение этмабена методом ВЭЖХ-УФ после пробоподготовки, включающей осаждение белков ацетонитрилом (ос.ч., кат. № А/0626/17, Thermo Fisher Scientific, США).

Результаты и обсуждение. Разработаны оптимальные условия хроматографического определения этмабена в биологических матрицах (плазма крови и гомогенаты тканей) методом ВЭЖХ-УФ. Валидация разработанной методики проводилась по следующим валидационным параметрам: селективности, градуировочной кривой, правильности, прецизионности, нижнему пределу количественного определения (НПКО), эффекту переноса, отсутствию влияния разбавления образца, стабильности. Также оценивали степень извлечения этмабена из матрицы. НПКО этмабена составил 5,0 нг/мл. Разработанная методика была успешно применена для оценки распределения этмабена в органах и тканях лабораторных животных на отдельных этапах доклинического исследования. При ХСН концентрация этмабена в плазме крови возрастает в 2 раза, а в патологически измененном миокарде – на 47 % по сравнению с животными контрольной группы, при этом в тканях почки препарат не детектировался.

Заключение. Разработана и валидирована биоаналитическая методика определения этмабена методом ВЭЖХ-УФ, которая была апробирована на этапе доклинических испытаний препарата для изучения распределения в органах и тканях экспериментальных животных. Выявленное избирательное накопление этмабена в поврежденном миокарде подтверждает его терапевтическую релевантность для лечения ХСН.

Ключевые слова: биоаналитические исследования, производные малоновой кислоты, валидационные параметры, распределение в органах, доклинические испытания

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

Вклад авторов. А. Б. Зеленцова и Ю. Э. Генералова осуществляли выполнение эксперимента, обработку, интерпретацию данных и формулирование выводов, написание статьи. Моделирование патологии, введение этмабена, взятие проб крови и органов, пробоподготовка, написание статьи – А. Ю. Гришина. Д. Ю. Ивкин и И. И. Тернинко осуществляли планирование эксперимента, постановку задачи, анализ полученных данных, написание статьи, общее руководство проектом.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России». Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Зеленцова А. Б., Гришина А. Ю., Генералова Ю. Э., Ивкин Д. Ю., Тернинко И. И. Разработка, валидация и апробация биоаналитической методики определения этмабена в плазме крови и органах крыс методом ВЭЖХ-УФ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):179–189. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2276>

Development, validation and testing of the HPLC-UV bioanalytical method for quantification of etmaben in blood plasma and organs of rats

Anna B. Zelentsova✉, Anna Yu. Grishina, Yulia. E. Generalova, Dmitrii Yu. Ivkin, Inna I. Terninko

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Anna B. Zelentsova. **E-mail:** anna.zelentsova@pharminnotech.com

ORCID: Anna B. Zelentsova – <https://orcid.org/0009-0006-2750-098X>;

Anna Yu. Grishina – <https://orcid.org/0000-0003-2448-513X>;

Yulia E. Generalova – <https://orcid.org/0000-0002-2573-6036>;

Dmitrii Yu. Ivkin – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>;

Inna I. Terninko – <https://orcid.org/0000-0002-2942-1015>.

Received: 27.01.2026

Accepted: 11.03.2026

Published: 22.05.2026

Abstract

Introduction. Currently, the search and development of innovative cardiotropic drugs is an urgent task for pharmaceutical science. One such drug is a derivative of malonic acid, etmaben, which was synthesized at the St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). To conduct preclinical and clinical studies, it is necessary to develop and validate a bioanalytical method that allows for the quantitative determination of etmaben in complex biological matrices with minimal time and resource requirements.

Aim. The aim of the study is to develop and validate a method for the determination of etmaben in the blood plasma and organs of laboratory animals using high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV) followed by testing and obtaining a pool of data on the distribution of etmaben in the organs and tissues of experimental animals.

Materials and methods. The development and validation of the bioanalytical method, as well as the quantitative determination of etmaben, were performed on a Flexar liquid chromatograph (PerkinElmer, USA) equipped with a UV detector and a thermostatted autosampler, using a Kromasil 100, 150 × 2.1, C8, 3.5 μm column (AkzoNobel, Netherlands). Detection was performed at a wavelength of 270 nm. A pharmacological experiment to test the method was conducted on 20 outbred male rats (Kurchatov Institute – "Rappolovo", Russia), divided into a control group (intact animals, $n = 10$) and a group with experimental chronic heart failure (CHF) ($n = 10$), a model of which was induced by ligation of the left coronary artery. All animals received etmaben intragastrically at a dose of 60 mg/kg for 30 days. Whole blood samples were collected for analysis on day 30, and organs (heart and kidneys) were isolated. Etmaben was quantified in plasma and tissue homogenates using HPLC-UV after sample preparation, including protein precipitation with acetonitrile (HPLC Grade, cat. no. A/0627/17, Thermo Fisher Scientific, USA).

Results and discussion. Optimal conditions for the chromatographic determination of etmaben in biological matrices (blood plasma and tissue homogenates) using HPLC-UV were developed. The developed method was validated using the following validation parameters: selectivity, calibration curve, accuracy, precision, lower limit of quantification (LLOQ), carryover effect, no effect of sample dilution and stability. The degree of etmaben recovery from the matrix was also assessed. The LLOQ for etmaben was 5.0 ng/mL. The developed method was successfully applied to assess etmaben distribution in the organs and tissues of laboratory animals at specific stages of preclinical testing. In CHF, plasma concentrations of etmaben doubled, and in pathologically altered myocardium, they increased by 47 % compared to control animals.

Conclusion. A bioanalytical method for determining etmaben using HPLC-UV was developed and validated. It was tested during preclinical trials to study the drug's distribution in organs and tissues of experimental animals. The observed selective accumulation of etmaben in damaged myocardium confirms its therapeutic relevance for the treatment of CHF.

Keywords: bioanalytical studies, malonic acid derivatives, validation parameters, organ distribution, preclinical trials

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 B. Zelentsova and Yulia E. Generalova performed the experiment, processing, interpretation of data and formulation of conclusions, writing the article. Pathology modeling, administration of etmaben, collection of blood and organ samples, sample preparation, writing the article – A. Yu. Grishina. Dmitrii Yu. Ivkin and Inna I. Terninko carried out the planning of the experiment, formulation of the task, analysis of the obtained data, writing the article, general management of the project.

Funding. The results were obtained using the equipment of the Shared Use Center «Analytical Center» of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University» of the Ministry of Health of Russia.

For citation: Zelentsova A. B., Grishina A. Yu., Generalova Yu. E., Ivkin D. Yu., Terninko I. I. Development, validation and testing of the HPLC-UV bioanalytical method for quantification of etmaben in blood plasma and organs of rats. *Drug development & registration*. 2026;15(2):179–189. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2276>

ВВЕДЕНИЕ

Патологии сердечно-сосудистой системы занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости во всем мире и демонстрируют отчетливые тенденции к росту наряду с увеличением летальности, что определяет вектор поиска активных молекул с плеiotропным действием на миокард [1–3]. В ряду кардиотропных лекарственных средств отдельную нишу занимают препараты с антиишемическим и антиоксидантным эффектами, обладающие специфическим влиянием на метаболизм миокарда. В этой связи производные малоновой кислоты представляют целевой интерес в качестве структуральной основы для разработки препаратов, влияющих на миокард ввиду реализации способности к снижению интенсивности окислительных процессов за счет ингибирования функции митохондрий во всех звеньях дыхательной цепи. Это влияние на гликолиз и окислительное фосфорилирование лежит в основе механизма защиты сердечной мышцы от повреждения в ранние сроки острой ишемии миокарда [4].

Производное малоновой кислоты 4-((3-оксо-3-этоксипропаноил)амино)бензойная кислота (далее этмабен) – оригинальная активная фармацевтическая субстанция, разработанная в СПХФУ, является представителем нового класса соединений для терапии ишемической болезни сердца (ИБС) и хронической сердечной недостаточности (ХСН) [4, 5]. Внедрение препарата в клиническую практику требует детального изучения особенностей распределения в организме, в том числе в органах-мишенях, а также оценки влияния целевой патологии на его фармакокинетику.

Учитывая специфику исследуемых объектов (органы и биологические жидкости животных), при их анализе важно применять эффективные способы пробоподготовки и предварительного разделения компонентов пробы, нивелируя негативное влияние матрицы на ход анализа. Для биоаналитических исследований, подразумевающих обработку значительного количества проб (до нескольких сотен), следует отдавать предпочтение не только чувствительным, но и экспрессным методикам анализа, позволяющим получить большой пул данных за короткое время.

В настоящее время опубликовано несколько исследований по определению этмабена в биологических объектах с целью проведения фармакокинетических исследований [6–8].

Для определения данного вещества в плазме крови человека на этапе клинических испытаний был эффективно применен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) [9, 10]. Несмотря на то, что метод ВЭЖХ-МС/МС имеет большую специфичность, он более ресурсозатратный, так как требует наличия дорогостоящего оборудования и соответствующей квалификации специалистов. Метод ВЭЖХ-УФ более универсален и доступен к реализации в большинстве лабораторий. В структуре молекулы этмабена присутствует несколько хромофорных групп (рисунок 1), что позволяет применять УФ-детектирование с достаточным уровнем чувствительности. Ранее нами была оценена возможность использования метода ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ) для целей биоаналитических исследований [11]. Однако для

успешного применения аналитической методики необходимо проведение процедуры валидации с последовательной оценкой комплекса валидационных критериев, которые характеризуют ее достоверность и воспроизводимость [12–14].

Таким образом, **целью данного исследования** является разработка и валидация экспрессной и чувствительной биоаналитической методики количественного определения этмабена методом ВЭЖХ с фотометрическим детектированием в ультрафиолетовой области с ее последующей апробацией и получением пула данных о распределении этмабена в органах и тканях экспериментальных животных в рамках доклинических исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Объектом исследования является этмабен – производное *l*-аминобензойной кислоты (ПАБК) и малонового эфира (рисунок 1) в виде активной фармацевтической субстанции (АФС), синтезированное в СПХФУ [15].

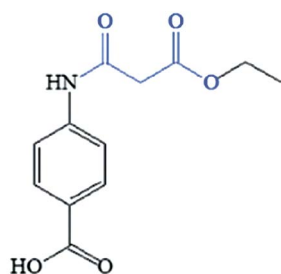


Рисунок 1. Структурная формула этмабена

Figure 1. Structural formula of etmafen

В качестве стандартного образца (СО) использовалась субстанция-порошок этмабена с количественным содержанием 99,6 %, аттестованная в качестве стандартного образца предприятия (СОП), серия 01/2023СОП, срок годности до 31.12.2025 [16].

Хроматографический анализ

Определение проводили на жидкостном хроматографе Flexar (PerkinElmer, США), снабженном УФ-детектором и термостатируемым автодозатором, с использованием колонки Kromasil 100, 150 × 2,1, C8, 3,5 мкм (AkzoNobel, Нидерланды), с предколонкой Kromasil 100, 4 × 2,1, 3,5 мкм (AkzoNobel, Нидерланды), колонку термостатировали при 40 °С. В качестве элюента использовали смесь 0,1%-го раствора муравьиной кислоты (х.ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия) в воде и ацетонитрила (ос.ч., кат. № A/0626/17, Thermo Fisher Scientific, США) в соотношении 70:30 (изократическое элюирование), скорость потока со-

ставляла 0,2 мл/мин. Объем вводимой пробы – 5 мкл, температура образцов – 4 °С, раствор для промывки иглы – смесь воды с ацетонитрилом 50/50. Детектирование проводили при длине волны 270 нм.

Изучение хроматографического поведения анализа проводили также с использованием хроматографической колонки C18 (Kromasil 100, 150 × 2,1, 3,5 мкм (AkzoNobel, Нидерланды), и смеси 0,03%-го (по массе) водного раствора трифторуксусной кислоты (ос.ч., кат. № 363317.1608, PanReac, Германия) и ацетонитрила (ос.ч., кат. № A/0626/17, Thermo Fisher Scientific, США) в соотношении 70:30 (изократическое элюирование).

Обработку первичных данных проводили при помощи программного обеспечения Chromera (PerkinElmer, США).

Валидация методики

Валидация биоаналитической методики была проведена в соответствии с регуляторными правилами исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза¹ по следующим параметрам: селективности, градуировочной кривой, правильности, прецизионности, нижнему пределу количественного определения (НПКО), эффекту переноса, отсутствию влияния разбавления образца, стабильности. Также оценивали степень извлечения этмабена из матрицы. Для статистической обработки использовались валидированные электронные таблицы, расчет результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel версии 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка аналитической методики

При разработке хроматографических условий опирались на данные литературы по физико-химическим характеристикам этмабена и ранее рекомендованным условиям [11, 17, 18], а именно: обращенно-фазовый сорбент, смесь раствора фосфорной кислоты и ацетонитрила в качестве подвижной фазы, условия детектирования. В качестве анализа использовали водный раствор этмабена ($P = 99,1\%$) с концентрацией 10 мкг/мл. Целью оптимизации рекомендованных условий было достижение максимальной чувствительности и сокращение времени хроматографирования. Так как чувствительность в хроматографических методах определяется соотношением сигнал/шум, то важно сформировать узкую хроматографическую зону, характеризующуюся мак-

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://www.alt.ru/tamdoc/16sr0085/> Ссылка активна на 19.10.2025.

симальной эффективностью. Для этого была использована узкая колонка (2,1 мм) с сорбентом с мелким зернением (3,5 мкм), выбор привитой фазы проведен между сорбентом C18 и C8 с аналогичной геометрией колонки в одинаковых условиях. На обеих колонках было проведено хроматографирование раствора этмабена с использованием 0,1%-го раствора муравьиной кислоты в воде и 0,03%-го водного раствора трифторуксусной кислоты в качестве подвижной фазы. Исследование влияния объема вводимой пробы на эффективность формирования пика проводилось путем варьирования объема ввода (5, 10, 20 мкл). Также было установлено, что большое влияние на формирование хроматографической зоны оказывает растворитель пробы. Были приготовлены и проанализированы растворы этмабена в заданной концентрации, где растворителем выступали вода, ацетонитрил и их смесь в соотношении 1:1. Результаты исследования влияния переменных хроматографических условий на эффективность хроматографической системы представлены в таблице 1.

На колонке с октисилильным сорбентом (C8) наблюдается большая эффективность, поэтому он был выбран для дальнейших исследований. При использовании в качестве водного компонента подвижной фазы растворов муравьиной и трифторуксусной кислот полученные результаты были идентичны друг другу по параметрам пика, следовательно, в испытаниях может быть использована любая из приведенных кислот. Фосфорная кислота не рекомендуется к использованию из-за возможности образования осадков в процессе анализа и загрязнения раствора подвижной фазы. Соотношение компонентов элюента (раствор кислоты и ацетонитрила) и скорость потока были выбраны таким образом, чтобы коэффициент емкости по пику этмабена имел значение около 2.

Несмотря на то, что больший объем пробы дает пик большей площади, наибольшая эффективность, а следовательно, чувствительность достигается при введении 5 мкл пробы. Такой эффект достигается в результате формирования более узкой хроматографической зоны и отсутствия «перегрузки» колонки по объему.

Очевидно, что увеличение доли ацетонитрила в растворителе пробы уменьшает эффективность пика, следовательно, в испытуемых образцах следует минимизировать его содержание. Согласно методике пробоподготовки доля ацетонитрила в образцах составляла около 60 %, поэтому для увеличения чувствительности и уменьшения размытия хроматографической зоны пробы следует разбавить в 2 раза водой. Более наглядно данный эффект наблюдается в диапазоне низких концентраций, где важно идентифицировать пик на фоне шума базовой линии.

Асимметрия пика этмабена в оптимизированных условиях сохраняется постоянной и находится в пределах 1,1–1,5.

Таким образом, были изучены и выбраны условия хроматографирования для этмабена, позволяющие проводить количественное определение с максимальной эффективностью и минимальными затратами времени. Методика была апробирована на интактной биологической матрице (плазма крови) и гомогенатах органов экспериментальных животных.

Результаты оценки валидационных характеристик

Селективность и НПКО

Селективность методики была оценена путем анализа 6 образцов интактной плазмы крови крыс (ИПКК), образцов интактной матрицы исследуемых органов (сердце, почка) и образцов ИПКК с введен-

Таблица 1. Влияние условий хроматографирования на эффективность хроматографической системы (n = 3)

Table 1. Effect of chromatographic conditions on the efficiency of a chromatographic system (average value for three determinations)

Параметр системы System parameter	Эффективность (число теоретических тарелок, N) Efficiency (number of theoretical plates, N)		
Тип сорбента Type of sorbent	C18	C8	
	1085	1347	
Состав водного (кислотного) компонента подвижной фазы The composition of the water (acid) component of the mobile phase	Муравьиная кислота Formic acid	Трифторуксусная кислота Trifluoroacetic acid	
	Параметры пика не изменяются The peak parameters do not change		
Объем пробы Sample volume	5 мкл 5 µl	10 мкл 10 µl	20 мкл 20 µl
	3540	1797	675
Состав растворителя пробы The composition of the sample solvent	Вода Water	Ацетонитрил Acetonitrile	Смесь воды и ацетонитрила 1:1 A mixture of water and acetonitrile 1:1
	7627	943	3135

ным точным количеством этмабена на уровне НПКО – 5 нг/мл. На хроматограммах интактной матрицы не наблюдалось пиков со временем удерживания, соответствующим этмабену (сигнал пика, соответствующего этмабену по времени удерживания, в растворах матрицы не превышал 20 % от средних значений сигнала пика этмабена в растворах НПКО). Отношение сигнал/шум на хроматограмме ИПКК, содержащей этмабен, было равно 14 ± 2 .

На рисунке 2 представлено наложение хроматограмм ИПКК и ИПКК с добавлением этмабена на уровне НПКО (до 5 нг/мл).

Градуировочная кривая

Зависимость функции отклика от концентрации определяемого вещества оценивалась в диапазоне концентраций 5–200 нг/мл в трехкратной повторности. Рабочий диапазон концентраций рассчитывался на основании содержания этмабена в биологических матрицах экспериментальных животных, определенного ранее [10]. Градуировочная кривая представлена функцией зависимости площади пика от концентрации аналита в виде $y = ax + b$. Градуировочные растворы готовили путем добавления этмабена к интактной матрице в концентрациях 5; 10; 50; 100, 150 и 200 нг/мл. Средние значения концентраций калибровочных образцов были в пределах $\pm 15\%$ от номинального значения для уровня концентраций выше НПКО и в пределах $\pm 20\%$ для уровня НПКО. Все три исследованные градуировочные зависимости были линейными в диапазоне исследуемых концентраций (рисунок 3). Значения коэффициентов уравнения линейной зависимости (a и b) и коэффициента корреляции (r) представлены в таблице 2.

Таблица 2. Значение переменных a и b и коэффициента корреляции

Table 2. The value of variables a and b and the correlation coefficient

Повторность Repetition	a	b	r
1	112,8	75,9	0,999
2	121,3	79,1	0,998
3	115,1	78,2	0,998

Правильность и прецизионность

Для оценки правильности и прецизионности внутри цикла готовили по пять образцов для контроля качества, представляющих ИПКК с введенным точным количеством этмабена, соответствующим уровням концентраций 5 (НПКО), 15, 50, 100 и 200 нг/мл. Правильность методики рассчитывали по среднему значению отношения найденных концентраций к номинальному значению содержания этмабена. Прецизионность методики рассчитывали по величине относительного стандартного отклонения рассчитанных концентраций этмабена в приготовленных образцах. Значения правильности и прецизионности приведены в таблице 3.

Правильность и прецизионность между аналитическими циклами оценивали по результатам, полученным для трех аналитических циклов, проведенных в 2 разных дня. Максимальное относительное стандартное отклонение составило 9,4 %, правильность представлена диапазоном значений 94–108 %, что соответствует критериям приемлемости.

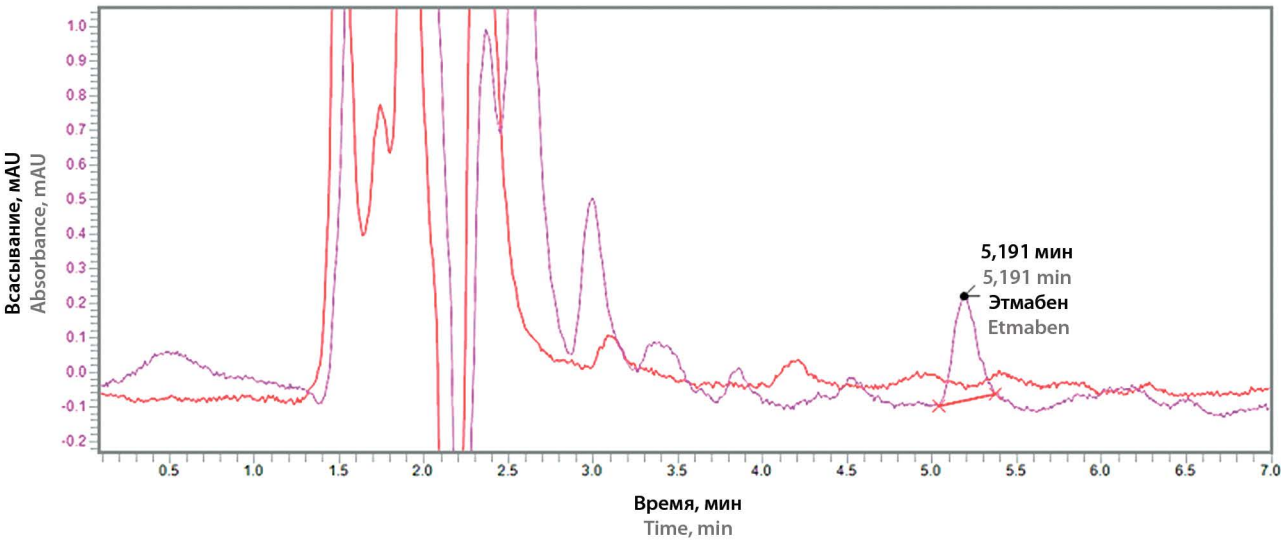


Рисунок 2. Наложение хроматограмм растворов интактной матрицы (красный) и НПКО (фиолетовый) (приблизенный вид хроматограммы)

Figure 2. Overlay of chromatograms of intact matrix (red) and low limit of quantification (violet) solutions (approximate view of the chromatogram)

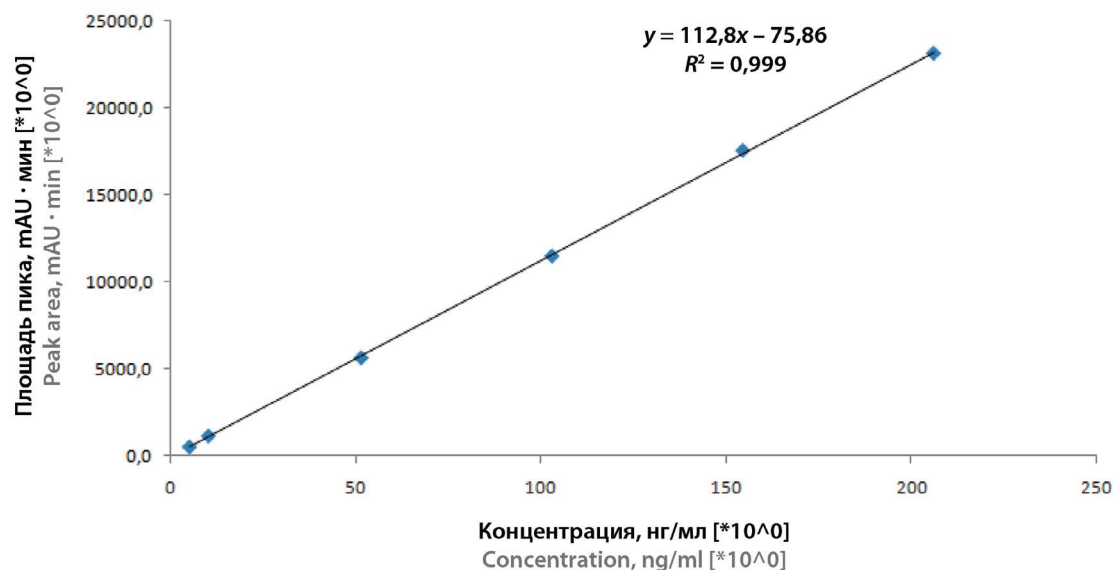


Рисунок 3. Градуировочная кривая

Figure 3. Calibration curve

Таблица 3. Результаты исследования правильности и прецизионности методики внутри цикла ($n = 5$)

Table 3. Results of the investigation of the accuracy and precision of the method within-run ($n = 5$)

Введено, нг/мл Injected, ng/ml	Найдено, нг/мл Found, ng/ml	Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %	Правильность, % Accuracy, %
5	5,3	11,9	6,0
15	14,6	4,8	-3,0
50	51,0	4,1	2,0
100	98,0	3,1	-2,0
200	204,0	1,5	2,0

Влияние разбавления образца

Отсутствие влияния разбавления оценивали путем анализа пробы ИПКК с введенным точным количеством этмабена, соответствующим уровню концентрации 20 000 нг/мл. Пробу разводили в 10 раз раствором интактной матрицы и оценивали правильность и прецизионность определения концентрации этмабена на примере пяти модельных образцов. Правильность определения составила 99–102 %, относительное стандартное отклонение ($n = 5$) составило 2,1 %.

Эффект переноса

Перенос пробы определяли по отношению площади пика на хроматограмме холостого образца, анализируемого непосредственно после анализа об-

разца для контроля качества с уровнем содержания этмабена, равным верхнему пределу количественного определения. Среднее значение площади пика этмабена на хроматограмме холостого образца не превышало 3,4 % от площади пика образца для контроля качества с содержанием этмабена 200 нг/мл, что соответствует критериям приемлемости (не более 20 %).

Стабильность

Стабильность этмабена в образцах плазмы крови и растворах стандартного образца оценивали в анализируемых растворах при уровне НПКО (5 нг/мл) и высоком (200 нг/мл) уровне концентрации методом «введено – найдено». Стабильность стандартного раствора этмабена оценивали через 8 ч после приготовления (свежеприготовленный). Стабильность в ходе замораживания – размораживания оценивали после трехкратного замораживания при температуре $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 12 ч и размораживания образцов для контроля качества. Кратковременную стабильность этмабена в испытуемых растворах оценивали в образцах для контроля качества после выдерживания в автодозаторе в течение 24 ч при температуре $20 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Исследования долговременной стабильности растворов проводили после хранения при температуре не выше $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 дней. Исследования, требующие хранения образца более 30 дней, не предусматриваются методикой. Образцы считались стабильными, если концентрация этмабена, измеренная после хранения, была в диапазоне от $\pm 15\%$ от номинальной концентрации. Результаты изучения стабильности представлены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты исследования стабильности

Table 4. Results of the investigation of stability

Условия хранения образцов Sample storage conditions	Отклонение от номинальной концентрации, % Deviation from the nominal concentration, %	
	5 нг/мл 5 ng/ml	200 нг/мл 200 ng/ml
Раствор стандартного образца через 8 ч от приготовления при хранении в условиях анализа Standard sample solution after 8 h from preparation when stored under analytical conditions	–1,0	0,0
Трехкратное замораживание – размораживание (–60 °С) в течение 12 ч Three freeze-thaw cycles (–60 °С) for 12 h	–4,0	–3,0
Выдерживание в автодозаторе в течение 24 ч при температуре 20 ± 5 °С Storage in autosampler for 24 h at 20 ± 5 °С	–2,0	–1,0
Хранение при температуре –60 °С в течение 30 дней Storage at –60 °С for 30 days	–6,0	–3,0

Степень извлечения

Степень извлечения этмабена определяли как отношение площади пика, полученного от добавленного и затем извлеченного из биологической матрицы количества вещества, к площади пика раствора сравнения, содержащего такое же количество вещества, добавленного к экстрагированному образцу матрицы.

Степень извлечения определяли при низком (5 нг/мл) и высоком (200 нг/мл) уровне концентрации этмабена. Среднее значение степени извлечения этмабена составило $92 \pm 12 \%$ (RSD = 9,8 %).

Апробация биоаналитической методики

Для оценки работоспособности разработанная и валидированная методика ВЭЖХ-УФ была применена для сравнительного изучения накопления и распределения этмабена в органах-мишенях и системном кровотоке у интактных животных и животных с экспериментальной патологией.

В исследовании были использованы аутбредные крысы массой (450 ± 20) г (НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ – ПЛЖ «Рапполово», Россия). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Все процедуры выполняли в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP) и биоэтическими нормами (протокол биоэтической комиссии Rats-РК-2023 от 26.10.2023). Животные были разделены на две группы:

1. **Группа контроля (n = 10):** животные с интактным, здоровым миокардом.
2. **Группа экспериментальной хронической сердечной недостаточности (ХСН, n = 10):** животные с моделью ХСН, индуцированной путем перевязки левой коронарной артерии.

Развитие и наличие ХСН подтверждали с помощью эхокардиографии.

Животные получали суспензию субстанции этмабена внутривенно в дозе 60 мг/кг в течение 30 дней. На 30-е сутки эксперимента осуществляли забор проб цельной крови из десны в пробирки с гепарином лития. Плазму крови получали путем центрифугирования в течение 15 мин при 5000 об/мин и немедленно замораживали при –40 °С до проведения анализа.

Для оценки распределения препарата в органах-мишенях животных выводили из эксперимента, проводили изолирование сердца и почки. Органы промывали физиологическим раствором, высушивали фильтровальной бумагой и взвешивали.

Пробоподготовка биологического материала

Пробоподготовку проводили в соответствии со следующей схемой: образец ткани взвешивали и гомогенизировали с добавлением тройного объема физиологического раствора (0,9%-й водный раствор натрия хлорида (х.ч., АО «ВЕКТОН», Россия) до получения гомогенной взвеси. Полученную суспензию центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин для осаждения клеточных компонентов. Супернатант в объеме 500 мкл переносили в пробирку, добавляли 2,5 мл ацетонитрила с последующей обработкой на вортексе «Таглер» ВМ-3 (ООО «НПП Таглер», Россия) и центрифугированием при 3000 об/мин в течение 15 мин, надосадочную жидкость декантировали в мерную колбу объемом 5 мл и доводили объем до метки 0,1 М раствором муравьиной кислоты.

На рисунке 4 представлены средние концентрации этмабена, определенные в плазме крови и гомогенатах тканей здоровых животных и животных с экспериментальной хронической сердечной недостаточностью (ХСН).

Наибольшие концентрации этмабена были зафиксированы в плазме крови. Статистический анализ выявил достоверное увеличение системной концентрации препарата у животных с ХСН по сравнению с группой здоровых животных. Средняя концентрация этмабена в плазме крови в группе с ХСН ($2853,6 \pm 1253,4$ нг/мл) была практически в 2 раза выше ($p = 0,039$), чем в группе здоровых животных ($1516,1 \pm 602,5$ нг/мл). Выявленное повышение концентрации в плазме может быть следствием изменения объема распределения или снижения клиренса препарата на фоне патологии.

Анализ тканей миокарда выявил выраженное и статистически значимое увеличение концентрации этмабена в группе животных с ХСН. Средняя концент-

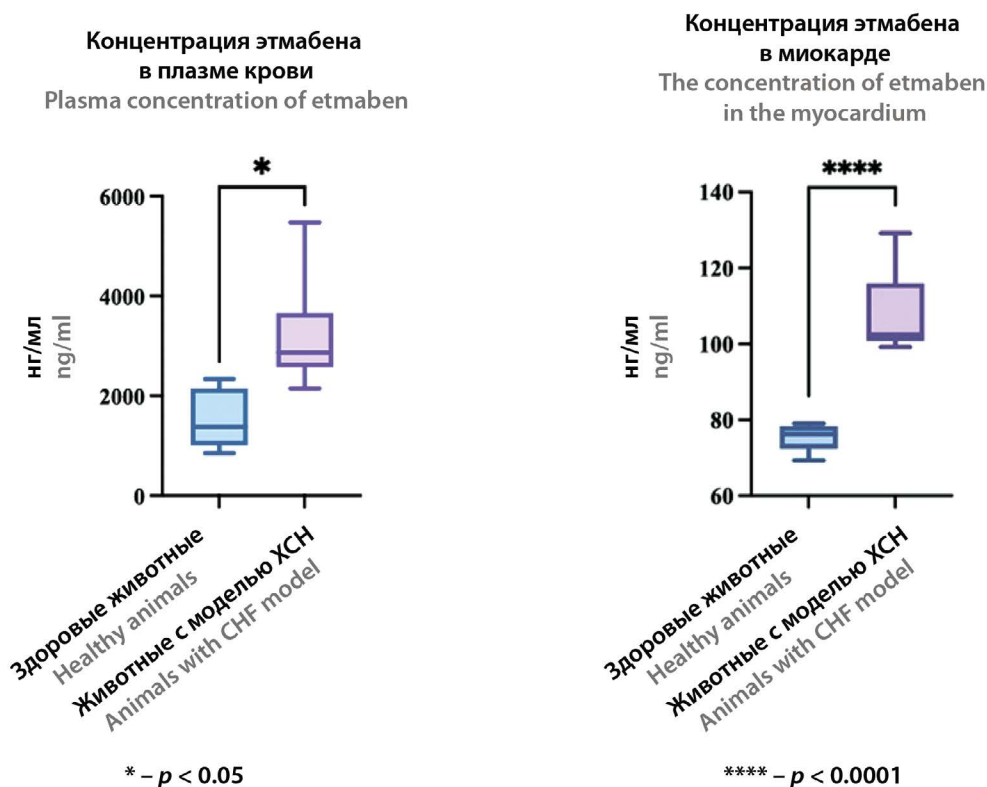


Рисунок 4. Содержание этмабена в плазме крови и миокарде

Figure 4. The concentration of etmaben in the blood plasma and myocardium

рация в миокарде животных с ХСН составила $109,6 \pm 10,2$ нг/мл, что на 47 % выше ($p < 0,001$), чем у здоровых животных ($74,6 \pm 3,8$) нг/мл. Данный результат демонстрирует, что патологическое состояние сердца приводит к значимо более интенсивному накоплению в нем исследуемого препарата.

Анализ содержания этмабена в почках показал, что во всех исследованных образцах его концентрация была ниже предела количественного определения. Отсутствие значимого накопления этмабена в почках в условиях ХСН указывает на контекстзависимый характер распределения препарата, который определяется типом патологического состояния.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при экспериментальной ХСН происходит значимое повышение концентрации этмабена в органе-мишени – миокарде. Выявленная способность препарата к избирательно более высокому накоплению в патологически измененном миокарде означает, что его кардиопротекторное действие может реализовываться в условиях, для коррекции которых он предназначен, – при ишемическом повреждении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биоаналитическая методика количественного определения этмабена в плазме крови и органах лабораторных животных методом ВЭЖХ-УФ впервые

разработана и валидирована по следующим параметрам: селективности, градуировочной кривой, правильности, прецизионности, нижнему пределу количественного определения, эффекту переноса, отсутствию влияния разбавления образца, стабильности биообразцов в условиях хранения и пробоподготовки. Также оценивали степень извлечения этмабена из матрицы. Пул валидационных данных показал работоспособность методики и ее способность обеспечивать достоверные результаты, что обуславливает возможность ее применения для целей биоаналитики. С целью апробации методика была успешно применена для оценки степени накопления и распределения этмабена в органах животных (в том числе с целевой патологией) и системном кровотоке в доклинических испытаниях. В результате апробации методики установлено избирательное накопление этмабена в патологически измененном миокарде на фоне экспериментальной ХСН, что подтверждает его целевой кардиопротекторный потенциал.

ЛИТЕРАТУРА

1. Концевая А. В., Муканеева Д. К., Игнатъева В. И., Анциферова А. А., Драпкина О. М. Экономика профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(9):5521. DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5521.

2. Семенов В. Ю., Самородская И. В. Динамика мужской и женской смертности от болезней системы кровообращения в Российской Федерации (2013–2022 гг.). *Российский кардиологический журнал*. 2025;30(5):6086. DOI: 10.15829/1560-4071-2025-6086.
3. Галявич А. С., Терещенко С. Н., Ускач Т. М., Агеев Ф. Т., Аронов Д. М., Арутюнов Г. П., Беграмбекова Ю. Л., Беленков Ю. Н., Бойцов С. А., Бубнова М. Г., Васюк Ю. А., Виллевалде С. В., Виноградова Н. Г., Гарганеева А. А., Гендлин Г. Е., Гиляревский С. Р., Глезер М. Г., Готье С. В., Гринштейн Ю. И., Довженко Т. В., Драпкина О. М., Дупляков Д. В., Жиров И. В., Затейщиков Д. А., Звартау Н. Э., Иртюга О. Б., Кобалава Ж. Д., Козиолова Н. А., Коротеев А. В., Либис Р. А., Лопатин Ю. М., Мареев В. Ю., Мареев Ю. В., Мацкеплишвили С. Т., Михайлов Е. Н., Насонова С. Н., Нарусов О. Ю., Недогода С. В., Недошивин А. О., Овчинников А. Г., Орлова Я. А., Перепеч Н. Б., Погосова Н. В., Римская Е. М., Самко А. Н., Саидова М. А., Сапельников О. В., Сафиуллина А. А., Ситникова М. Ю., Скворцов А. А., Скибицкий В. В., Стукалова О. В., Тарловская Е. И., Терещенко А. С., Чесникова А. И., Федотов П. А., Фомин И. В., Хасанов Н. Р., Шевченко А. О., Шапошник И. И., Шария М. А., Шляхто Е. В., Явелев И. С., Якушин С. С. Хроническая сердечная недостаточность. Клинические рекомендации 2024. *Российский кардиологический журнал*. 2024;29(11):6162. DOI: 10.15829/1560-4071-2024-6162.
4. Ивкин Д. Ю., Карпов А. А., Драчева А. В., Питухина Н. Н., Ивкина А. С., Бурякина А. В., Теслев. А. А. Влияние производного бензойной кислоты на формирование экспериментальной хронической сердечной недостаточности. *Фармация*. 2016;63(4):49–52.
5. 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.
6. Gundogdu G., Senol O., Demirkaya Miloglu F., Koza Y., Gundogdu F., Naciüftüoğlu A., Abd El-Aty A. M. Serum metabolite profiling of ST-segment elevation myocardial infarction using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*. 2020;34(2):e4738. DOI: 10.1002/bmc.4738.
7. Ambati C. S. R., Yuan F., Abu-Elheiga L. A., Zhang Y., Shetty V. Identification and Quantitation of Malonic Acid Biomarkers of In-Born Error Metabolism by Targeted Metabolomics. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2017;28(5):929–938. DOI: 10.1007/s13361-017-1631-1.
8. Гришина А. Ю., Карпов А. А. Изучение фармакокинетических параметров – 4-((3-оксо-3-этоксипропаноил)амино)бензойной кислоты (этмабена). От молекулы до лекарственного препарата. В сб.: I Всероссийская научная конференция. 27 октября 2023 года. Санкт-Петербург: Изд-во СПХФУ; 2023. С. 58–61.
9. Карнакова П. К., Комаров Т. Н., Арчакова О. А., Ивкин Д. Ю., Ветрова Е. С., Тернинко И. И., Шохин И. Е., Наркевич И. А. Разработка и валидация методики количественного определения этмабена в плазме крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2024;13(1):257–271. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-1-1752.
10. Карнакова П. К., Карнакова К. К., Комаров Т. Н., Багаева Н. С., Попова М. О., Ивкин Д. Ю., Арчакова О. А., Шохин И. Е., Наркевич И. А. Изучение фармакокинетики производного малоновой кислоты этмабена в рамках I фазы клинического исследования. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):259–271. DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1965.
11. Ивкин Д. Ю., Зеленцова А. Б., Краснова М. В., Карпов А. А., Пажельцев В. В., Напалкова С. М., Тернинко 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.
12. Shang H., Dai X., Li M., Kai Y., Liu Z., Wang M., Li Q., Gu Y., Liu C., Si D. Absolute bioavailability, dose proportionality, and tissue distribution of rotundic acid in rats based on validated LC-QqQ-MS/MS method. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2022;12(2):278–286. DOI: 10.1016/j.jpha.2021.03.008.
13. Putriana N. A., Rusdiana T., Puspitadewi N., Rahayu D., Saputri F. A. Validation of bioanalytical method for quantification of Vitamin K2 (MK-4) in human plasma by high-performance liquid chromatography-ultraviolet. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2023;14(4):345–350. DOI: 10.4103/JAPTR.JAPTR_139_23.
14. Choi H.-I., Jeong H.-C., Jeong J.-W., Lee J., Kim D. H., Ko K.-C., Chae Y.-J., Lee K.-R. Development and validation of an LC-MS/MS method for Tirzepatide, a dual GIP/GLP-1 receptor agonist, in rat plasma for application to a pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*. 2026;1268:124836. DOI: 10.1016/j.jchromb.2025.124836.
15. Юсковец В. Н., Яковлев И. П., Наркевич И. А. Способ получения 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино]бензойной кислоты. Патент РФ на изобретение № 2515245 С1 от 07.02.2013. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2515245C1/ru> Ссылка активна на 10.03.2026.
16. Адамова А. А. Количественное определение стандартного образца 4-((3-оксо-3-этоксипропаноил)амино)бензойной кислоты (этмабена) методом материального баланса. В сб.: XIII Всероссийская научная конференция школьников, студентов и аспирантов с международным участием. Молодая фармация – потенциал будущего. 01–11 марта 2023 года. Санкт-Петербург: Изд-во СПХФУ; 2023. С. 163–166.
17. 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.
18. Алексеева Г. М., Апраксин В. Ф., Генералова Ю. Э. Изучение кислотно-основных свойств, разработка и валидация методики количественного определения оригинальной фармацевтической субстанции. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019;8(1):66–71. DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-66-71.

REFERENCES

1. Kontsevaya A. V., Mukaneeva D. K., Ignatieva V. I., Antsiferova A. A., Drapkina O. M. Economics of cardiovascular prevention in the Russian Federation. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(9):5521. (In Russ.) DOI: 10.15829/1560-4071-2023-5521.
2. Semenov V. Yu., Samorodskaya I. V. Changes of male and female cardiovascular mortality in the Russian Federation over 2013–2022. *Russian Jour-*

- nal of Cardiology. 2025;30(5):6086. (In Russ.) DOI: 10.15829/1560-4071-2025-6086.
3. Galyavich A. S., Tereshchenko S. N., Uskach T. M., Ageev F. T., Aronov D. M., Arutyunov G. P., Begrambekova Yu. L., Belenkov Yu. N., Boytsov S. A., Bubnova M. G., Vasyuk Yu. A., Villevalde S. V., Vinogradova N. G., Garganeeva A. A., Gendlin G. E., Gilyarevsky S. R., Glezer M. G., Gautier S. V., Grinstein Yu. I., Dovzhenko T. V., Drapkina O. M., Duplyakov D. V., Zhirov I. V., Zateishchikov D. A., Zvartau N. E., Irtyuga O. B., Kobalava Zh. D., Koziolova N. A., Koroteev A. V., Libis R. A., Lopatin Yu. M., Mareev V. Yu., Mareev Yu. V., Matskeplishvili S. T., Mikhailov E. N., Nasonova S. N., Narusov O. Yu., Nedogoda S. V., Nedoshivin A. O., Ovchinnikov A. G., Orlova Ya. A., Perepech N. B., Pogosova N. V., Rinskaya E. M., Samko A. N., Saidova M. A., Sapelnikov O. V., Safiullina A. A., Sitnikova M. Yu., Skvortsov A. A., Skibitskiy V. V., Stukalova O. V., Tarlovskaya E. I., Tereshchenko A. S., Chesnikova A. I., Fedotov P. A., Fomin I. V., Khasanov N. R., Shevchenko A. O., Shaposhnik I. I., Shariya M. A., Shlyakhto E. V., Yavelov I. S., Yakushin S. S. 2024 Clinical practice guidelines for Chronic heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2024;29(11):6162. (In Russ.) DOI: 10.15829/1560-4071-2024-6162.
4. Ivkin D. Yu., Karpov A. A., Dracheva A. V., Pituhina N. N., Ivkina A. S., Buryakina A. V., Teslev A. A. Effect of a benzoic acid derivative on the development of experimental chronic heart failure. *Pharmacy*. 2016;63(4):49–52. (In Russ.)
5. 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.
6. Gundogdu G., Senol O., Demirkaya Miloglu F., Koza Y., Gundogdu F., Hacimüftüoğlu A., Abd El-Aty A. M. Serum metabolite profiling of ST-segment elevation myocardial infarction using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*. 2020;34(2):e4738. DOI: 10.1002/bmc.4738.
7. Ambati C. S. R., Yuan F., Abu-Elheiga L. A., Zhang Y., Shetty V. Identification and Quantitation of Malonic Acid Biomarkers of In-Born Error Metabolism by Targeted Metabolomics. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2017;28(5):929–938. DOI: 10.1007/s13361-017-1631-1.
8. Grishina A. Yu., Karpov A. A. Study of pharmacokinetic parameters of 4-((3-ethoxy-3-ethoxypropanoyl)amino)benzoic acid (ethmaben). In From molecule to drug: In: I All-Russian Scientific Conference. October 27, 2023. Saint Petersburg: SPCPU; 2023. P. 58–61. (In Russ.)
9. Karnakova P. K., Komarov T. N., Archakova O. A., Ivkin D. Yu., Vetrova E. S., Terninko I. I., Shohin I. E., Narkevich I. A. Development and Validation of an HPLC-MS/MS Method for the Quantitative Determination of Etmben in Human Blood Plasma. *Drug development & registration*. 2024;13(1):257–271. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-1-1752.
10. Karnakova P. K., Karnakova K. K., Komarov T. N., Bagayeva N. S., Popova M. O., Ivkin D. Yu., Archakova O. A., Shohin I. E., Narkevich I. A. Phase I pharmacokinetic study of etmben, a malonic acid derivative. *Drug development & registration*. 2024;13(4):259–271. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2024-13-4-1965.
11. 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.
12. Shang H., Dai X., Li M., Kai Y., Liu Z., Wang M., Li Q., Gu Y., Liu C., Si D. Absolute bioavailability, dose proportionality, and tissue distribution of rotundic acid in rats based on validated LC-QQ-MS/MS method. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2022;12(2):278–286. DOI: 10.1016/j.jpha.2021.03.008.
13. Putriana N. A., Rusdiana T., Puspitadewi N., Rahayu D., Saputri F. A. Validation of bioanalytical method for quantification of Vitamin K2 (MK-4) in human plasma by high-performance liquid chromatography-ultraviolet. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2023;14(4):345–350. DOI: 10.4103/JAPTR.JAPTR_139_23.
14. Choi H.-I., Jeong H.-C., Jeong J.-W., Lee J., Kim D. H., Ko K.-C., Chae Y.-J., Lee K.-R. Development and validation of an LC-MS/MS method for Tirzepatide, a dual GIP/GLP-1 receptor agonist, in rat plasma for application to a pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B*. 2026;1268:124836. DOI: 10.1016/j.jchromb.2025.124836.
15. Yuskovets V. N., Yakovlev I. P., Narkevich I. A. Method for producing 4-[(3-ethoxy-3-oxopropanoyl)amino]benzoic acid. Patent RUS № 2515245 C1. 07.02.2013. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2515245C1/ru> Accessed: 10.03.2026. (In Russ.)
16. Adamova A. A. Quantitative determination of a reference standard of 4-((3-ethoxy-3-ethoxypropanoyl)amino)benzoic acid (etmben) by the material balance method. In: XIII All-Russian Scientific Conference of students and postgraduates with international participation. Young pharmacy – the potential of the future. March 01–11, 2023. Saint Petersburg: SPCPU; 2023. P. 163–166. (In Russ.)
17. Generalova Yu. E., Terninko I. I., Zelentsova A. B. End-to-end standardization of original medicines when determining related impurities. *Drug development & registration*. 2023;12(4):209–216. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-4-1573.
18. Alekseeva G. M., Apraksin V. F., Generalova Yu. E. Exploring of acid-basic properties, development and validation of the method of quantitative determination of original pharmaceutical substance. *Drug development & registration*. 2019;8(1):66–71. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-66-71.



Физико-химическая и биологическая характеристика лекарственного препарата РинЛиз®

С. С. Арутюнян¹✉, Р. В. Драй¹, И. А. Луговик¹, А. В. Бабина¹, В. Б. Сапарова^{1,2},
Т. А. Сельменских¹, П. Г. Заикин¹, Т. Э. Елтышева¹, И. Е. Макаренко^{1,2}

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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России). 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

✉ Контактное лицо: Арутюнян Сона Смбатовна. E-mail: Sona.Arutiunian@geropharm.com

ORCID: С. С. Арутюнян – <https://orcid.org/0000-0002-9384-8064>;

Р. В. Драй – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>;

И. А. Луговик – <https://orcid.org/0000-0003-3840-5049>;

А. В. Бабина – <https://orcid.org/0000-0003-3024-4009>;

В. Б. Сапарова – <https://orcid.org/0000-0002-8445-1129>;

Т. А. Сельменских – <https://orcid.org/0000-0001-7073-311X>;

П. Г. Заикин – <https://orcid.org/0009-0008-8467-9781>;

Т. Э. Елтышева – <https://orcid.org/0000-0002-1931-9455>;

И. Е. Макаренко – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>.

Статья поступила: 27.05.2025

Статья принята в печать: 24.10.2025

Статья опубликована: 15.05.2026

Резюме

Введение. Доступ к инсулину ограничен глобальными барьерами, среди которых ключевым является монопольное ценообразование транснациональных компаний-оригинаторов. Утрата патентной защиты открывает путь для производства биоаналогов – более доступных препаратов, сопоставимых по качеству, эффективности и безопасности. Императивом разработки биоаналогов является проведение комплексных исследований сопоставимости с оригинальным препаратом, включающих физико-химическую и биологическую характеристику. Разработка программы исследований сопоставимости, а именно выбор атрибутов и ортогональных методов для изучения структуры и функциональной состоятельности молекулы инсулина, должна основываться на глубоком понимании структуры и свойств молекулы, а также на последних научных знаниях.

Цель. Провести физико-химическую и биологическую характеристику препарата РинЛиз® (GP40011) в сравнении с оригинальным препаратом Хумалог® (инсулин лизпро) для установления их сопоставимости в рамках оценки биоаналогичности.

Материалы и методы. Первичную структуру белка подтверждали с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией и пептидного картирования. Структуры белка более высокого порядка были исследованы следующими методами: капиллярным изоэлектрофокусированием, методом Элмана, круговым дихроизмом, флуоресцентной спектрофотометрией, динамическим рассеянием света. Сопоставимость профилей примесей исследуемых препаратов изучали с помощью методов эксклюзионной хроматографии и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для характеристики функциональных свойств и биологической активности препаратов оценивали кинетику связывания с инсулиновыми рецепторами IR-A и IR-B, аутофосфорилирование инсулинового рецептора и проводили метаболические клеточные тесты («Захват глюкозы», «Инсулининдуцированный липогенез», «Ингибирование стимулированного липолиза»).

Результаты и обсуждение. По результатам оценки физико-химических свойств для препарата GP40011 была установлена высокая степень сходства с референтным препаратом Хумалог® по первичной структуре белка, структурам более высокого порядка, а также по профилю примесей. Оценка функциональных характеристик показала, что препараты GP40011 и Хумалог® имели идентичную кинетику связывания с инсулиновыми рецепторами IR-A и IR-B и демонстрировали сопоставимую биологическую активность.

© Арутюнян С. С., Драй Р. В., Луговик И. А., Бабина А. В., Сапарова В. Б., Сельменских Т. А., Заикин П. Г., Елтышева Т. Э., Макаренко И. Е., 2026

© Arutyunyan S. S., Drai R. V., Lugovik I. A., Babina A. V., Saparova V. B., Selmenskikh T. A., Zaikin P. G., Eltyшева T. E., Makarenko I. E., 2026

Заключение. По результатам проведенного исследования была продемонстрирована полная аналитическая сопоставимость препаратов РинЛиз® и Хумалог®. Проведенное исследование внесло значимый вклад в научное обоснование эквивалентности биосимиляра РинЛиз® и референтного препарата Хумалог®, тем самым обеспечив надежную основу для успешной регистрации и последующего клинического применения.

Ключевые слова: инсулин лизпро, биосимиляр, биоаналог, биоподобие, аналитическая сопоставимость, характеристика, физико-химические свойства, биологическая активность

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

Вклад авторов. С. С. Арутюнян, И. А. Луговик – написание и редактирование текста рукописи, обзор литературы. А. В. Бабина – разработка программы исследования, анализ данных, интерпретация результатов. В. Б. Сапарова, Т. А. Сельменских, П. Г. Заикин, Т. Э. Елтышева – проведение исследований. И. Е. Макаренко – редактирование и критический пересмотр рукописи. Р. В. Драй – утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Финансирование. Спонсор данного исследования – ООО «ГЕРОФАРМ».

Для цитирования: Арутюнян С. С., Драй Р. В., Луговик И. А., Бабина А. В., Сапарова В. Б., Сельменских Т. А., Заикин П. Г., Елтышева Т. Э., Макаренко И. Е. Физико-химическая и биологическая характеристика лекарственного препарата РинЛиз®. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):190–205. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2103>

Physicochemical and biological characterization of the medicinal product RinLis®

Sona S. Arutyunyan¹✉, Roman V. Drai¹, Ilya A. Lugovik¹, Anna V. Babina¹, Valeriya B. Saparova^{1,2}, Tatyana A. Selmenskikh¹, Pavel G. Zaikin¹, Tatyana E. Eltyшева¹, Igor E. Makarenko^{1,2}

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

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Russian University of Medicine" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russia

✉ **Corresponding author:** Sona S. Arutyunyan. **E-mail:** Sona.Arutiunian@geropharm.com

ORCID: Sona S. Arutyunyan – <https://orcid.org/0000-0002-9384-8064>;
Roman V. Drai – <https://orcid.org/0000-0003-4594-6097>;
Ilya A. Lugovik – <https://orcid.org/0000-0003-3840-5049>;
Anna V. Babina – <https://orcid.org/0000-0003-3024-4009>;
Valeriya B. Saparova – <https://orcid.org/0000-0002-8445-1129>;
Tatyana A. Selmenskikh – <https://orcid.org/0000-0001-7073-311X>;
Pavel G. Zaikin – <https://orcid.org/0009-0008-8467-9781>;
Tatyana E. Eltyшева – <https://orcid.org/0000-0002-1931-9455>;
Igor E. Makarenko – <https://orcid.org/0000-0003-2308-0608>.

Received: 27.05.2025

Accepted: 24.10.2025

Published: 15.05.2026

Abstract

Introduction. Access to insulin is limited by global barriers, the most crucial of which is the pricing monopoly of multinational originator companies. The expiry of patent on the originator product opens the way for the production of biosimilars being affordable products with comparable quality, effectiveness and safety. The imperative for the development of biosimilars is to conduct comprehensive comparability studies with the originator product, including physicochemical and biological characterization. The development of a comparability study program, specifically the selection of attributes and orthogonal methods for analyzing the structure and the functional integrity of the insulin molecule, should be based on a deep understanding of the structure and properties of the molecule, as well as on the latest scientific knowledge.

Aim. To conduct physicochemical and biological characterization of the medicinal product RinLis® (GP40011) in comparison with the originator medicinal product Humalog® (insulin lispro) to establish their comparability within the framework of the biosimilarity assessment.

Materials and methods. The primary protein structure was confirmed using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and peptide mapping. Higher-order protein structures were investigated using capillary isoelectric focusing, Ellman's method, circular dichroism, fluorescence spectrophotometry and dynamic light scattering. The comparability of impurity profiles of the tested batches was studied using size-exclusion chromatography (SEC) and reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP HPLC). Insulin receptor (IR-A and IR-B) binding kinetics assay, insulin receptor phosphorylation assay and metabolic cell-based assays (glucose uptake, insulin-induced lipogenesis, inhibition of stimulated lipolysis) were performed to characterize the functional properties and biological activity of the insulin products.

Results and discussion. GP40011 was found to have high similarity to the reference product Humalog® in terms of the primary protein structure, higher-order structures and impurity profile based on the results of the evaluation of the physicochemical properties. Functional characterization studies showed that GP40011 and Humalog® had identical insulin receptor binding kinetics to IR-A, IR-B and comparable biological activity.

Conclusion. The study results demonstrated full analytical similarity of RinLis® to Humalog®. The study made a significant contribution to the scientific substantiation of the equivalence of the biosimilar RinLis® and the reference product Humalog®, thereby providing a reliable basis for successful approval and subsequent clinical use.

Keywords: insulin lispro, biosimilar, bioanalogue, biosimilarity, analytical comparability, characterization, physicochemical properties, biological activity

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

Contribution of the authors. Sona S. Arutyunyan, Ilya A. Lugovik – writing and editing of the manuscript, literature review. Anna V. Babina – development of the research program, data analysis, interpretation of results. Valeriya B. Saparova, Tatyana A. Selmenskiikh, Pavel G. Zaikin, Tatyana E. Eltyшева – conducting the experiments. Igor E. Makarenko – editing and critical revision of the manuscript. Roman V. Drai – approval of the final version of the manuscript for publication.

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

For citation: Arutyunyan S. S., Drai R. V., Lugovik I. A., Babina A. V., Saparova V. B., Selmenskiikh T. A., Zaikin P. G., Eltyшева T. E., Makarenko I. E. Physicochemical and biological characterization of the medicinal product RinLis®. *Drug development & registration*. 2026;15(2):190–205. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2103>

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет по настоящее время остается глобальной проблемой системы здравоохранения, приобретающей черты кризиса ввиду стремительного роста заболеваемости. Согласно данным Международной диабетической федерации, в 2021 году количество людей с диабетом в возрасте 20–79 лет в мире достигло 537 млн, при этом 81 % людей, страдающих диабетом, проживают в странах с низким и средним уровнем дохода (СНСД)¹. К 2045–2050 годам, по различным оценкам, ожидается, что диабет затронет 783 млн – 1,31 млрд человек [1]. Проведенное исследование по оценке охвата лечением диабета в 55 СНСД показало, что только 4,6 % людей с диабетом (то есть примерно 1 из 20), проживающих в СНСД, сообщили, что их потребности в рекомендуемом лечении были полностью удовлетворены. При этом в отношении потребности в гипогликемических лекарственных препаратах (включая препараты инсулина) было показано, что только 50,5 % людей с диабетом располагают доступом к данному лечению [2]. В глобальном масштабе можно сказать, что каждый второй человек, нуждающийся в инсулине, не имеет доступа к нему.

Доступ к инсулину затрудняют различные глобальные барьеры, но одним из наиболее существенных вопросов является ценообразование. На ми-

ровом рынке инсулина доминируют три транснациональные компании, которые создают монополию в отношении ценообразования на продукцию [3]. Высокая стоимость оригинальных препаратов инсулина ограничивает доступность лечения среди пациентов. Утрата патентной защиты компаний-оригинаторов на оригинальные препараты позволяет другим компаниям производить биоаналогичные препараты (биоаналоги, биосимиляры). Достоинством биоаналогов является не только их сниженная стоимость и сокращенные сроки разработки и одобрения по сравнению с оригинаторами [4], но и то, что биоаналоги создают конкурентную среду, стимулирующую производителей-оригинаторов снижать цены на свои оригинальные препараты [5].

Императивом фармацевтической разработки биосимиляров является проведение комплексных исследований сопоставимости с референтным препаратом. Этот процесс включает всестороннюю сравнительную характеристику молекулы по физико-химическим и биологическим свойствам, что позволяет доказать ее высокую степень подобия оригинальному препарату, а также выявить любые возможные различия с целью прогнозирования их потенциального влияния на безопасность и эффективность для человека.

Разработка программы исследований сопоставимости, а именно выбор атрибутов и ортогональных методов для изучения структуры и функциональной состоятельности молекулы инсулина, должна быть основана на глубоком понимании структуры и свойств

¹ International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. Available at: https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf. Accessed: 02.2025.

молекулы, а также на основании последних научных знаний.

В данной работе представлены результаты исследования сопоставимости лекарственного препарата РинЛиз® (МНН: инсулин лизпро) в сравнении с оригинальным препаратом Хумалог®. Инсулин лизпро – это аналог человеческого инсулина, в котором аминокислотные остатки лизин и пролин в положении 28 и 29 В-цепи соответственно представлены в обратном порядке. Благодаря данной модификации инсулин лизпро характеризуется слабой тенденцией к самоассоциации молекул, что обуславливает повышенную абсорбцию из места инъекции и более короткую продолжительность действия по сравнению с человеческим инсулином [6].

Физико-химическая характеристика препаратов включала изучение структуры инсулина на нескольких уровнях: исследования первичной структуры белка, а также вторичной, третичной и структур более высокого порядка. Функциональная характеристика включала оценку кинетики связывания с рецепторами инсулина (IR-A и IR-B), а также оценку биологической активности. Для препаратов инсулина биологическая активность является интегральным показателем, характеризующим результат взаимодействия инсулина, обладающего определенными фармацевтическими характеристиками, с инсулиновыми рецепторами. После активации рецептор инсулина запускает масштабный каскад биохимических реакций, заключающийся в фосфорилировании множества внутриклеточных белков. Результатом этих биохимических реакций в том числе является усиление транспорта глюкозы через клеточную мембрану и ее утилизации тканями, а также влияние на липидный обмен [7]. Исходя из этих биологических предпосылок, согласно решению Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 (решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»), биологическую активность требуется сравнить на двух уровнях: аутофосфорилирования рецептора и метаболической активности. При этом приводятся следующие методики изучения метаболической активности: «методы определения образования гликогена, липогенеза, ингибирования стимулированного липолиза, а также транспорта глюкозы» (решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»). Свидетельством научной значимости и общепризнанности использованных физико-химических методик (таблица 1) и биологических тестов на конкретных клеточных культурах (таблица 2) могут служить многочисленные публикации в научной литературе [8–15]. Дополнительным подтверждением информативности и релевантности методов, выбранных для оценки сопоставимости препаратов, является тот факт,

что аналогичные методологические подходы применялись в программах аналитической сопоставимости биоподобных продуктов инсулина, успешно зарегистрированных в Европейском союзе за последние 10 лет (таблицы 1 и 2)^{1, 2, 3, 4} [13, 16, 17].

Цель

Проведение физико-химической и биологической характеристики препарата РинЛиз® (GP40011) в сравнении с оригинальным препаратом Хумалог® для установления их сопоставимости в рамках оценки биоаналогичности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые объекты

Для сравнительного анализа были использованы в общей сложности 9 серий биоподобного препарата РинЛиз® (GP40011) (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и 7 серий оригинального препарата Хумалог® (Lilly France, Франция). Все объекты испытания были представлены в лекарственной форме «раствор для внутривенного и подкожного введения, 100 МЕ/мл». Разработка препарата GP40011 была проведена в R&D-центре ООО «ГЕРОФАРМ» (ЗАО «Фарм-Холдинг», Россия). Референтный препарат Хумалог® был приобретен у местных дистрибьюторов.

Определение молекулярной массы и анализ первичной структуры

Молекулярную массу нативного белка инсулина и его цепей определяли без проведения протеолиза с помощью MALDI-TOF/TOF-масс-спектрометра Ult-

¹ Insulin lispro Sanofi (INN: insulin lispro). European Public Assessment Report, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Procedure No: EMEA/H/C/004303/0000. EMA Document No: EMA/351195/2017. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/insulin-lispro-sanofi-epar-public-assessment-report_en.pdf. Accessed: 02.2025.

² Insulin aspart Sanofi (INN: insulin aspart). European Public Assessment Report, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Procedure No: EMEA/H/C/005033/0000. Document No: EMA/CHMP/269410/2020. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/insulin-aspart-sanofi-epar-public-assessment-report_en.pdf. Accessed: 02.2025.

³ Kixelle (INN: insulin aspart). European Public Assessment Report, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Procedure No: EMEA/H/C/004965/0000. Document No: EMA/64677/2021. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/kixelle-epar-public-assessment-report_en.pdf. Accessed: 02.2025.

⁴ Semglee (INN: insulin glargine). European Public Assessment Report, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Procedure No: EMEA/H/C/004280/0000. Document No: EMA/119474/2018. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/semglee-epar-public-assessment-report_en.pdf. Accessed: 02.2025.

Таблица 1. Пересечение физико-химических методов, использованных в исследованиях аналитической сопоставимости GP40011 и инсулиновых продуктов, зарегистрированных в Европейском союзе

Table 1. Intersection of physicochemical methods used in analytical comparability studies of GP40011 and insulin products approved in the European Union

Атрибут Attribute	Метод Method	Продукты Products					
		Инсулин лизпро Insulin lispro		Инсулин аспарт Insulin aspart			Инсулин гларгин Insulin glargine
		GP40011	Insulin lispro Sanofi®	Insulin aspart Sanofi®	Kirsty®	BGL-ASP [16]	Semglee® [17]
Первичная структура Primary structure							
Масса нативного белка Intact mass	МАЛДИ-МС / ВЭЖХ-МС MALDI-MS/ HPLC-MS	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Масса А-цепи Mass of A chain	МАЛДИ-МС / ВЭЖХ-МС MALDI-MS/ HPLC-MS	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Масса В-цепи Mass of B chain	МАЛДИ-МС / ВЭЖХ-МС MALDI-MS/ HPLC-MS	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Аминокислотная последовательность Amino acid sequence	МАЛДИ-МС / Пептид-ное картирование MALDI-MS / Peptide mapping	✓	–	–	✓	✓	✓
Вторичная структура и структуры более высокого порядка Secondary and higher order structure							
Дисульфидные мостики Disulfide linkages	Пептидное картирование Peptide mapping	✓	–	✓	✓	✓	✓
Свободные сульфгид-рильные группы Free sulfhydryl groups	Метод Элмана Ellman's method	✓	–	–	–	–	–
Изоэлектрическая точка Isoelectric point	Капиллярное изоэлект-рофокусирование Capillary isoelectric fo-cusing	✓	✓	–	✓	–	✓
Вторичная структура Secondary structure	Круговой дихроизм Circular dichroism	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Квантовый выход флуоресценции Fluorescence quantum yield	Спектрофотометрия Spectrophotometry	✓	✓	–	✓	✓	✓
Пик распределения частиц Peak of the particle size distribution	Динамическое рассея-ние света Dynamic light scattering	✓	–	✓	✓	–	–

rafleXtreme (Bruker, Германия). Для получения отдельных масс А-цепи и В-цепи и подтверждения их аминокислотных последовательностей по спектрам фрагментации проводили восстановление дисульфидных связей дитиотреитолом (Promega Corporation, США). Спектры получали в диапазоне масс 500–6500 m/z (отраженный режим). Точность измеренных моноизотопных масс после докалибровки составляла 20 ppm (0,002 %). Для обработки масс-спектров использовали программное обеспечение FlexAnalysis 3.3 (Bruker

Daltonik GmbH, Германия). При помощи программы BioTools 3.2 (Bruker Daltonik GmbH, Германия) проводили идентификацию в локальной базе данных.

Пептидное картирование

Пептидное картирование проводили для подтверждения аминокислотной последовательности и локализации положения дисульфидных связей. Для проведения пептидного картирования белок под-

Таблица 2. Пересечение биологических методов, использованных в исследованиях аналитической сопоставимости GP40011 и инсулиновых продуктов, зарегистрированных в Европейском союзе

Table 2. Intersection of biological methods used in analytical comparability studies of GP40011 and insulin products approved in the European Union

Биологический тест Biological activity study	Клеточная культура Cell line	Продукты Products					
		GP40011	Insulin lispro Eli Lilly [13]	Insulin aspart Sanofi®	Kirsty®	Semglee®	Abasaglar® [15]
Инсулинзависимый захват глюкозы Insulin dependent glucose uptake	L6	✓	✓	✓	–	–	–
Аутофосфорилирование инсулинового рецептора Autophosphorylation of insulin receptor	L6	✓	✓	–	–	–	–
Инсулинииндуцированный липогенез Insulin induced lipogenesis	3T3-L1	✓	–	–	✓	✓	✓
Ингибирование стимулированного липолиза Inhibition of stimulated lipolysis	3T3-L1	✓	–	–	✓	✓	–

вергали ферментативному гидролизу эндопротеиназой Glu-C (протеаза V8) (Sigma-Aldrich, США) в условиях, исключающих дисульфидный обмен (кислая среда), затем проводили анализ в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) с ионизацией электрораспылением. Для восстановления дисульфидных связей использовали дитиотреитол (Promega, США). Анализ ВЭЖХ-МС выполняли с помощью масс-спектрометра с ионной ловушкой Varian 500-MS IT, совмещенного с хроматографом Waters ACQUITY UPLC. Хроматографическое разделение проводили в градиентной системе вода – ацетонитрил с добавлением муравьиной кислоты (А: 0,041%-я муравьиная кислота в воде; В: 0,050%-я муравьиная кислота в ацетонитриле) на колонке Waters ACQUITY BEH300 C18, 2,1 × 50 мм, размер частиц 1,7 мкм, со скоростью потока 0,3 мл/мин. Масс-спектры получали в диапазоне масс 200–2000 m/z.

Определение свободных сульфгидрильных групп

Определение количества свободных сульфгидрильных (тиоловых) групп для установления наличия неполных дисульфидных связей было проведено методом Элмана. К исследуемым образцам добавляли 0,2 мМ раствор реактива Элмана (5,5'-дитиобис-2-нитробензойная кислота) (Sigma-Aldrich, США), перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин. После инкубации измеряли оптическую плотность образцов с помощью анализатора Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific Oy, Финляндия) при длине волны 405 нм.

Капиллярное изоэлектрофокусирование

Изоэлектрическую точку (pI) определяли методом капиллярного изоэлектрофокусирования с использованием системы капиллярного электрофореза Beckman Coulter PA 800 Plus, геля eCAP cIEF Gel, нейтрального капилляра, пептидных маркеров pI производителя Beckman Coulter, Inc., США. Спектрофотометрическое детектирование проводили при длине волны 280 нм.

Анализ вторичной структуры методом кругового дихроизма

Вторичную структуру белка определяли по спектрам кругового дихроизма (КД) с помощью спектрометра Chirascan CD (Applied Photophysics Ltd., Великобритания). Перед проведением анализа препараты инсулина были обессолены. Измерение спектров КД проводили в кварцевой кювете (0,1 мм) в диапазоне длин волн 178–260 нм с шагом 0,5 нм и спектральной шириной щели 1 нм. Запись спектров КД проводили в трех повторах, обработку полученных данных выполняли с использованием программ Origin 8.1 и MS Excel 2016 с вычислением молярного коэффициента кругового дихроизма. Для количественной оценки элементов вторичной структуры в белке полученные графики молярного коэффициента кругового дихроизма были обработаны на информационном портале Dichroweb¹.

¹ Dichroweb. Available at: <http://dichroweb.cryst.bbk.ac.uk/html/home.shtml> Accessed: 27.05.2025.

Анализ третичной структуры методом флуоресцентной спектrophотометрии

Для анализа третичной структуры определяли квантовый выход флуоресценции с использованием спектрофлуориметра FluoroMax Plus (HORIBA Scientific, Франция – Япония) и спектрофотометра Carry 300 Bio (Varian Australia Pty Ltd., Австралия) при ширине спектра 250–300 нм. В качестве стандартного раствора использовали раствор тирозина.

Анализ четвертичной структуры методом динамического рассеяния света (DLS)

Для определения полидисперсности и гидродинамических параметров образцов использовали метод динамического рассеяния света. Измерения проводили с помощью лазерного анализатора размера частиц Zetasizer Nano (Malvern Panalytical Ltd., Великобритания). Интенсивность рассеянного света регистрировали под углом 173° при температуре 25 °С. Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения Malvern Software 7.11 (Malvern Panalytical Ltd., Великобритания).

Определение примесей

Определение высокомолекулярных белков (ВМБ), то есть примесей с молекулярной массой, превышающей молекулярную массу инсулина, проводили методом эксклюзионной жидкостной хроматографии. Разделение проводили с помощью колонки Insulin HMWP (Waters Corporation, США) (30 × 7,8 мм, размер частиц 10 мкм, диаметр пор 125 Å) при температуре 40 °С со скоростью потока 0,5 мл/мин в течение 35 мин. Для идентификации А21-дезамидоинсулина лизпро и других родственных примесей был выбран метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ). Разделение проводили на колонке SunFire C18 (Waters Corporation, США) (150 × 4,6 мм, размер частиц 3,5 мкм) при температуре 40 °С со скоростью потока 0,9 мл/мин в течение 60 мин. УФ-детектирование проводили на жидкостном хроматографе LC-30 Nexera (Shimadzu Corporation, Япония), спектры регистрировали при длине волны 276 нм (ВМБ) и 214 нм (А21-дезамидоинсулин лизпро и другие примеси).

Биологическая активность in vitro

Оценку кинетики связывания с рецепторами IR-A и IR-B выполняли с помощью метода безмаркерной интерферометрии в биослое с использованием 96-луночного планшетного интерферометра Octet RED96 (Pall ForteBio, США). Для проведения анализа использовали биосенсоры HIS1K (Anti-Penta-HIS) (Sartorius), гидратированные в течение 10 мин в фосфатно-солевом буфере с 0,05%-м твин-20 (PBST). Растворы инсулиновых рецепторов IR-A и IR-B готовили в кон-

центрации 25 мкг/мл. Для оценки связывания инсулина лизпро с IR-A использовали концентрации инсулина 2,5, 5, 10, 20, 40 нМ. Для оценки связывания инсулина лизпро с IR-B использовали концентрации инсулина 2,5, 5, 10, 30, 70 нМ. Ассоциация инсулинового рецептора с образцами препаратов происходила в течение 50 с, за ней следовала диссоциация в течение 90 с. Анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Octet System Data Acquisition с использованием модели взаимодействия 1:1. Аффинность связывания определялась по константе скорости ассоциации (k_a), константе скорости диссоциации (k_d) и равновесной константе диссоциации (K_D), выраженной как отношение k_d/k_a .

Исследование аутофосфорилирования инсулинового рецептора проводили на клеточной культуре дифференцированных в миотубулы миоцитов крысы L6J1 (Институт цитологии РАН). Уровень активации (аутофосфорилирования) инсулинового рецептора оценивали в лизатах дифференцированных клеток L6J1, стимулированных различными концентрациями препаратов (10, 25, 50, 100, 300 нМ). После лизирования адгезионных культур полученные лизаты центрифугировали при +4 °С 20 мин при 13 500g. Концентрацию белка в супернатанте определяли с помощью набора DC Protein Assay Kit II (Bio-Rad, США). Разделение белков по массе проводили в полиакриламидном геле по Лэмли, переносили на ПВДФ-мембрану и инкубировали с первичными и вторичными антителами. Для контроля равномерности загрузки дорожек геля и переноса на мембрану использовали уровень белка актина в каждом лизате. Для визуализации использовали хемотропический набор Pierce™ ECL Western Blotting Substrate (Thermo Fisher Scientific, США). Количественную оценку интенсивности сигнала проводили с помощью программного обеспечения ImageJ 1.47v.

Метаболический тест «Инсулининдуцированный захват глюкозы» проводили на клеточной линии дифференцированных миоцитов крысы L6J1 (Институт цитологии РАН). Оценку индуцированного инсулином поглощения глюкозы осуществляли при добавлении исследуемых образцов в концентрациях 2, 10, 25, 50, 100, 400, 800, 1600 нМ. Подробно методика теста была описана ранее [18].

Метаболический тест «Инсулининдуцированный липогенез» проводили на клеточной линии фибробластов мыши 3T3-L1 (ATCC), дифференцированных в адипоциты. Клетки 3T3-L1 рассевали в 96-луночные планшеты с концентрацией 2,5 тысячи/лунку в преадипоцитной питательной среде DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л и 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS) и инкубировали в течение 48 ч. На 3-й день начинали дифференцировку: преадипоцитную культуральную среду заменяли на среду для дифференцировки, состоящую из среды DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л, 10 % FBS,

1,0 мкМ дексаметазона, 0,05 мМ 3-изобутил-1-метилксантина (IBMX), 1,0 мкг/мл инсулина. Стимуляцию липогенеза проводили на 5-й день с использованием растворов исследуемых препаратов инсулина в питательной среде DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л и 10 % FBS. Разведения исследуемых образцов готовили в соответствующей среде и вносили в лунки планшета в виде 10-кратных стоков. Концентрации образцов в лунках составили: 0,1, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 нМ. Стимуляцию проводили 3 раза каждые 48–72 ч. Затем клетки фиксировали в 10 % растворе формальдегида при комнатной температуре в течение 1 ч. Для количественного определения уровня липогенеза внутриклеточные липиды окрашивали флуоресцентным красителем Nile Red (феноксазон). Клетки промывали раствором PBS, затем вносили раствор флуоресцентного красителя Nile Red в концентрации 1 мкг/мл, инкубировали 1 ч при комнатной температуре на планшетном шейкере при 300 rpm. Интенсивность флуоресценции измеряли на мультимодальном микропланшетном ридере CLARIOstar (BMG LABTECH GmbH, Германия) при длине волны 550 нм, излучении 640 нм, усилении сигнала 2000.

Метаболический тест «Ингибирование стимулированного липолиза» проводили на клеточной линии фибробластов мыши 3T3-L1 (ATCC), дифференцированных в адипоциты. Спустя 48 ч после посева в 96-луночные планшеты клетки 3T3-L1 переводили на дифференцировочную среду DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л, 10 % FBS, 1,0 мкМ дексаметазона, 0,05 мМ IBMX, 1,0 мкг/мл инсулина (среда DM). Через 48 ч среду DM заменяли на среду для накопления липидов DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л в присутствии 10 % FBS + 1 мкг/мл инсулина (среда AMM) и каждые 48–72 ч ее обновляли (всего 3 раза). После последней смены среды AMM на следующий день клетки подвергали старвации в бессывороточной среде DMEM с содержанием глюкозы 4,5 г/л. Спустя 20–24 ч добавляли исследуемые препараты в лунки с концентрациями 0,01, 0,1, 0,5, 2, 10, 30 и 100 нМ, инкубировали 1 ч, затем добавляли индуктор липолиза в концентрации 20 нМ (изопротеренол) и инкубировали 3 ч. Детекцию свободных жирных кислот (FFA), которые высвобождаются в процессе гидролиза триглицеридов, осуществляли с помощью набора ZenBio (Lipolysis Assay KIT LIP-1-RB). Концентрацию FFA определяли по оптической плотности, измеренной при 540 нм, на мультимодальном микропланшетном ридере CLARIOstar (BMG LABTECH GmbH, Германия).

Статистическая обработка данных

Для оценки сопоставимости исследуемого препарата были использованы интервальные границы $\pm 3SD$ от среднего значения референтного препарата. В тех случаях, где оценка диапазона, основанная на среднем $\pm 3SD$, была неприемлема (молекулярная

масса), был применен заранее определенный диапазон. Для результатов биологических тестов были построены кривые «доза – эффект» в логарифмических координатах и рассчитаны значения EC_{50}/IC_{50} с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулярная масса и первичная структура

С помощью метода МАЛДИ были получены спектры для нативного белка и его А- и В-цепей. Во всех исследуемых образцах GP40011 и образцах референтного препарата присутствовали идентичные сигналы, соответствующие ожидаемым расчетным молекулярным массам нативного инсулина и его цепей (таблица 3).

Методом МАЛДИ были получены спектры фрагментации пептидов массой 2383,0 и 3428,7 Да, и было показано, что аминокислотная последовательность А-цепи и В-цепи полностью соответствует заявленной для всех образцов (рисунок 1).

Первичная структура была подтверждена методом пептидного картирования. При протеолизе в невосстанавливающих условиях происходило образование четырех ожидаемых пептидов с массой 416,2; 1115,6; 1376,5; 2967,2 Да. В невосстанавливающих условиях протеолиз белка затруднен за счет наличия дисульфидных сшивок и плотной упаковки молекулы инсулина. Кроме четырех ожидаемых пептидов, детектировались и частичные фрагменты, а определенная часть белка оставалась интактной (таблица 4). Стоит отметить, что наиболее легко проходит гидролиз по Glu21B, в то время как связь справа от Glu4A гидролизует с трудом из-за близкого расположения цистина, поэтому пептиды A1-A4 и A5-A17/B1-B13 присутствовали лишь в небольших количествах, а в основном наблюдался продукт частичного гидролиза A1-A17/B1-B13. Проведение протеолиза в восстанавливающих условиях приводило к образованию шести ожидаемых пептидов с массой 416,2; 512,1; 866,4; 1115,6; 1481,7; 1489,6 Да (таблица 4).

Полученные пептидные карты для образцов GP40011 были идентичны образцам препарата Хумалог®, о чем свидетельствует наложение хроматограмм после протеолиза инсулина (рисунок 2).

На основании полученного одинакового профиля пептидных фрагментов и данных по молекулярной массе и аминокислотной последовательности инсулина GP40011 и Хумалог® можно сделать вывод об идентичности их первичной структуры.

Структуры высокого порядка

Определение количества и положения дисульфидных связей является одним из критических параметров структуры, стабильности и биологической активности инсулина. Определение дисульфидных связей

Таблица 3. Физико-химическая характеристика

Table 3. Physicochemical characterization

Метод Method	Атрибут Attribute	GP40011	Хумалог® Humalog®
Молекулярная масса и первичная структура Molecular mass and primary structure			
МАЛДИ MALDI	Масса нативного белка, Да Intact protein mass, Da	5804,6	5804,6
МАЛДИ MALDI	Масса А-цепи, Да A-chain mass, Da	2383,0	2383,0
МАЛДИ MALDI	Масса В-цепи, Да B-chain mass, Da	3428,7	3428,7
МАЛДИ, пептидное картирование MALDI, peptide mapping	Аминокислотная последовательность Amino acid sequence	Подтверждена Confirmed	Подтверждена Confirmed
Структуры более высокого порядка Higher order structures			
Метод Элмана Ellman's method	Свободные сульфгидрильные группы, моль/моль инсулина Free sulfhydryl groups, mol/insulin mol	0,002–0,008	0,002–0,004
Капиллярное изоэлектро-фокусирование Capillary isoelectric focusing	Изоэлектрическая точка, pI Isoelectric point, pI	6,10–6,11	6,10–6,11
Круговой дихроизм Circular dichroism	α-спираль, % α-helix, %	37–41	40–42
	β-слой, % β-sheet, %	16–17	15–17
	β-повороты, % β-turn, %	15–16	14–16
	Неупорядоченная структура, % Random coil, %	28–30	27–28
Флуоресцентная спектрофотометрия Fluorescence spectrophotometry	Квантовый выход флуоресценции, Flu Fluorescence quantum yield, Flu	0,28–0,30	0,10–0,20
Динамическое рассеяние света Dynamic light scattering	Пик распределения частиц, нм Peak of the particle size distribution, nm	5,6–6,1	5,6–5,8
Родственные примеси Product-related impurities			
Эксклюзионная хроматография Size exclusion chromatography	Высокомолекулярные белки (ВМБ), % Higher molecular weight protein (HMWP), %	0,19–0,19	0,19–0,20
Обращенно-фазовая ВЭЖХ Reversed-phase HPLC	A21-дезамидоинсулин лизпро, % A21-desamido insulin lispro, %	0,18–0,29	0,21–0,27
Обращенно-фазовая ВЭЖХ Reversed-phase HPLC	Сумма примесей, % Total impurities, %	1,10–1,40	0,89–1,30

Примечание. Данные представлены как минимальное и максимальное значение. Во всех указанных методиках было использовано по три серии каждого препарата.

Note. The data are presented as minimum and maximum. Three batches of each product were used in all the mentioned methods.

в исследуемых образцах проводили путем сравнения набора протеолитических фрагментов инсулина, присутствующих в смеси после ферментативного гидролиза в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях. Наличие пептидов A18-A21/B14-B21 однозначно подтверждает точное положение дисульфидной связи между Cys20A и Cys19B, поскольку пептиды

A18-21 и B14-21 содержат только по одному остатку цистеина. Другая дисульфидная связь образована Cys7B и одним из остатков Cys6A, Cys7A, Cys11A, о чем говорит наличие пептидов A5-A17/B1-B13. Наличие дисульфидной связи внутри А-цепи косвенно подтверждается изменением массы пептидов при восстановлении участка A5-A17.

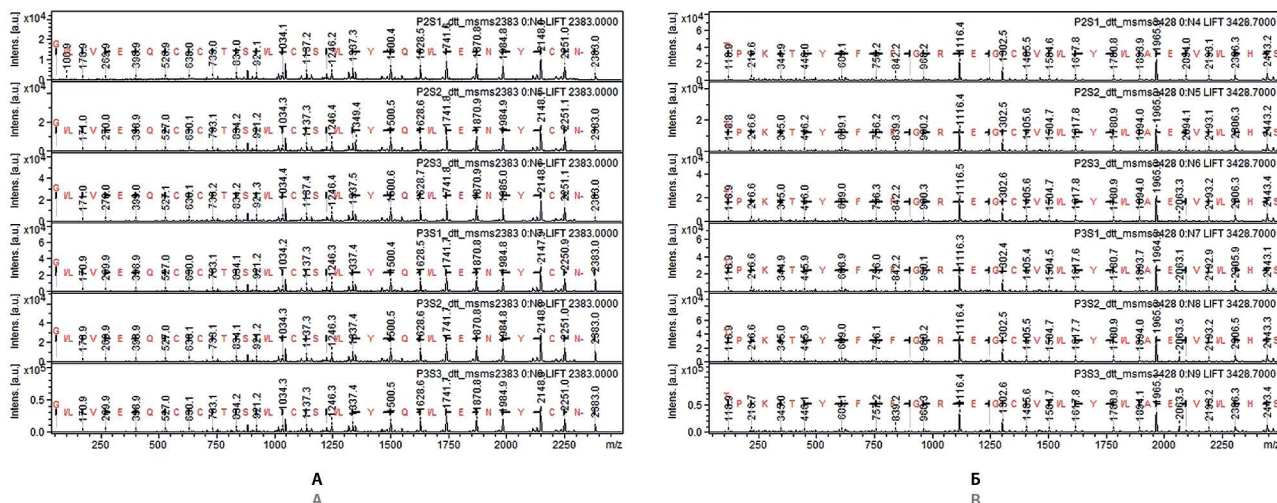


Рисунок 1. Спектры фрагментации А-цепи (А) и В-цепи (Б) для всех исследуемых образцов. Образцы сверху вниз: GP40011 (3 серии), Хумалог® (3 серии)

Figure 1. The fragmentation mass spectra of A-chain (A) and B-chain (B) for all tested samples. Samples (top to bottom): GP40011 (3 batches), Humalog® (3 batches)

Таблица 4. Профиль пептидных фрагментов, регистрируемых после проведения гидролиза препаратов инсулина протеиназой Glu-C в невосстанавливающих и восстанавливающих условиях

Table 4. Profile of peptide fragments formed after hydrolysis of insulin products by proteinase Glu-C under non-reducing and reducing conditions

Время удержания, мин Retention time, min	Определяемая масса, Да Registered mass, Da	Теоретическая масса, Да Theoretical mass, Da	Положение Position	Аминокислотная последовательность Amino acid sequence
Целевые продукты гидролиза, невосстанавливающие условия Target hydrolysis products, non-reducing conditions				
3.7	416.2	416.2	A1-A4	GIVE
5.6	1115.6	1115.6	B22-B30	RGFFYTKPT
6.8	1376.5	1376.6	A18-A21 / B14-A21	[A20-B19]
7.8	2967.2	2967.3	A5-A17 / B1-B13	[A7-B7, A6-A11]
Целевые продукты гидролиза, восстанавливающие условия Target hydrolysis products, reducing conditions				
2.0	512.1	512.2	A18-A21	NYCN
3.7	416.2	416.2	A1-A4	GIVE
5.6	1115.6	1115.6	B22-B30	RGFFYTKPT
5.8	1481.7	1481.7	B1-B13	FVNQHLCGSHLVE
7.4	866.4	866.4	B14-B21	ALYLVCGE
8.5	1489.6	1489.6	A5-A17	QCCTSICSLYQLE
Продукты частичного гидролиза, невосстанавливающие условия Partial hydrolysis products, non-reducing conditions				
7.8	2474.1	2474.2	A18-A21 / B14-B30	[A20-B19]
8.1	3365.8	3365.5	A1-17 / B1-B13	[A7-B7, A6-A11]
8.9	4726.8	4727.3	A1-A21 / B1-B21	[A7-B7, A6-A11, A20-B19]
9.2	5807.4	5807.6	A1-A21 / B1-B30	[A7-B7, A6-A11, A20-B19]
9.3	4708.8	4709.3	A1-A21 / B1-B21	[A7-B7, A6-A11, A20-B19]

Примечание. В квадратных скобках указано положение дисульфидных связей.

Note. The position of disulfide bonds is indicated in square brackets.

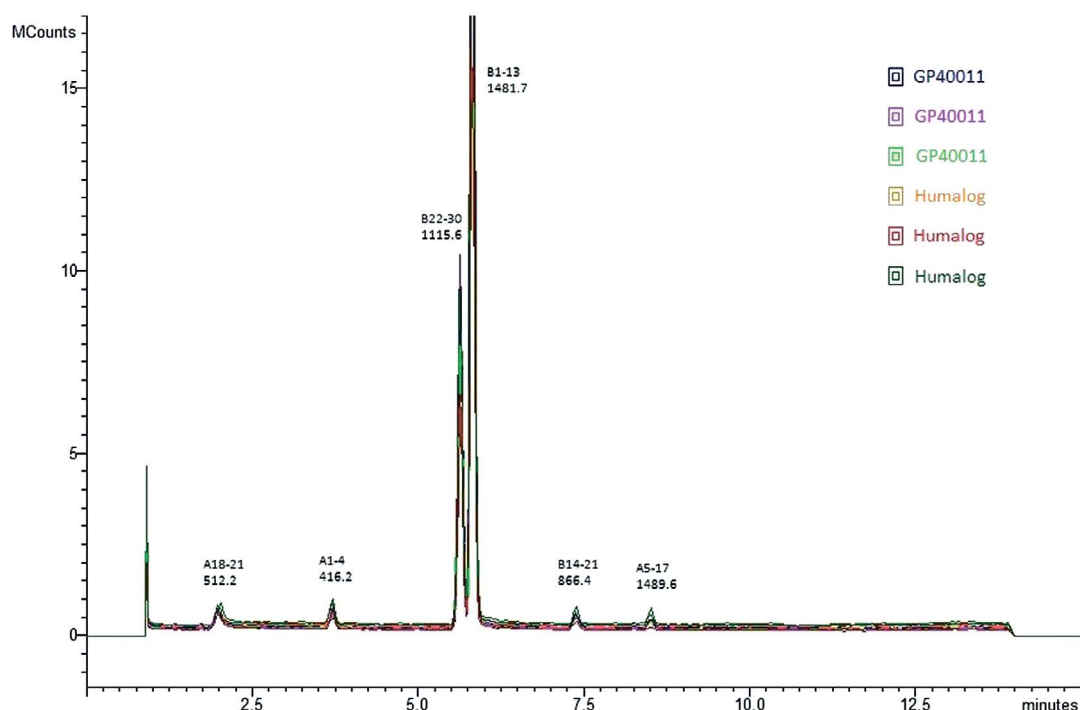


Рисунок 2. Хроматограммы продуктов протеолиза инсулина в восстанавливающих условиях (указаны расчетные массы)

Figure 2. Chromatograms of proteolysis products of insulin under reducing conditions (calculated masses indicated)

С помощью метода Элмана для GP40011 и Хумалога® было проведено определение количества свободных сульфгидрильных групп, которые могут являться показателем наличия свободного цистеина и, соответственно, признаком неполных дисульфидных связей, что критично для структуры инсулина и его стабильности. Количество свободных сульфгидрильных групп составило в среднем $0,005 \pm 0,003$ и $0,003 \pm 0,001$ моль/моль инсулина для препаратов GP40011 и Хумалог® соответственно. По результатам определения все серии исследуемых препаратов показали результат ниже предела обнаружения ($0,075$ моль/моль), что свидетельствует об отсутствии неполных дисульфидных связей и о полной сопоставимости препаратов по данному показателю.

Анализ вторичной структуры проводили путем измерения спектров кругового дихроизма, которые затем подвергались математической обработке для расчета процентного содержания вторичных структурных элементов (таблица 3). Совпадение полученных спектров в дальней УФ-области 180–260 нм свидетельствует о неразличимой вторичной структуре белка в исследуемых образцах.

При анализе рассчитанного процентного содержания структурных элементов выявлено незначительное отличие в процентном содержании α -спиралей в структуре молекул одной из серий GP40011 (37 % при диапазоне допустимых значений 37,9–44,8 %), что

повлияло также и на содержание неупорядоченных структур (30 % при диапазоне допустимых значений 25,6–29,1 %). С учетом погрешности методики (до 5 %) можно заключить, что вторичные структуры образцов GP40011 и Хумалог® сопоставимы.

Собственная флуоресценция белков, обусловленная наличием ароматических аминокислотных остатков (триптофан, тирозин, фенилаланин), крайне чувствительна к конформационным изменениям белка, поэтому определение относительного квантового выхода флуоресценции является важным и информативным параметром характеристики молекул. Для анализа третичной структуры регистрировали спектры флуоресценции стандартного раствора тирозина и исследуемых образцов. В диапазоне длин волн 270–280 нм происходит максимум поглощения света, а соответственно, и максимум флуоресценции. Для минимизации ошибки метода возбуждение флуоресценции проводилось в диапазоне длин волн максимального поглощения света – 275, 280, 285 нм.

Обобщенные квантовые выходы исследуемых образцов были сопоставимы или больше квантового выхода чистого тирозина, что свидетельствует о не тушении флуоресценции и о поверхностном положении тирозина в молекуле. Значения флуоресценции для образцов GP40011 были в пределах рассчитанных допустимых значений (0–0,30 Flu), что позволяет

сделать вывод о сопоставимости третичной структуры белка исследованных препаратов.

Показатели изoeлектрической точки составляли в среднем $6,11 \pm 0,01$ pI для препаратов GP40011 и Хумалог® и были полностью сопоставимы между всеми исследованными сериями.

С помощью метода динамического рассеяния света (DLS) определяли полидисперсность и гидродинамические параметры образцов. Метод DLS часто используется в качестве мониторинга агрегации белковых молекул и является достаточно чувствительным даже к следовым количествам крупных агрегатов [19]. Для определения гидродинамических размеров препаратов были построены графики зависимости интенсивности рассеяния от гидродинамического диаметра частиц. Значения среднего гидродинамического диаметра для серий GP40011 находились в пределах допустимых значений для препарата Хумалог® (5,4–6,1 нм), что опосредованно свидетельствует о сопоставимости четвертичных структур белка исследуемых препаратов.

Примеси

Согласно фармакопейным требованиям для генно-инженерных препаратов инсулина человека (ОФС.1.7.1.0017.18) определяют содержание высокомолекулярных белков, родственных соединений и сумму примесей, не учитывая количество родственных примесей. Основной родственной примесью препаратов инсулина является 21-дезамидоинсулин, который образуется путем дезамидирования остатка аспарагина в 21-м положении А-цепи. Содержание ВМБ не должно превышать 1,0 %, А21-дезамидоинсулина и других родственных белков – не более 2,0 %.

По всем исследуемым параметрам образцы GP40011 укладывались в пределы допустимых значений (рисунок 3), что говорит о сопоставимости GP40011 и Хумалога® по содержанию примесей.

Биологическая характеристика

В соответствии с требованиями решения Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 (решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 №89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза») и руководства ЕМА (European Medicines Agency. Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues, 2015) к разработке биоаналогичных лекарственных препаратов, содержащих аналоги инсулина, в целях подтверждения сходства функциональных характеристик биоаналогичного и референтного лекарственного препарата необходимо подтвердить сопоставимость связывания с обоими рецепторами инсулина человека (IR-A и IR-B), а также сравнить биологическую активность на двух уровнях: аутофосфорилирования рецептора и метаболической активности. Для подтверждения сопоставимости требуется использовать по меньшей мере три различных метода оценки метаболической активности.

Для оценки сопоставимости кинетики лиганд-рецепторного взаимодействия исследуемых образцов были получены сенсограммы связывания исследуемых препаратов инсулина с инсулиновыми рецепторами IR-A и IR-B в 5 концентрациях (рисунок 4, А–Г). Рассчитанные значения равновесной константы диссоциации KD для исследуемых препаратов были весьма схожи, показатели всех серий препарата GP40011 укладывались в пределы допустимых значений (рисунок 4, Д–Е).

Репрезентативные кривые зависимости «доза – эффект» в тесте оценки активации (аутофосфорилирования) инсулинового рецептора представлены на рисунке 5, А. По результатам сравнительного анализа значений EC₅₀ было продемонстрировано, что исследуемые препараты обладают сопоставимой фармакологической активностью по данному параметру (рисунок 5, Б).

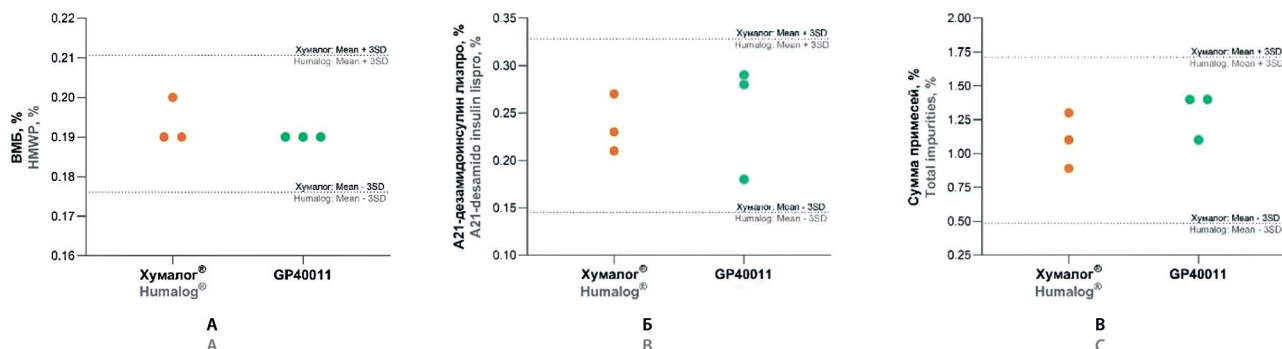


Рисунок 3. Анализ содержания примесей: высокомолекулярные белки (А), А21-дезамидоинсулин лизпро (Б) и сумма примесей (В)

Figure 3. Analysis of impurities: high molecular weight proteins (А), А21-desamido insulin lispro (Б) and total of impurities (С)

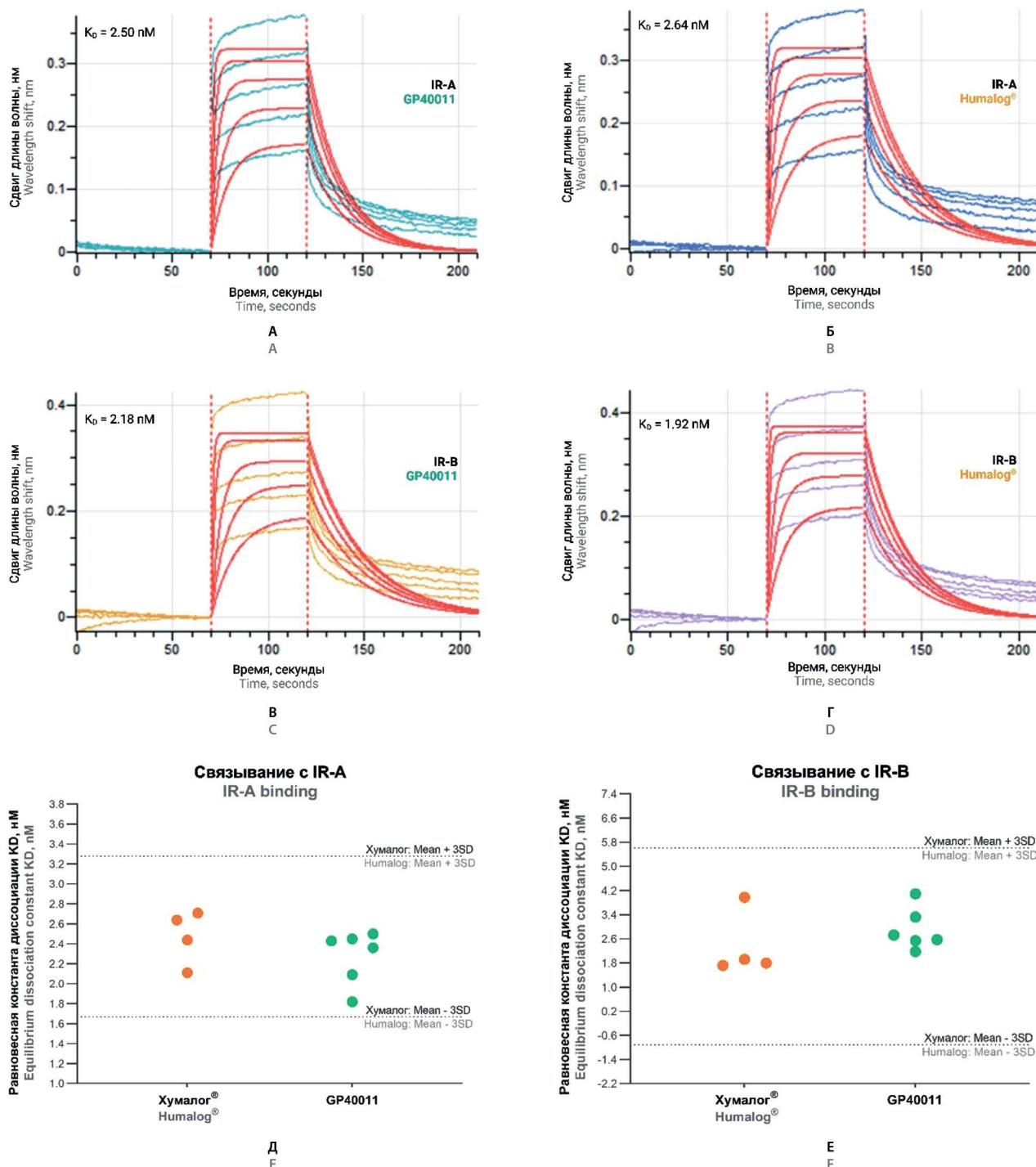


Рисунок 4. Репрезентативные сенсограммы связывания с IR-A (А – GP40011, Б – Хумалог®) и с IR-B (В – GP40011, Г – Хумалог®) и точечное распределение константы K_D для IR-A (Д) и IR-B (Е)

Figure 4. Representative sensorgrams of IR-A binding (А – GP40011, В – Хумалог®) and IR-B binding (С – GP40011, Д – Хумалог®) and scatter plot distribution of the K_D constant for IR-A (Е) and IR-B (F)

Метаболическую активность исследуемых образцов оценивали в трех клеточных тестах. Репрезентативные кривые «доза – эффект» для всех проведенных тестов представлены на рисунках 6, А; 7, А; 8, А. Средние значения IC_{50}/EC_{50} для препарата GP40011

в тестах «Захват глюкозы», «Инсулининдуцированный липогенез» и «Ингибирование стимулированного липолиза» составили 63,8 нМ, 11,6 нМ, 420,7 пМ соответственно, для препарата Хумалог® – 70,3 нМ, 14,6 нМ, 488,5 пМ. Показатели EC_{50}/IC_{50} для всех про-

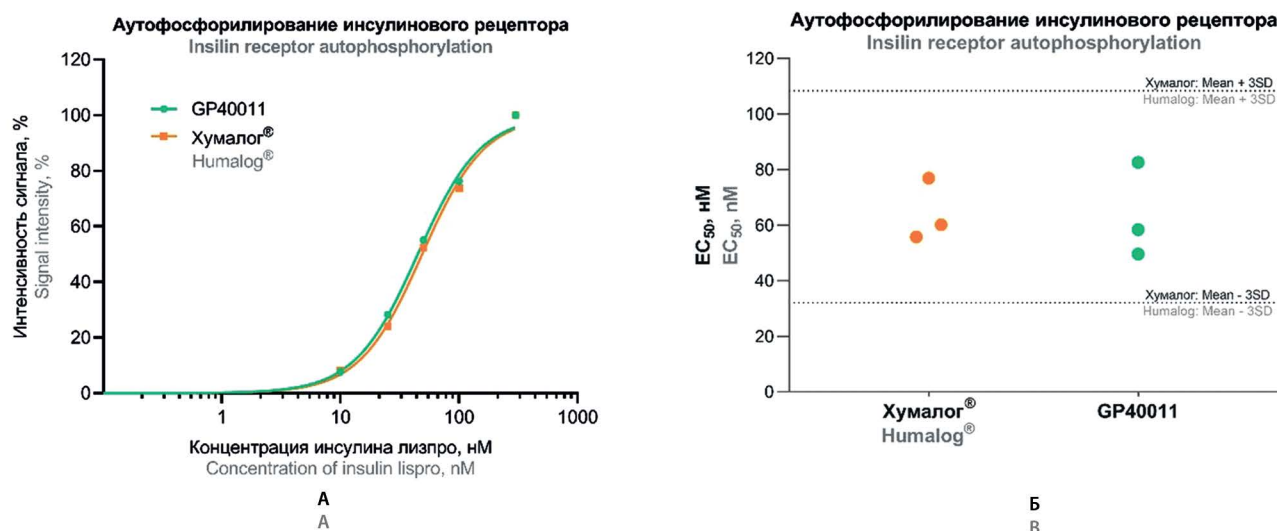


Рисунок 5. Аутофосфорилирование инсулинового рецептора: репрезентативные кривые «доза – эффект», Mean (А), точечное распределение значений EC₅₀ (Б)

Figure 5. Autophosphorylation of the insulin receptor: representative dose – response curves, Mean (A), scatter plot distribution of EC₅₀ values (B)

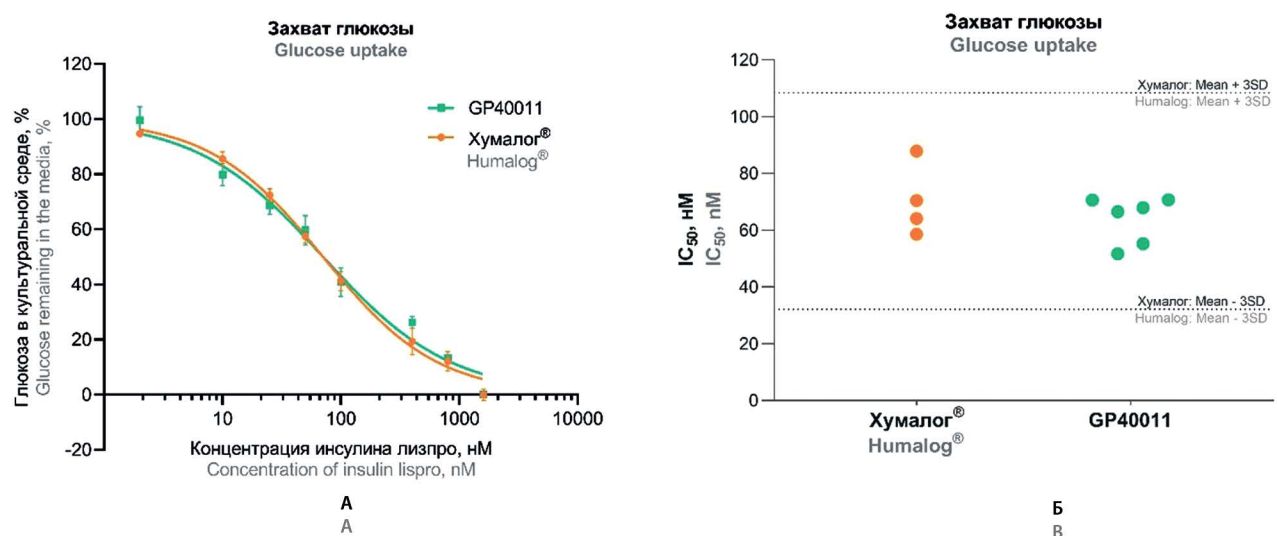


Рисунок 6. Клеточный тест «Захват глюкозы»: репрезентативные кривые «доза – эффект», Mean ± SEM (А), точечное распределение значений IC₅₀ (Б)

Figure 6. Cell-Based Assay "Glucose uptake": representative dose – response curves, Mean ± SEM (A), scatter plot distribution of IC₅₀ values (B)

тестируемых серий GP40011 находились в пределах допустимых значений референтного препарата (рисунки 6, Б; 7, Б; 8, Б).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено комплексное исследование сопоставимости, направленное на подтверждение высокой степени аналогичности препарата-биосимиляра Рин-Лиз® и референтного оригинального препарата Хума-

лог® с точки зрения физико-химических и функциональных характеристик.

Работа включала всестороннюю и детальную оценку критических характеристик белковой молекулы, включая анализ первичной структуры белка, структур более высокого порядка, профиля примесей. Также была проведена оценка функциональных свойств и биологической активности, учитывающая механизм действия инсулина. Исследования включа-

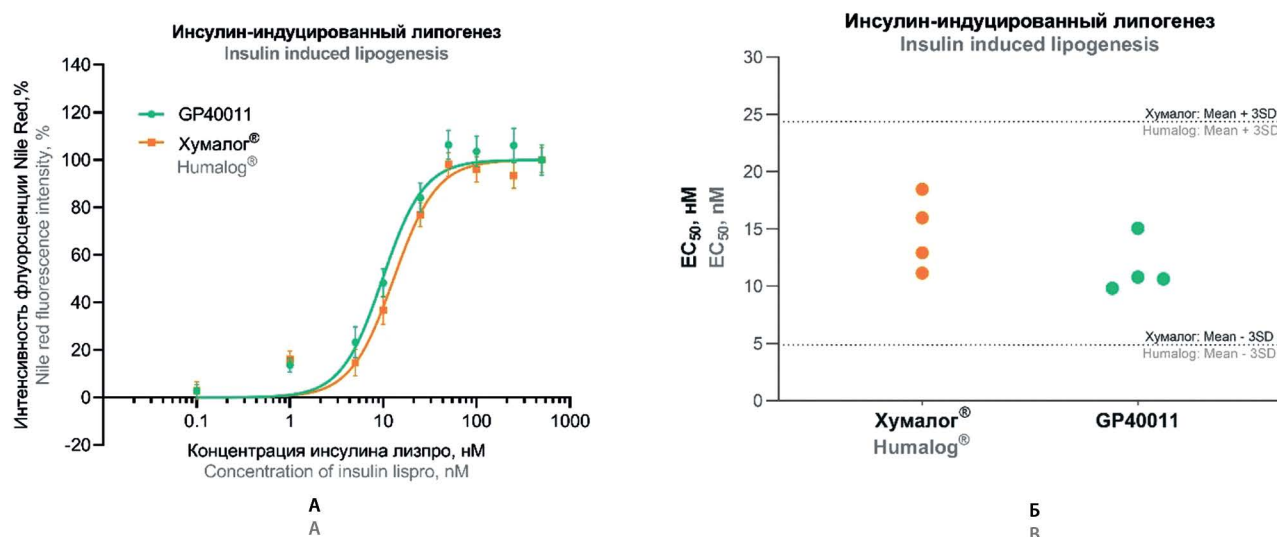


Рисунок 7. Клеточный тест «Инсулин-индуцированный липогенез»: репрезентативные кривые «доза – эффект», Mean ± SEM (А), точечное распределение значений EC₅₀ (Б)

Figure 7. Cell-based assay "Insulin-induced lipogenesis": representative dose – response curves, Mean ± SEM (A), scatter plot distribution of EC₅₀ values (B)

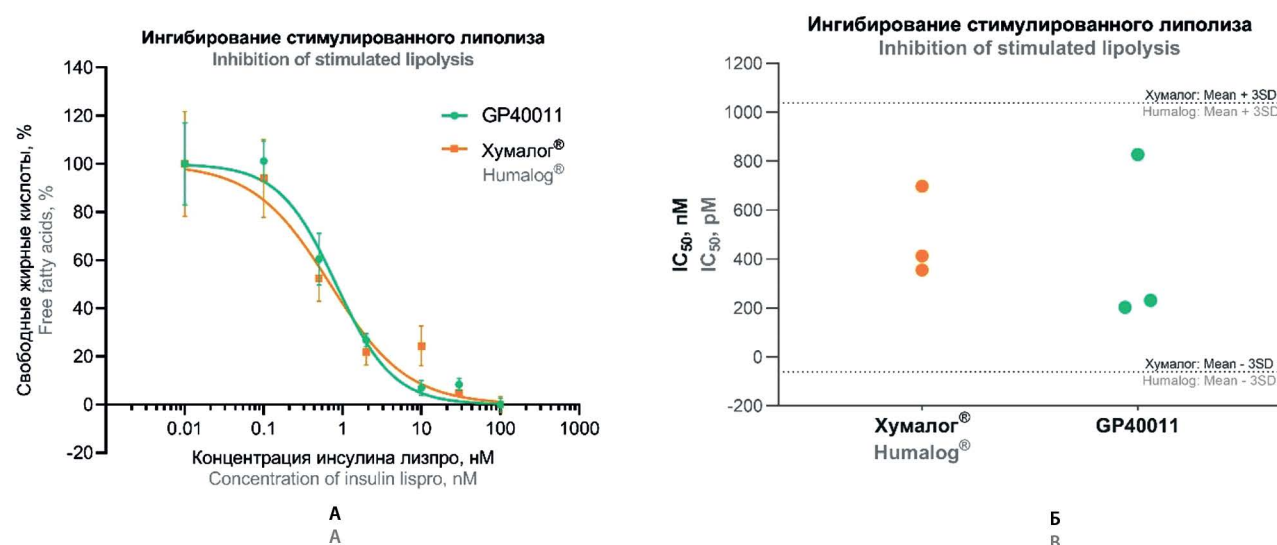


Рисунок 8. Клеточный тест «Ингибирование стимулированного липолиза»: репрезентативные кривые «доза – эффект», Mean ± SEM (А), точечное распределение значений EC₅₀ (Б)

Figure 8. Cell-based assay "Inhibition of stimulated lipolysis": representative dose – response curves, Mean ± SEM (A), scatter plot distribution of EC₅₀ values (B)

ли анализ кинетики связывания с инсулиновыми рецепторами, аутофосфорилирования инсулинового рецептора и оценку метаболической активности в нескольких ключевых метаболических клеточных тестах, что позволило достоверно подтвердить функциональную эквивалентность препаратов РинЛиз® и Хумалог®. Для обеспечения высокой точности, надежности и достоверности результатов, а также возможности выявления минимальных различий в структур-

ных и функциональных характеристиках инсулина были использованы ортогональные методики анализа, что позволило объективно оценить степень сопоставимости исследованных препаратов.

По результатам проведенного исследования была продемонстрирована полная сопоставимость препаратов РинЛиз® и Хумалог®. Проведенное исследование внесло значимый вклад в научное обоснование эквивалентности биосимиляра РинЛиз® и рефе-

рентного препарата Хумалог®, тем самым обеспечив надежную основу для успешной регистрации и последующего клинического применения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- GBD 2021 Diabetes Collaborators. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*. 2023;402(10397):203–234. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)01301-6.
- Flood D., Seiglie J.A., Dunn M., Tschida S., Theilmann M., Marcus M.E., Brian G., Norov B., Mayige M.T., Singh Gurung M., Aryal K.K., Labadarios D., Dorobantu M., Silver B.K., Bovet P., Jorgensen J.M.A., Guwatudde D., Houehanou C., Andall-Brereton G., Quesnel-Crooks S., Sturua L., Farzadfar F., Saeedi Moghaddam S., Atun R., Vollmer S., Bärnighausen T.W., Davies J.I., Wexler D.J., Geldsetzer P., Rohloff P., Ramírez-Zea M., Heisler M., Manne-Goehler J. The state of diabetes treatment coverage in 55 low-income and middle-income countries: a cross-sectional study of nationally representative, individual-level data in 680 102 adults. *The Lancet Healthy Longevity*. 2021;2(6): E340–E351. DOI: 10.1016/S2666-7568(21)00089-1.
- Beran D., Ewen M., Laing R. Constraints and challenges in access to insulin: a global perspective. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2016;4(3):275–285. DOI: 10.1016/S2213-8587(15)00521-5.
- Agbogbo F.K., Ecker D.M., Farrand A., Han K., Khoury A., Martin A., McCool J., Rasche U., Rau T.D., Schmidt D., Sha M., Treuheit N. Current perspectives on biosimilars. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2019;46(9–10):1297–1311. DOI: 10.1007/s10295-019-02216-z.
- Morolla D., Beran D., Ewen M., Raviglione M., von Schoen-Angerer T. Role of biosimilar introduction on insulin glargine prices: a retrospective analysis in 28 European countries. *BMJ Open*. 2025;15(1):e090484. DOI: 10.1136/bmjopen-2024-090484.
- Koivisto V.A. The human insulin analogue insulin lispro. *Annals of Medicine*. 1998;30(3):260–266. DOI: 10.3109/07853899809005853.
- Posner B.I. Insulin Signalling: The Inside Story. *Canadian Journal of Diabetes*. 2017;41(1):108–113. DOI: 10.1016/j.cjcd.2016.07.002.
- Hsu J.-C., Lai B.-Y., Hsieh W.-L., Wang D.-Y., Shih D. Y.-C., Lo C.-F. Identification of recombinant insulin analogues by peptide mapping method. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2012;20(4):7. DOI: 10.6227/jfda.2012200427.
- Sklepari M., Rodger A., Reason A., Jamshidi S., Prokes I., Blindauer C.A. Biophysical characterization of a protein for structure comparison: methods for identifying insulin structural changes. *Analytical Methods*. 2016;8(41):7460–7471. DOI: 10.1039/C6AY01573E.
- Patil S.M., Keire D.A., Chen K. Comparison of NMR and Dynamic Light Scattering for Measuring Diffusion Coefficients of Formulated Insulin: Implications for Particle Size Distribution Measurements in Drug Products. *The AAPS Journal*. 2017;19(6):1760–1766. DOI: 10.1208/s12248-017-0127-z.
- Бабина А. В., Драй Р. В., Сапарова В. Б., Афанасьева А. Н., Заикин П. Г., Шмурак В. И., Елтышева Т. Э., Макаренко И. Е. Физико-химическая и функциональная характеристика лекарственного препарата Ринсулин® Р. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023;12(2):124–134. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-124-134. [Babina A.V., Drai R.V., Saparova V.B., Afanasyeva A.N., Zaikin P.G., Shmurak V.I., Eltysheva T.E., Makarenko I.E. Physicochemical and functional characterization of medicinal product Rinsulin® R. *Drug development & registration*. 2023;12(2):124–134. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-124-134.]
- Korn M., Wohlfart P., Gossas T., Kullman-Magnusson M., Niederhaus B., Dedio J., Tennagels N. Comparison of metabolic and mitogenic response in vitro of the rapid-acting insulin lispro product SAR342434, and US- and EU-approved Humalog®. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2019;109:104497. DOI: 10.1016/j.yrtph.2019.104497.
- Somwar R., Sweeney G., Ramlal T., Klip A. Stimulation of glucose and amino acid transport and activation of the insulin signaling pathways by insulin lispro in L6 skeletal muscle cells. *Clinical Therapeutics*. 1998;20(1):125–140. DOI: 10.1016/s0149-2918(98)80040-4.
- Owens R.A., Hansen R.J., Kahl S.D., Zhang C., Ruan X., Koester A., Li S., Qian H.-R., Farmen M.W., Michael M.D., Moyers J.S., Cutler G.B.Jr., Vick A., Beals J.M. In Vivo and In Vitro Characterization of Basal Insulin Peglispro: A Novel Insulin Analog. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2016;357(3):459–465. DOI: 10.1124/jpet.115.231035.
- Byrd R.A., Owens R.A., Blackburn J.L., Coutant D.E., Farmen M.W., Michael M.D., Moyers J.S., Schultze A.E., Sievert M.K., Tripathi N.K., Vahle J.L. Nonclinical pharmacology and toxicology of the first biosimilar insulin glargine drug product (BASAGLAR®/ABASAGLAR®) approved in the European Union. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2017;88:56–65. DOI: 10.1016/j.yrtph.2017.05.013.
- Ghade N.S., Thappa D.K., Lona J., Krishnan A.R., Sonar S.M. Comparative physicochemical and structural characterisation studies establish high biosimilarity between BGL-ASP and reference insulin aspart. *Scientific Reports*. 2024;14(1):4224. DOI: 10.1038/s41598-024-54819-x.
- Goyal P., Pai H.V., Kodali P., Vats B., Vajpai N., Annegowda S., Mane K., Mohan S., Saxena S., Veerabhadraia A.B., Palande M., Nair P.S., More D.C., Rao Karudumpra U., Jyothirmai K., Bhattacharya A., Almeida F., Khyade S.G., Gouda S., Ranayhossaini D.J., Reddy Moole P., Smith J.P., Barve A., Melarkode R., Ullanat R. Physicochemical and functional characterization of MYL-1501D, a proposed biosimilar to insulin glargine. *PLoS ONE*. 2021;16(6):e0253168. DOI: 10.1371/journal.pone.0253168.
- Афанасьева А. Н., Сапарова В. Б., Макаренко И. Е., Драй Р. В., Сельменских Т. А. Опыт проведения валидации *in vitro* методики оценки инсулинозависимого захвата глюкозы. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(1):77–88. DOI: 10.30895/1991-2919-2022-398. [Afanasyeva A.N., Saparova V.B., Makarenko I.E., Drai R.V., Selmenskikh T.A. Experimental validation of an *in vitro* method for assessing insulin-dependent glucose uptake. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(1):77–88. DOI: 10.30895/1991-2919-2022-398.]
- Zhou C., Qi W., Lewis E.N., Carpenter J.F. Characterization of sizes of aggregates of insulin analogs and the conformations of the constituent protein molecules: a concomitant dynamic light scattering and Raman spectroscopy study. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;105(2):551–558. DOI: 10.1016/j.xphs.2015.10.023.



29–30 октября 2026
Санкт-Петербург

Конференция ДИАЛОГИ О КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ



Партнер:



Поддержка:



САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ
ТОРГОВО-ПРОМЫШЛЕННАЯ
ПАЛАТА

Организатор:



clinic.restec.ru
+7 921 330 62 18

Research article / Оригинальная статья

UDC 616.894-053.8; 615.214

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2296>



Neuroprotective effect of ranolazine and famotidine in a mouse model of Alzheimer's disease

Mariam Hadi Sadiq¹✉, Adeeb Ahmed Al-Zubaidy², Nawres Lateef Wahab³

¹ Al-Turath University, College of Pharmacy, Department of Pharmacology, Baghdad, Iraq

² University of Warith Al-Anbiyaa, College of Medicine, Department of Pharmacology, Karbala, Iraq

³ Dijlah University College, College of Pharmacy, Department of Pharmacology, Baghdad, Iraq

✉ **Corresponding author:** Mariam Hadi Sadiq. **E-mail:** mariam.hadi@uoturath.edu.iq

ORCID: Mariam Hadi Sadiq – <https://orcid.org/0009-0006-1685-4299>;

Adeeb Ahmed Al-Zubaidy – <https://orcid.org/0000-0002-5207-383X>;

Nawres Lateef Wahab – <https://orcid.org/0009-0001-4901-4708>.

Received: 17.02.2026

Accepted: 13.04.2026

Published: 22.05.2026

Abstract

Introduction. The neurodegenerative disorder known as Alzheimer's disease progresses over time as it causes damage to different parts of the brain. Ranolazine, a piperazine derivative, is a treatment that is considered to be of secondary relevance for persistent aortic stenosis in individuals with stable angina who do not react to other drugs. Additionally, famotidine is a competitive H₂-receptor antagonist that reduces stomach acid secretion and treats conditions such as acid reflux and ulcers. In mouse models, ranolazine may help protect the brain against Alzheimer's disease-like characteristics induced by scopolamine.

Aim. To examine the potential neuroprotective properties of the combined administration of ranolazine and famotidine in mitigating symptoms of Alzheimer's disease in a mouse model induced by scopolamine.

Materials and methods. The experiment included four groups of ten mice each: a control group, an induction group that received 1 mg/kg of scopolamine intraperitoneally once a day for seven days to mimic Alzheimer's disease symptoms, and a memory loss group that received no such medication. For the remaining two groups of mice, the following medications were given orally once daily: donepezil (5 mg/kg/d) and a combination of ranolazine (40 mg/kg/d) and famotidine (40 mg/kg/d). After 14 days of prophylactic medication, the induction was performed with scopolamine (1 mg/kg i.p. once daily), and the medication was continued for an additional week. Research on the brain tissue sample included histopathological examinations, evaluation of inflammatory cytokines and oxidative stress parameters (such as acetylcholinesterase concentration), and assessment of behavioral parameters (such as novel object recognition and Y-maze tests).

Results and discussion. Scopolamine significantly impaired behavior (Y-maze 53.72, $p \leq 0.001$), which was reversed by treatments (donepezil: 67.58, $p \leq 0.001$). Treatments significantly reduced oxidative stress (MDA 1.65, $p < 0.01$) and inflammation (TNF- α 125.91, $p \leq 0.001$) compared to the induction group. All treated groups showed no significant difference compared to controls ($p > 0.05$). In comparison to the scopolamine group, ranolazine and famotidine combination significantly improved behavioral and memory performance, oxidative stress parameters, and inflammatory cytokine levels. However, there was no significant reduction in the concentration of acetylcholinesterase in brain homogenate.

Conclusion. Ranolazine and famotidine protected mice from scopolamine-induced AD-like symptoms in this study. The recent investigation showed that ranolazine and famotidine's antioxidant and anti-inflammatory actions may explain this benefit.

Keywords: Alzheimer's disease, famotidine, donepezil, inflammatory cytokines, oxidative stress

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. Mariam Hadi Sadiq – conceptualization, data curation, investigation, methodology, resources, software, visualization, writing – original draft, writing – review & editing. Adeeb Ahmed Al-Zubaidy – conceptualization, data curation, methodology, supervision, validation, visualization, writing – original draft, writing – review & editing. Nawres Lateef Wahab – conceptualization, supervision, validation, visualization, writing – original draft, writing – review & editing.

Acknowledgment. The authors would like to thank the supervisor for his guidance and efforts at the College of Medicine, University of Warith Al-Anbiyaa.

For citation: Sadiq M. H., Al-Zubaidy A. A., Wahab N. L. Neuroprotective effect of ranolazine and famotidine in a mouse model of Alzheimer's disease. *Drug development & registration*. 2026;15(2):207–214. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2296>

© Sadiq M. H., Al-Zubaidy A. A., Wahab N. L., 2026

© Садик М. Х., Аль-Зубайди А. А., Ваххаб Н. Л., 2026

Нейропротекторное действие ранолазина и фамотидина на мышинной модели болезни Альцгеймера

М. Х. Садик¹✉, А. А. Аль-Зубайди², Н. Л. Ваххаб³

¹ Университет Аль-Турас, фармацевтический колледж, кафедра фармакологии, Багдад, Ирак.

² Университет Варис Аль-Анбия, колледж медицины, кафедра фармакологии, Кербела, Ирак.

³ Университетский колледж Диджла, фармацевтический колледж, кафедра фармакологии, Багдад, Ирак.

✉ Контактное лицо: Садик Марьям Хади. E-mail: mariam.hadi@uoturath.edu.iq

ORCID: М. Х. Садик – <https://orcid.org/0009-0006-1685-4299>;

А. А. Аль-Зубайди – <https://orcid.org/0000-0002-5207-383X>;

Н. Л. Ваххаб – <https://orcid.org/0009-0001-4901-4708>.

Статья поступила: 17.02.2026

Статья принята в печать: 13.04.2026

Статья опубликована: 22.05.2026

Резюме

Введение. Нейрогенеративное расстройство, известное как болезнь Альцгеймера, прогрессирует с течением времени, вызывая повреждение различных участков головного мозга. Ранолазин, производное пиперазина, представляет собой препарат второй линии для лечения аортального стеноза у пациентов со стабильной стенокардией, не реагирующих на иные лекарственные средства. Кроме того, фамотидин является соперником H₂-рецепторов, снижающим секрецию желудочной кислоты и применяемым для лечения кислотного рефлюкса и язвы. На мышинных моделях ранолазин может способствовать защите мозга от проявлений, подобных болезни Альцгеймера и индуцированным скополамином.

Цель. Изучить потенциальные нейропротекторные свойства комбинированного применения ранолазина и фамотидина в смягчении симптомов болезни Альцгеймера на мышинной модели, индуцированной скополамином.

Материалы и методы. Эксперимент включал четыре группы по 10 мышей в каждой: контрольную группу, индукционную группу, получавшую скополамин в дозе 1 мг/кг внутривентриально один раз в сутки в течение семи дней для воспроизведения симптомов болезни Альцгеймера; и группу с потерей памяти, не получавшую подобного препарата. Двум оставшимся группам мышей ежедневно перорально вводили следующие лекарственные средства: донепезил (5 мг/кг/сут) и комбинацию ранолазина (40 мг/кг/сут) с фамотидином (40 мг/кг/сут). После 14 дней профилактического приема препаратов была проведена индукция скополамином (1 мг/кг внутривентриально один раз в сутки), при этом введение препаратов продолжалось ещё в течение одной недели. Исследование образцов ткани головного мозга включало гистопатологический анализ, определение воспалительных цитокинов и показателей оксидативного стресса (таких как концентрация ацетилхолинэстеразы), а также оценку поведенческих параметров (тест распознавания нового объекта и Y-образный лабиринт).

Результаты и обсуждение. Скополамин существенно ухудшил поведенческие показатели (Y-образный лабиринт 53,72, $p \leq 0,001$), что было изменено применяемыми препаратами (донепезил: 67,58, $p \leq 0,001$). Препараты значительно снижали выраженность окислительного стресса (MDA 1,65, $p < 0,01$) и воспаления (TNF- α 125,91, $p \leq 0,001$) по сравнению с индукционной группой. Все группы, получавшие лечение, не имели значимых отличий от контрольной группы ($p > 0,05$). По сравнению с группой скополамина, комбинация ранолазина и фамотидина значительно улучшала поведенческие показатели и память, параметры окислительного стресса и уровни провоспалительных цитокинов. Однако значимого снижения концентрации ацетилхолинэстеразы в гомогенате головного мозга не наблюдалось.

Заключение. В данном исследовании ранолазин и фамотидин защитили мышей от индуцированных скополамином симптомов, подобных болезни Альцгеймера. Проведенное исследование показало, что антиоксидантное и противовоспалительное действие ранолазина и фамотидина может объяснить этот эффект.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, фамотидин, донепезил, провоспалительные цитокины, окислительный стресс

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

Вклад авторов. М. Х. Садик — концептуализация, обработка данных, проведение исследования, методология, ресурсы, программное обеспечение, визуализация, написание первоначального текста, редактирование и доработка текста. А. А. Аль-Зубайди — концептуализация, обработка данных, методология, руководство, валидация, визуализация, написание первоначального текста, редактирование и доработка текста. Н. Л. Ваххаб — концептуализация, руководство, валидация, визуализация, написание первоначального текста, редактирование и доработка текста.

Благодарность. Авторы выражают благодарность научному руководителю за его руководство и усилия, приложенные в Медицинском колледже Университета Варис Аль-Анбия.

Для цитирования: Садик М. Х., Аль-Зубайди А. А., Ваххаб Н. Л. Нейропротекторное действие ранолазина и фамотидина на мышинной модели болезни Альцгеймера. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(2):207–214. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-2-2296>

LIST OF ABBREVIATIONS

A β	Amyloid beta.
AD	Alzheimer's disease.
Akt	Protein kinase B.
ANOVA	Analysis of variance.
CAT	Catalase.
COVID-19	Coronavirus disease 2019.
CRP	C-reactive protein.
Cu/Zn-SOD	Copper/zinc superoxide dismutase.
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay.
FDA	Food and Drug Administration.
GERD	Gastroesophageal reflux disease.
GSK-3	Glycogen synthase kinase-3.
HIF-1 α	Hypoxia-inducible factor-1 alpha.
i.p.	Intraperitoneal.
IFN	Interferon.
IL-1 β	Interleukin-1 beta.
IL-6	Interleukin-6.
LDH	Lactate dehydrogenase.
MDA	Malondialdehyde.
Mn-SOD	Manganese superoxide dismutase.
MTX	Methotrexate.
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.
NOR	Novel object recognition.
PBS	Phosphate-buffered saline.
PPAR- γ	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma.
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.
SD	Standard deviation.
SOD1	Superoxide dismutase-1.
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences.
TAC	Total antioxidant capacity.
T-SH	Total thiol.
TLR	Toll-like receptor.
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha.
T2DM	Type 2 diabetes mellitus.
Y-maze	Y-shaped maze test.

INTRODUCTION

A neurodegenerative disorder, Alzheimer's disease (AD), typically begins slowly but steadily worsens as it affects more and more brain regions and new symptoms emerge. The disease is also incurable. The primary features of AD pathogenesis are the formation of extracellular beta-amyloid protein clumps and intracellular tau protein twisted strands [1].

There have been several proposed theories regarding AD, some of which include amyloid- β (A β), Tau, the death of cholinergic neurons, oxidative stress, inflammation, and others. There have been a lot of attempts to develop anti-AD drugs based on these concepts [2].

The FDA has authorized six medicines for Alzheimer's disease (AD) treatment. Galantamine, donepezil, rivastigmine, and memantine are the four medications that make up this list; they only provide short-term relief from Alzheimer's symptoms; they do nothing to address the disease's core brain problems [3, 4].

Famotidine is a competitive antagonist of histamine H₂-receptors that diminishes stomach acid production and is utilized in the treatment of gastrointestinal illnesses related to acid, including gastroesophageal reflux disease (GERD), duodenal ulcers, gastric ulcers, and pathological hypersecretory conditions [5].

In vitro studies using SARS-CoV-2-infected cells have shown that famotidine inhibits histamine-induced toll-like receptor 3-mediated inflammatory signaling [6]. Pharmacokinetic studies suggest that famotidine may improve COVID-19 outcomes by achieving blood levels that favor its antagonism of histamine H₂ receptors on neutrophils, eosinophils, and mast cells [7].

Objective of the Study

This study examines whether ranolazine and famotidine exhibit neuroprotective effects against scopolamine-induced Alzheimer's disease-like features in murine models.

MATERIALS AND METHODS

Collection of Animal Samples

Fifty male mice, aged 2–3 months and weighing 25–35 g, were maintained under conventional laboratory conditions at a temperature of 20–22 °C. Scopolamine (Hyper Chem, China), famotidine (Hyper Chem, China), and donepezil (Hyper Chem, China) were dissolved in normal saline and used in the experiment. The Y-maze and open field box were manufactured locally in Baghdad.

Preparation of Medications

In this randomized controlled animal study, mice were categorized into five groups: a control group, a scopolamine-induced group (1 mg/kg i.p. administered once daily for 7 days), and three treatment groups that received prophylactic administration for 14 days, followed by ongoing treatment during scopolamine induction: donepezil (5 mg/kg i.p. once daily), famotidine (40 mg/kg i.p. once daily), and a combination of both (donepezil 5 mg/kg + famotidine 40 mg/kg i.p. once daily). Behavioural evaluations were conducted utilizing Y-maze and novel object identification tests over three consecutive days, commencing on day 25 [8, 9].

Behavioural tests

Y-Maze Spontaneous Alternation Behaviour

The geometric shape of this apparatus resembles a Y, with the letters [A, B, and C] serving as the three equal arms. They were 15 cm tall, 6 cm broad, and 20 cm long, with a right angle joining the two arms [10].

This test lasted 10 minutes for each animal. Each animal was placed in one arm and noted for its subsequent arms. The complete arm access occurred when the hind paws fully encompassed an arm, whereas alternation involved each mouse sequentially entering three arms. The Y-maze arena was sanitized with ethanol [70 % v/v] to eliminate olfactory cues between trials. The spontaneous alternation percentage was calculated by this equation [11–13]:

$$\left[\frac{\text{Number of alternations}}{(\text{Total number of arm entries} - 2)} \right] \cdot 100.$$

Novel Object Recognition (NOR): Discrimination Index Analysis

The experimental equipment was a [40 · 40 · 20 cm] white plastic open-field box. Initial habituation allowed each mouse to become familiar with the open field box for 15 minutes without an object. On the second day of training, each mouse was allowed to investigate the two equivalent objects in an open-field test [10 min.]. 90 minutes after training, one familiar object was replaced with a novel one, and the mice ran for 5 minutes while the time spent exploring each object was recorded. [12]. Formula for determining the recognition index:

$$[TB/(TA + TB) \cdot 100].$$

Object exploration was defined as active engagement with the object, which may involve using the nose and/or forepaws to smell or touch it. TA and TB represent the duration spent investigating familiar object A and novel object B, respectively [14].

Brain Tissue Collection and Biochemical Analysis

Immediately after the behavioural testing was finished, the animals were anesthetized and sacrificed, and the brains were promptly excised. One cerebral hemisphere was homogenized for biochemical analysis

after being rinsed with ice-cold phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.2–7.4) [15]. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were employed to evaluate oxidative stress markers, such as malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase-1 (SOD1), as well as proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, and TNF- α), in the resulting brain homogenates, in accordance with the manufacturers' protocols [16].

Statistical analysis

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) [Version 23] was utilized in order to do the analysis of the data. We reported the data as the mean plus or minus the standard deviation. For the purpose of statistical comparisons, the independent t-test and the one-way analysis of variance ANOVA were applied, and $p < 0.05$ was considered to be significant.

RESULTS

Both behavioural tests indicated significant findings. The Y-maze test showed a highly significant decline in spontaneous alteration in the scopolamine induction group compared to the control group ($p < 0.0001$). Conversely, the donepezil and combination groups (ranolazine + famotidine) showed significant increases in spontaneous alteration compared with the induction group ($p < 0.0001$ and $p < 0.0001$, respectively). However, no significant difference was observed compared with the control group. In the NOR test, the scopolamine induction group showed a substantial decrease in recognition index compared to the control group ($p < 0.0001$), whereas the donepezil and combination groups showed highly significant improvements over the induction group ($p < 0.0001$ and $p < 0.0001$, respectively) (Table 1).

Assessment of oxidative stress

The induction group showed a significant elevation in MDA levels and a decline in SOD1 compared to the control group (MDA: $p < 0.0001$; SOD1: $p < 0.0001$). In contrast, both the donepezil and the combination (ranolazine + famotidine) groups exhibited significant reductions in MDA levels and elevations in SOD1 levels compared with the induction group (MDA: $p < 0.0001$ and $p < 0.0001$, respectively; SOD1: $p = 0.016$ and $p < 0.0001$,

Table 1. Effects of famotidine and donepezil on behavioral tests

Groups	Y maze mean $\bar{A} \pm SD$	NOR mean $\bar{A} \pm SD$	p-values*
Control	66.58 $\bar{A} \pm 2.82$	63.58 $\bar{A} \pm 2.81$	–
Induction (scopolamine)	53.72 $\bar{A} \pm 4.3$	50.16 $\bar{A} \pm 4.0$	Y-maze: <0.0001 ; NOR: <0.0001
Donepezil	67.58 $\bar{A} \pm 4.0$	64.77 $\bar{A} \pm 5.35$	Y-maze: <0.0001 ; NOR: <0.0001
Ranolazine + Famotidine	64.35 $\bar{A} \pm 3.67$	61.1 $\bar{A} \pm 3.22$	Y-maze: <0.0001 ; NOR: <0.0001

Note. *Reconstructed pairwise t-test p-values ($n = 10/\text{group}$): induction was compared with control; donepezil and ranolazine + famotidine were each compared with induction. Statistically significant of independent t-test ($p < 0.05$).

Table 2. Effects of famotidine and donepezil on oxidative stress parameters

Groups	MDA (ng/ml)	SOD1 (ng/ml)	p-values*
Control	1.74Å ± 0.21	16.93Å ± 2.55	–
Induction (scopolamine)	2.57Å ± 0.29	10.87Å ± 2.32	MDA: <0.0001; SOD1: <0.0001
Donepezil	1.65Å ± 0.21	14.51Å ± 3.59	MDA: <0.0001; SOD1: 0.016
Ranolazine + Famotidine	1.9Å ± 0.14	16.03Å ± 1.74	MDA: <0.0001; SOD1: <0.0001

Note. *Reconstructed pairwise t-test p-values ($n = 10/\text{group}$): induction was compared with control; donepezil and ranolazine + famotidine were each compared with induction. Statistically significant of independent t-test ($p < 0.05$).

respectively). However, compared with the control group, these groups showed no statistically significant differences in MDA ($p = 0.35$ and $p = 0.06$, respectively) or SOD1 ($p = 0.1$ and $p = 0.37$, respectively) (Table 2).

Assessment of inflammatory cytokines

The induction group demonstrated markedly significant increases in IL-1 β , IL-6, and TNF α levels compared with the control group (TNF α : $p = 0.0002$; IL-1 β : $p = 0.0001$; IL-6: $p = 0.0004$). The donepezil and combination (ranolazine + famotidine) groups showed significant reductions in IL-1 β , IL-6, and TNF α levels compared to the induction group (TNF α : $p = 0.0001$ and $p = 0.0005$, respectively; IL-1 β : $p < 0.0001$ and $p < 0.0001$, respectively; IL-6: $p < 0.0001$ and $p < 0.0001$, respectively). Compared with the control group, the donepezil and combination groups showed no significant differences in TNF α ($p = 0.59$ and $p = 0.53$, respectively), IL-1 β ($p = 0.32$ and $p = 0.59$, respectively), or IL-6 ($p = 0.86$ and $p = 0.28$, respectively) (Table 3).

DISCUSSION

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disorder that is pervasive and causes significant distress for both patients and their families [17]. The precise pathophysiology of AD remains unknown, despite the increasing evidence that it is a complex disorder that is the result of multiple causes with distinct molecular targets. Thus, it is imperative to consider the early phases of neuroinflammation, oxidative stress, or synaptic dysfunction when developing a new medication [18].

The current study has employed scopolamine hydrochloride to promote memory impairment in a mouse model. The induction of dementia is a common practice in experimental models, such as Alzheimer's disease. Scopolamine-induced amnesia has been employed to assess the activity of medications in the experimental model of neurodegenerative conditions in an effort to find medicines that treat dementia, since it causes brain synapse loss and oxidative stress [19].

This present study tested cognitive performance (learning and memory) with the Y-maze and novel object recognition (NOR). Scopolamine (induction) groups showed reduced Y-maze activity, with fewer spontaneous alternations and fewer total arm entries than the control group, consistent with previous findings [20]. The NOR test showed that the scopolamine group's recognition index was significantly lower than that of the control group, suggesting learning and recognition impairment. Scopolamine, an anticholinergic that blocks muscarinic receptors, disrupted acquisition and short-term and long-term memory [21].

The new investigation confirmed prior findings that the brain's antioxidant defense mechanism had collapsed, as MDA levels were higher in the scopolamine group than in the control group [8]. The brain homogenate had considerably lower SOD1 than the control group. SOD1 is the most significant antioxidant, detoxifying superoxide anions that damage cell membranes via an enzymatic effect [22]. The increased MDA level and reduced SOD1 level in the neural homogenate of the induction group were the primary findings of the current study, confirming the oxidative stress state induced by scopolamine administration.

Table 3. Effects of famotidine and donepezil on inflammatory cytokines

Groups	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	p-values*
Control	130.77Å ± 18.32	693.56Å ± 150.18	156.45Å ± 39.04	–
Scopolamine	189.89Å ± 33.93	983.69Å ± 109.73	227.51Å ± 35.19	TNF: 0.0002; IL-1 β : 0.0001; IL-6: 0.0004
Donepezil	125.91Å ± 21.21	744.48Å ± 34.39	158.68Å ± 15.92	TNF: 0.0001; IL-1 β : <0.0001; IL-6: <0.0001
Ranolazine + Famotidine	135.8Å ± 17.54	726.72Å ± 119.73	141.28Å ± 17.56	TNF: 0.0005; IL-1 β : <0.0001; IL-6: <0.0001

Note. *Reconstructed ANOVA p-values ($n = 10/\text{group}$): scopolamine was compared with control; donepezil and ranolazine + famotidine were each compared with scopolamine. Statistically significant of independent t-test ($p < 0.05$).

Spatial memory and learning serve as indicators of the behavioral abnormalities and memory deficits induced by scopolamine. Scopolamine has been associated with elevated levels of acetylcholinesterase, oxidative stress, neuroinflammatory markers, interleukin-1 beta, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interferon in the brain, leading to significant cognitive dysfunction [23]. Neuronal injury is defined by the abnormal production of inflammatory cytokines, which precedes the progression of Alzheimer's disease. Earlier research has demonstrated that administering scopolamine to an experimental animal model significantly increased levels of neuroinflammatory markers, which, in turn, led to neuronal injury [20]. Muhammad et al. (2019) previously reported that scopolamine administration increased inflammatory mediators and neurotoxic cytokines, including IL-1 β , TNF- α , and IL-6. The present study has further demonstrated this [24].

Ranolazine markedly enhanced the recognition index and the average spontaneous alteration score, indicating its potential efficacy against scopolamine-induced cognitive impairment. The results of this investigation are consistent with those of Cassano et al. (2022), who demonstrated that rats administered metformin or ranolazine for an extended duration exhibited less cognitive deterioration [25].

Also, Cassano et al. (2022) found that ranolazine protects against cognitive decline in diabetic rats by preventing cognitive impairment (assessed by latency to access a dark compartment) and enhancing memory and cognition (as demonstrated by the NOR test). Ranolazine treatment in diabetic mice showed reduced inflammatory features, suggesting its potential to combat depression and cognitive impairment by lowering TNF- α and IL-6 levels [26].

In this study, ranolazine significantly reduced MDA and increased SOD1, demonstrating its antioxidant properties. These findings match earlier research. This study also showed that ranolazine reduces MTX-induced oxidative damage in cardiomyocytes. Reduced oxidative stress by lowering MDA activity, keeping CAT, TAC, and T-SH levels stable, and regulating HIF-1 α inflammatory pathway growth. Thus, ranolazine prevents oxidative injury and hypoxia [27].

The current findings demonstrated that ranolazine significantly decreased proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , and IL-6). Therefore, a study corroborates these findings, indicating that in diabetic rats, ranolazine markedly reduced the levels of proinflammatory cytokines, including TNF- α , IL-1 β , IL-6, p-IKK α , and NF- κ B in the hippocampal regions. The evidence for ranolazine derives from its ability to mitigate neurodegeneration of hippocampal neurons after the introduction of type 2 diabetes mellitus (T2DM) [28].

In primary astrocyte cultures, Aldasoro et al. (2016) found that ranolazine increased the production of Mn-SOD and Cu/Zn-SOD antioxidants and decreased the proinflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α . It also

increased PPAR- γ expression, an anti-inflammatory Receptor [29]. Ranolazine also reduced LDH and increased astrocyte survival and proliferation. Ranolazine may protect the central nervous system by boosting astrocyte survival, preventing necrosis and apoptosis, decreasing inflammation, and promoting antioxidant and anti-inflammatory effects. Astrocytes play a vital role in safeguarding neurons from oxidative and inflammatory damage. They do this through mitochondrial cell biogenesis [30].

The present study demonstrated famotidine significantly enhanced the measure of recognition and the mean number of unplanned changes, suggesting that the drug may confer a protective effect against scopolamine-induced cognitive impairment. The findings of the current study align with those of Unal et al. (2020), who showed that famotidine pretreatment mitigated ketamine's disruptive impact on sensorimotor gating in rodents and improved the recognition index in the NOR test. Moreover, administering famotidine alone to rats did not alter their memory performance [31].

A study by Nikiforuk et al. (2016) demonstrated that famotidine therapy corrected the majority of behavioral impairments involving visual recognition memory, learning and memory, and social performance in a rat model of schizophrenia-like behavior induced by ketamine. It proposed its molecular effects on the signaling pathways Akt/GSK-3 β -Catenin [32].

One case report found that a young patient's neuropsychiatric problems, which had emerged after COVID-19, were relieved by 20 mg of oral famotidine administered twice daily; the anti-inflammatory effect of famotidine was attributed to stimulation of the vagus nerve inflammatory reflex [33].

The results of the current investigation demonstrated that famotidine exhibited a substantial decline in MDA levels and a substantial increase in SOD1 levels, suggesting that it has potent antioxidant properties. These results align with the findings of Kurt et al. (2011), who demonstrated famotidine's preventive effect against ischemia-reperfusion-induced ovarian damage in rats by reducing an oxidative stress marker (MDA) and maintaining tGSH and SOD levels, suggesting that famotidine prevents a drop in enzymatic and nonenzymatic antioxidation levels [34].

In the present study, famotidine significantly reduced proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , and IL-6). This aligns with our results, as shown in the studies, that in severe viral infections such as COVID-19, famotidine has a potential role in reducing inflammation by lowering TNF- α and IL-6 and preventing a cytokine storm. Because it inhibits histamine synthesis, it might worsen immune responses and trigger a cytokine storm [35].

Furthermore, by stimulating the immunological response, famotidine stimulates the activity of specific immune cells, including T cells and natural killer cells. In SARS-CoV-2-infected cells, famotidine decreased the

levels of specific proteins involved in the NF- κ B, interferon, and TLR signaling pathways [6]. Another study indicated that famotidine could prevent cytokine storms and lower inflammatory biomarkers, including IL-6, TNF- α , ferritin, CRP, and procalcitonin, supporting our current findings [36].

CONCLUSION

The neuroprotective effect of the combination (ranolazine + famotidine) in response to scopolamine-induced Alzheimer's disease-like characteristics in a mouse model was a subject of the current study. The reason for this beneficial effect is likely that both drugs have substantial antioxidant and anti-inflammatory effects, albeit through distinct mechanisms of action, as demonstrated in the current study.

REFERENCES

1. Van der Schaar J., Visser L. N. C., Bouwman F. H., Ket J. C. F., Scheltens P., Bredenoord A. L., Van der Flier W. M. Considerations regarding a diagnosis of Alzheimer's disease before dementia: a systematic review. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2022;14(1):31. DOI: 10.1186/s13195-022-00971-3.
2. Uddin M. S., Kabir M. T., Rahman M. S., Behl T., Jeandet P., Ashraf G. M., Najda A., Bin-Jumah M. N., El-Seedi H. R., Abdel-Daim M. M. Revisiting the amyloid cascade hypothesis: from anti-A β therapeutics to auspicious new ways for Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(16):5858. DOI: 10.3390/ijms21165858.
3. Wu C.-K., Fuh J.-L. A 2025 update on treatment strategies for the Alzheimer's disease spectrum. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2025;88(7):495–502. DOI: 10.1097/JCMA.0000000000001252.
4. Caporlingua M., Castellano J., Quartarone A., Ciurleo R. Research on Alzheimer Disease in Italy: A Narrative Review of Pharmacological and Non-Pharmacological Interventions. *Neurology International*. 2025;17(12):196. DOI: 10.3390/neurolint17120196.
5. Bucan J. I., Braut T., Krsek A., Sotosek V., Baticic L. Updates in gastroesophageal reflux disease management: from proton pump inhibitors to dietary and lifestyle modifications. *Gastrointestinal Disorders*. 2025;7(2):33. DOI: 10.3390/gidisord7020033.
6. Mukherjee R., Bhattacharya A., Bojkova D., Mehdipour A. R., Shin D., Khan K. S., Cheung H. H.-Y., Wong K.-B., Ng W.-L., Cinatl J., Geurink P. P., van der Heden van Noort G. J., Rajalingam K., Ciesek S., Hummer G., Dikic I. Famotidine inhibits toll-like receptor 3-mediated inflammatory signaling in SARS-CoV-2 infection. *Journal of Biological Chemistry*. 2021;297(2):100925. DOI: 10.1016/j.jbc.2021.100925.
7. Malone R. W., Tisdall P., Fremont-Smith P., Liu Y., Huang X.-P., White K. M., Miorin L., Moreno E., Alon A., Delaforge E., Hennecker C. D., Wang G., Pottel J., Blair R. V., Roy C. J., Smith N., Hall J. M., Tomera K. M., Shapiro G., Mittermaier A., Kruse A. C., García-Sastre A., Roth B. L., Glasspool-Malone J., Ricke D. O. COVID-19: famotidine, histamine, mast cells, and mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:633680. DOI: 10.3389/fphar.2021.633680.
8. Yadang F. S. A., Nguézeye Y., Kom C. W., Betote P. H. D., Mamat A., Tchokouaha L. R. Y., Taiwé G. S., Agbor G. A., Bum E. N. Scopolamine-induced memory impairment in mice: neuroprotective effects of *Carissa edulis* (Forssk.) Valh (Apocynaceae) aqueous extract. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2020;2020(1):6372059. DOI: 10.1155/2020/6372059.
9. Sadiq M., Al-Zubaidy A. Neuroprotective Effect of Famotidine in Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Clinical Laboratory*. 2024;70(8). DOI: 10.7754/Clin.Lab.2024.240147.
10. Nazir N., Zahoor M., Nisar M., Karim N., Latif A., Ahmad S., Uddin Z. Evaluation of neuroprotective and anti-amnesic effects of *Elaeagnus umbellata* Thunb. On scopolamine-induced memory impairment in mice. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2020;20(1):143. DOI: 10.1186/s12906-020-02942-3.
11. Mooshekhian A., Sandini T., Wei Z., Van Bruggen R., Li H., Li X.-M., Zhang Y. Low-field magnetic stimulation improved cuprizone-induced depression-like symptoms and demyelination in female mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2022;23(3):210. DOI: 10.3892/etm.2022.11133.
12. Thongrong S., Surapinit S., Promsrisuk T., Jittiwat J., Kong-sui R. Pinostrobin alleviates chronic restraint stress-induced cognitive impairment by modulating oxidative stress and the function of astrocytes in the hippocampus of rats. *Biomedical Reports*. 2023;18(3):20. DOI: 10.3892/br.2023.1602.
13. Lee G.-Y., Lee C., Park G. H., Jang J.-H. Amelioration of scopolamine-induced learning and memory impairment by α -pinene in C57BL/6 mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017;2017(1):4926815. DOI: 10.1155/2017/4926815.
14. Batool Z., Sadir S., Liaquat L., Tabassum S., Madiha S., Rafiq S., Tariq S., Batool T. S., Saleem S., Naqvi F., Perveen T., Haider S. Repeated administration of almonds increases brain acetylcholine levels and enhances memory function in healthy rats while attenuates memory deficits in animal model of amnesia. *Brain Research Bulletin*. 2016;120:63–74. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2015.11.001.
15. Ping L., Duong D. M., Yin L., Gearing M., Lah J. J., Levey A. I., Seyfried N. T. Global quantitative analysis of the human brain proteome in Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Scientific Data*. 2018;5(1):180036. DOI: 10.1038/sdata.2018.36.
16. Samir S. M., Hassan H. M., Elmowafy R., ElNashar E. M., Alghamdi M. A., AlSheikh M. H., Al-Zahrani N. S., Alasiri F. M., Elhadidy M. G. Neuroprotective effect of ranolazine improves behavioral discrepancies in a rat model of scopolamine-induced dementia. *Frontiers in Neuroscience*. 2024;17:1267675. DOI: 10.3389/fnins.2023.1267675.
17. Scheltens P., De Strooper B., Kivipelto M., Holstege H., Chételat G., Teunissen C. E., Cummings J., van der Flier W. M. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 2021;397(10284):1577–1590. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
18. Marttinen M., Takalo M., Natunen T., Wittrahm R., Gabbouj S., Kemppainen S., Leinonen V., Tanila H., Haapasalo A., Hiltunen M. Molecular mechanisms of synaptotoxicity and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*. 2018;12:963. DOI: 10.3389/fnins.2018.00963.
19. Chen W. N., Yeong K. Y. Scopolamine, a toxin-induced experimental model, used for research in Alzheimer's disease. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*. 2020;19(2):85–93. DOI: 10.2174/1871527319666200214104331.
20. Nazir N., Al-Abbasi F. A., Afzal M., Nadeem M. S., Altayb H. N. Sterubin protects against chemically-induced Alzheimer's disease by reducing biomarkers of inflammation-IL-6/IL- β /TNF- α and oxidative stress-SOD/MDA in rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2023;30(2):103560. DOI: 10.1016/j.sjbs.2023.103560.

21. Zavala-Ocampo L. M., López-Camacho P. Y., Aguirre-Hernández E., Cárdenas-Vázquez R., Bonilla-Jaime H., Basurto-Islas G. Neuroprotective effects of Petiveria allia- cea on scopolamine-induced learning and memory impairment mouse model. *Journal of Ethnopharmacology*. 2024;318:116881. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116881
22. Rajashri K., Mudhol S., Serva Peddha M., Borse B. B. Neuro- protective effect of spice oleoresins on memory and cog- nitive impairment associated with scopolamine-induced Alzheimer's disease in rats. *ACS Omega*. 2020;5(48):30898– 30905. DOI: 10.1021/acsomega.0c03689.
23. Afzal M., Alzarea S. I., Alharbi K. S., Alzarea A. I., Alene- zi S. K., Alshammari M. S., Alquraini A. H., Kazmi I. Rosiridin attenuates scopolamine-induced cognitive impairments in rats via inhibition of oxidative and nitrative stress lead- ed caspase-3/9 and TNF- α signaling pathways. *Molecu- les*. 2022;27(18):5888. DOI: 10.3390/molecules27185888.
24. Muhammad T., Ali T., Ikram M., Khan A., Alam S. I., Kim M. O. Melatonin rescue oxidative stress-mediated neuroinflam- mation/neurodegeneration and memory impairment in scopolamine-induced amnesia mice model. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2019;14(2):278-294. DOI: 10.1007/s11481-018-9824-3.
25. Cassano V., Tallarico M., Armentaro G., De Sarro C., Ianno- ne M., Leo A., Citraro R., Russo E., De Sarro G., Hri- bal M. L., Sciacqua A. Ranolazine attenuates brain inflam- mation in a rat model of type 2 diabetes. *Internatio- nal Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(24):16160. DOI: 10.3390/ijms232416160.
26. Cassano V., Leo A., Tallarico M., Nesci V., Cimellaro A., Fio- rentino T. V., Citraro R., Hribal M. L., De Sarro G., Perti- cone F., Sesti G., Russo E., Sciacqua A. Metabolic and cog- nitive effects of ranolazine in type 2 diabetes mellitus: data from an in vivo model. *Nutrients*. 2020;12(2):382. DOI: 10.3390/nu12020382.
27. Doğan Z., Durmuş S., Ergun D., Gelişgen R., Uzun H. Rano- lazine exhibits anti-inflammatory and antioxidant acti- vities in H9c2 cardiomyocytes. *European Review for Me- dical and Pharmacological Sciences*. 2023;27:2953–2963. DOI: 10.26355/eurrev_202304_31927.
28. Lei M., Guo X., Yao Y., Shu T., Ren Z., Yang X., Ouyang C., Chen Q., Liu C., Liu X. Trelagliptin relieved cognitive impair- ment of diabetes mellitus rats: involvement of PI3K/Akt/ GSK-3 β and inflammation pathway. *Experimental Geronto- logy*. 2023;182:112307. DOI: 10.1016/j.exger.2023.112307.
29. Aldasoro M., Guerra-Ojeda S., Aguirre-Rueda D., Mauri- cio M. D., Vila J. M., Marchio P., Iradi A., Aldasoro C., Jor- da A., Obrador E., Valles S. L. Effects of ranolazine on astrocytes and neurons in primary culture. *PLoS ONE*. 2016;11(3):e0150619. DOI: 10.1371/journal.pone.0150619.
30. Barreto G. E., Gonzalez J., Torres Y., Morales L. Astrocy- tic-neuronal crosstalk: implications for neuroprotection from brain injury. *Neuroscience Research*. 2011;71(2):107–113. DOI: 10.1016/j.neures.2011.06.004.
31. Unal G., Aricioglu F. Famotidine improved schizophre- nia-like behaviors in acute ketamine model of schizophre- nia in rats. *Psychiatry and Behavioral Sciences*. 2020;10(2):45. DOI: 10.5455/PBS.20200330095749.
32. Nikiforuk A., Kos T., Hołuj M., Potasiewicz A., Popik P. Po- sitive allosteric modulators of alpha 7 nicotinic acetylcho- line receptors reverse ketamine-induced schizophrenia-li- ke deficits in rats. *Neuropharmacology*. 2016;101:389–400. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.07.034.
33. Alper K. Case report: famotidine for neuropsychiatric symp- toms in COVID-19. *Frontiers in medicine*. 2020;7:614393. DOI: 10.3389/fmed.2020.614393.
34. Kurt A., Isaoglu U., Yilmaz M., Calik M., Polat B., Hakan H., Ingec M., Suleyman H. Biochemical and histological inves- tigation of famotidine effect on postischemic reperfu- sion injury in the rat ovary. *Journal of Pediatric Surgery*. 2011;46(9):1817–1823. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.04.092.
35. Yang H., George S. J., Thompson D. A., Silverman H. A., Tsaava T., Tynan A., Pavlov V. A., Chang E. H., Anders- son U., Brines M., Chavan S. S., Tracey K. J. Famotidine activates the vagus nerve inflammatory reflex to attenuate cytokine storm. *Molecular Medicine*. 2022;28(1):57. DOI: 10.1186/s10020-022-00483-8.
36. Calabrese F., Pezzuto F., Fortarezza F., Hofman P., Kern I., Panizo A., von der Thüsen J., Timofeev S., Gorkiewicz G., Lunardi F. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of European Pulmonary Pathologists. *Virchows Archiv*. 2020;477(3):359-372. DOI: 10.1007/s00428-020-02886-6.

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

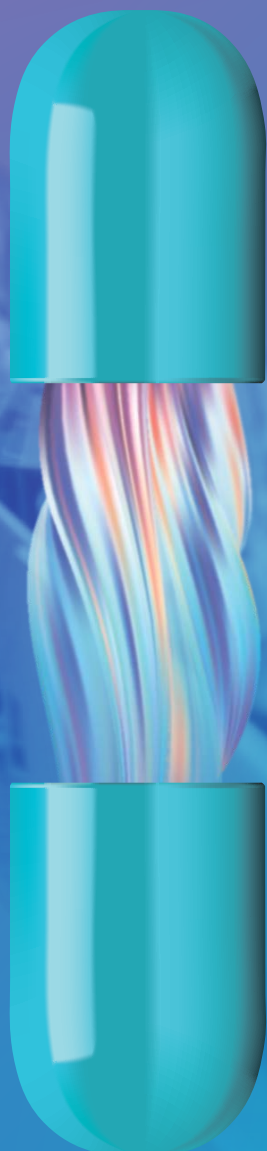


pharmtech-expo.ru

+7 495 799 55 85
pharmtech@ite.group



**ОРГАНИЗАТОР
ORGANISER**



ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

В своей редакционной политике журнал следует принципам целостности публикаций в научных журналах, соответствующим положениям авторитетных международных ассоциаций, таких как Committee on Publication Ethics (COPE), Council of Science Editors (CSE), International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), European Medical Writers Association (EMWA) и World Association of Medical Editors (WAME), устанавливающих стандарты этического поведения всех вовлеченных в публикацию сторон (авторов, редакторов журнала, рецензентов, издательства и научного общества). Журнал с помощью всестороннего, объективного и честного рецензирования стремится отбирать для публикации лишь материалы, касающиеся научных исследований наивысшего качества.

Научно-практический журнал общемедицинского профиля «Разработка и регистрация лекарственных средств» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты передовых исследований фармацевтической отрасли.

Журнал публикует оригинальные и обзорные научные статьи по темам:

- поиск и разработка новых лекарственных средств;
- фармацевтическая технология;
- методы анализа лекарственных средств;
- доклинические и клинические исследования;
- регуляторные вопросы.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», должно соответствовать науке:

- 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки, фармацевтические науки, биологические науки);
- 3.4.1. Промышленная фармацевтика и технология получения лекарств (фармацевтические науки);
- 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Публикуемые материалы должны соответствовать следующим критериям:

- Научная актуальность и значимость проблемы, которой посвящена статья (тематика статьи должна представлять интерес для широкого круга исследователей, занимающихся разработкой и регистрацией лекарственных средств).
- Высокая степень доказательности (современная исследовательская база, наличие сертификатов на оборудование, достаточный объем выборок и подходы к математической обработке результатов исследования).
- Концептуальный характер исследования (авторы не должны ограничиваться констатацией фактов, необходим анализ полученного материала с учетом данных литературы, должны быть высказаны новые идеи и гипотезы).

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

1. К рассмотрению принимаются материалы только в электронном виде, направленные в редакцию через систему на сайте в формате .doc или .docx (незащищенный формат файлов).
2. Рассматриваются только оригинальные материалы, ранее не публиковавшиеся и не нарушающие авторские права других лиц. Все статьи проходят проверку в системе «Антиплагиат»; уникальность текста статьи должна составлять не менее 75 %. При выявлении подобных текстов одного и того же автора в других печатных и электронных изданиях, статья снимается с публикации.
3. Согласно требованиям Высшей аттестационной комиссии, журнал отдает приоритет аспирантским и докторским работам, срок их публикации зависит от предполагаемой даты защиты, которую авторы должны указать в первичных документах, прилагаемых к рукописи.
4. Авторы должны заполнить и подписать Сопроводительное письмо, отсканировать и загрузить при подаче рукописи в редакцию (в формате *.pdf или *.jpg).

ПОРЯДОК ПУБЛИКАЦИИ РУКОПИСЕЙ

1. Рукопись обязательно проходит первичный отбор на соответствие оформления статьи согласно требованиям журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств». В случае несоответствия правилам оформления Редакция вправе отказать в публикации или прислать свои замечания к статье, которые должны быть исправлены Автором перед рецензированием.

2. Все рукописи, прошедшие первичный отбор, направляются по профилю научного исследования на экспертизу и проходят обязательное конфиденциальное рецензирование. Все рецензенты являются признанными специалистами, имеющими публикации по тематике рецензируемой статьи в течение последних 3 лет или в области обработки данных. Рецензирование проводится конфиденциально как для Автора, так и для самих рецензентов. При получении положительных рецензий работа считается принятой к рассмотрению редакционной коллегией, которая выносит решение, в каком номере журнала будет опубликована статья.

3. Все утвержденные статьи поступают в работу к редактору и корректору.

Окончательный макет статьи согласовывается с автором.

ЕДИНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РУКОПИСЯМ, ПРЕДСТАВЛЯЕМЫМ В ЖУРНАЛ «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Составлены с учетом требований Высшей аттестационной комиссии РФ и «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов.

Оригинальную версию «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов, можно посмотреть на сайте www.ICMJE.org

Проведение и описание всех клинических исследований должно быть в полном соответствии со стандартами CONSORT – <http://www.consort-statement.org>

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

Электронный вариант статьи прилагается в формате A4 Microsoft Word (*.doc), Поля 2 см, шрифт Times New Roman, размер шрифта 14 пунктов через 1,5 интервала.

Объем рукописи: обзор – 15–20 страниц; оригинальные статьи – 10–12 страниц, включая литературу, таблицы и подписи к рисункам. Страницы рукописи следует нумеровать.

Перечень документов, подаваемый на рассмотрение в редакцию журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», должен включать в себя:

1. Сопроводительное письмо.
2. Текст статьи.

1. СОПРОВОДИТЕЛЬНОЕ ПИСЬМО

Авторы должны предоставить заполненное и подписанное сопроводительное письмо, приложив к нему указанные в тексте письма документы.

2. РУКОПИСЬ

РУССКОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Титульный лист:

1. УДК;
2. название статьи;
3. фамилии и инициалы авторов;
4. полные названия учреждений (надстрочными арабскими цифрами отмечают соответствие учреждений, в которых работают авторы), полный почтовый адрес учреждений;
5. e-mail и телефон автора, ответственного за контакты с редакцией
6. ORCID всех авторов статьи.

Резюме и ключевые слова

Объем резюме должен составлять 250–300 слов.

Резюме оригинальной статьи должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Цель (цель работы в сжатой форме).

Материалы и методы (методы исследования, если необходимо, то указать их преимущества по сравнению с ранее применявшимися методическими приемами; характеристика материала).

Результаты (основные результаты исследования).

Заключение (основные выводы).

Резюме обзорной статьи также должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Текст (описание содержания текста статьи в сжатой форме)

Заключение (основные выводы).

Все аббревиатуры в резюме необходимо раскрывать (несмотря на то, что они будут раскрыты в основном тексте статьи). Текст резюме должен быть связанным, с использованием слов «следовательно», «например», «в результате».

На сайте британского издательства Emerald приведены примеры качественных рефератов для различных типов статей (обзоры, научные статьи, концептуальные статьи, практические статьи – <http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=2&PHPSESSID=hdac5rtkb73ae013ofk4g8nrv1>)

Ключевые слова: (5–8) помещают под резюме после обозначения «Ключевые слова». Ключевые слова должны использовать термины из текста статьи, определяющие предметную область и способствующие индексированию статьи в поисковых системах, и не повторять название статьи.

Вклад авторов. Авторы должны написать информацию о их вкладе в работу (пример: Авторы X1, X2 и X3 придумали и разработали эксперимент, авторы X4 и X5 синтезировали образцы и провели их электрохимическое исследование. X3 и X4 провели исследования методом спектроскопии комбинационного рассеяния и ЯМР. Авторы X1 и X6 участвовали в обработке данных. Автор X7 проводил теоретические расчеты. Авторы X1, X2 и X7 участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов).

АНГЛОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Article title

Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

Affiliation

Необходимо указывать официальное англоязычное название учреждения и почтовый адрес. Наиболее полный список названий учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: <http://elibrary.ru>

Образец оформления

Mental Health Research Institute
4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

Abstract

Резюме статьи на английском языке должно по смыслу и структуре (для оригинальной статьи: Introduction, Aim, Materials and methods, Results and discussion, Conclusion; для обзорной статьи: Introduction, Text, Conclusion) соответствовать русскоязычному, по содержанию может быть более полным. Необходимо использовать активный, а не пассивный залог. Во избежание искажения основных понятий желательно иметь соответствующие английские термины. Это особенно важно, когда приводятся названия особых заболеваний, синдромов, упоминаются авторы или конкретные методы.

Keywords

Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings (MeSH).

Contribution of the authors. Вклад авторов на английском языке должен соответствовать русскоязычному.

ОСНОВНОЙ ТЕКСТ

Оригинальные статьи должны иметь следующую структуру: а) введение; б) материалы и методы; в) результаты; г) обсуждение; д) заключение.

Обзорные статьи должны иметь следующую структуру а) введение; б) текст; д) заключение.

Текст обзорной статьи следует разделять на соответствующие содержанию статьи подразделы.

Должен быть переведен текст в таблицах и в рисунках. Текст должен быть и на русском, и на английском языках.

Введение

В разделе дается обоснование актуальности исследования и четко формулируется цель исследования.

Материалы и методы

Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии — группировочного или химического названия. Международные непатентованные названия фармацевтических субстанций и торговые наименования лекарственных средств необходимо оформлять в соответствии с Государственным реестром лекарственных средств (grls.rosminzdrav.ru). При описании в работе результатов клинических исследований необходимо привести номер и дату разрешения на проведение клинического исследования согласно Реестру выданных разрешений на проведение клинических исследований лекарственных препаратов.

При описании используемых общелабораторных реактивов следует приводить их наименование, класс чистоты, фирму-производителя и страну происхождения [пример: хлористоводородная кислота, х.ч. (Сигма Тек, Россия)]. При описании специфических импортных реактивов [пример: из каталога Sigma-Aldrich] необходимо дополнительно приводить каталожный номер реактива.

При описании исследуемых лекарственных средств необходимо приводить их торговое наименование, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: Синдронол таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой 4 мг, производства ФАРМАТЕН С.А., Греция, серия 1100638, срок годности до 05.2013].

При описании используемых стандартных образцов необходимо приводить количественное содержание активного вещества в стандартном образце, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: римантадина гидрохлорид, субстанция-порошок, содержание римантадина 99,9 %, Чжецзян Апелоа Кангю Фармацевтикал Ко.Лтд, Китай, серия KY-RH-M20110116, годен до 27.01.2016 г.].

При описании используемого аналитического оборудования необходимо указывать его название, фирму-производителя и страну происхождения [пример: прибор для теста «Растворение» DT-720 (Erweka GmbH, Германия)].

При описании используемого программного обеспечения необходимо указывать его название, версию, фирму-производителя, страну происхождения [пример: ChemStation (ver. B.04.03), Agilent Technologies, США].

При приведении в работе первичных данных аналитических исследований (спектров, хроматограмм, калибровочных графиков) их необходимо приводить в цвете, в прослеживаемом формате, с четкими, разборчивыми подписями осей, пиков, спектральных максимумов и т. д.). Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии – группировочного или химического названия.

Числовые данные необходимо указывать цифрами, в десятичных дробях использовать запятые. Математические и химические формулы писать четко, с указанием на полях букв алфавита (русский, латинский, греческий), а также прописных и строчных букв, показателей степени, индексов. К статье может быть приложено необходимое количество таблиц и рисунков. Все таблицы и рисунки должны иметь номер и название, текст статьи должен содержать ссылку на них.

Рукописи статей, в которых при достаточном объеме экспериментальных данных отсутствует статистический анализ, а также некорректно использованы или описаны применяемые статистические методы, могут быть отклонены редакцией журнала.

Необходимо давать определение всем используемым статистическим терминам, сокращениям и символическим обозначениям. Например: М – выборочное среднее; m – ошибка среднего; σ – стандартное квадратичное отклонение; p – достигнутый уровень значимости и т.д. Если используется выражение типа $M \pm m$, указать объем выборки n. Если используемые статистические критерии имеют ограничения по их применению, указать, как проверялись эти ограничения и каковы результаты проверок. При использовании параметрических критериев описывается процедура проверки закона распределения (например, нормального) и результаты этой проверки.

Точность представления результатов расчетных показателей должна соответствовать точности используемых методов измерения. Средние величины не следует приводить точнее, чем на один десятичный знак по сравнению с исходными данными. Рекомендуется проводить округление результатов (средних и показателей вариабельности) измерения показателя до одинакового количества десятичных знаков, так как их разное количество может быть интерпретировано как различная точность измерений.

Согласно современным правилам, рекомендуется вместо термина «достоверность различий» использовать термин «уровень статистической значимости различий». В каждом конкретном случае рекомендуется указывать фактическую величину достигнутого уровня значимости p для используемого статистического критерия. Если показатель может быть рассчитан разными методами и они описаны в работе, то следует указать, какой именно метод расчета применен (например, коэффициент корреляции Пирсона, Спирмена, бисериальный и т. п.).

Результаты и обсуждение

В разделе в логической последовательности представляются результаты исследования в виде текста, таблиц или рисунков (графики, диаграммы). Следует избегать повторения в тексте данных из таблиц или рисунков. В качестве альтернативы таблицам с большим числом данных используются графики. На графиках и диаграммах рекомендуется указывать доверительный интервал или квадратичное отклонение. На графиках обязательно должны быть подписи и разметка осей, указаны единицы измерений.

В разделе следует выделить новые и важные аспекты результатов проведенного исследования, проанализировать возможные механизмы или толкования этих данных, по возможности сопоставить их с данными других исследователей. Не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации и возможное применение полученных результатов в предстоящих исследованиях.

В обзорных статьях рекомендуется описать методы и глубину поиска статей, критерии включения найденных материалов в обзор.

Заключение

В разделе представляются сформулированные в виде выводов результаты решения проблемы, указанной в заголовке и цели статьи. Не следует ссылаться на незавершенную работу. Выводы работы должны подтверждаться результатами проведенного статистического анализа, а не носить декларативный характер, обусловленный общими принципами.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Указать наличие так называемого конфликта интересов, то есть условий и фактов, способных повлиять на результаты исследования (например, финансирование от заинтересованных лиц и компаний, их участие в обсуждении результатов исследования, написание рукописи и т. д.).

При отсутствии таковых использовать следующую формулировку: «Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи».

Источник финансирования

Необходимо указывать источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется. При отсутствии источника финансирования использовать следующую формулировку: «Авторы заявляют об отсутствии финансирования».

Соответствие принципам этики

Научно-исследовательские проекты с участием людей должны соответствовать этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все лица, участвующие в исследовании, должны дать информированное согласие на участие в исследовании. Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, подписывали ли участники исследования информированное согласие.

Научно-исследовательские проекты, требующие использования экспериментальных животных, должны выполняться с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

В обоих случаях необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, номера протокола и даты заседания комитета).

Благодарности

Все члены коллектива, не отвечающие критериям авторства, должны быть перечислены с их согласия с подзаголовком «Выражение признательности».

ССЫЛКИ В ТЕКСТЕ СТАТЬИ

В журнале применяется **ванкуверский стиль цитирования**: в списке литературы ссылки нумеруются в порядке упоминания в тексте (независимо от языка, на котором дана работа), а не по ал-

фавиту. Библиографические ссылки в тексте статьи обозначаются цифрами в квадратных скобках (ГОСТ Р 7.0.5-2008).

Библиографическая информация должна быть современной, авторитетной и исчерпывающей. Ссылки должны даваться на первоисточники и не цитировать один обзор, где они были упомянуты. Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Каждый научный факт должен сопровождаться отдельной ссылкой на источник. Если в одном предложении упоминается несколько научных фактов, после каждого из них ставится ссылка (не в конце предложения). При множественных ссылках они даются в порядке хронологии [5–9]. Необходимо убедиться в том, что все ссылки, приведенные в тексте, присутствуют в списке литературы (и наоборот).

Не следует ссылаться: на неопубликованные статьи, на диссертации, а также авторефераты диссертаций, правильнее ссылаться на статьи, опубликованные по материалам диссертационных исследований.

Следует избегать ссылок на тезисы и статьи из сборников трудов и материалов конференций, поскольку их названия по требованию зарубежных баз данных должны быть переведены на английский язык. Еще не опубликованные, но принятые к печати статьи указываются «в печати» или «готовится к выходу», с добавлением письменного разрешения автора и издательства.

Недопустимо самоцитирование, кроме случаев, когда это необходимо (в обзоре литературы не более 3–5 ссылок).

Документы (приказы, ГОСТы, медико-санитарные правила, методические указания, положения, постановления, санитарно-эпидемиологические правила, нормативы, федеральные законы) нужно указывать в скобках в тексте.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы под заголовком **Литература/References** размещается в конце статьи и включает библиографическое описание всех работ, которые цитируются в тексте статьи.

Библиографические списки составляются с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals). Правильное описание используемых источников в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают.

Учитывая требования международных систем цитирования, библиографические списки входят в англоязычный блок статьи и, соответственно, должны даваться не только на языке оригинала, но и в романском алфавите (латинскими буквами). Поэтому авторы статей должны представлять англоязычные источники латиницей, а русскоязычные – кириллицей и в романском алфавите. Транслитерируются фамилии авторов и русскоязычные названия источников (выделяется курсивом). Переводятся на английский язык названия статей, монографий, сборников статей, конференций с указанием после выходных данных языка источника (In Russ.). Название русскоязычных журналов в REFERENCES дается в *транслитерации, затем ставится знак = и дается английское название журнала* (не нужно самостоятельно переводить русское название журнала на английский язык, можно указать лишь ту версию названия на английском языке, которая, как правило, имеется на англоязычном сайте этого журнала. Если же ее нет, можно ограничиться транслитерацией).

Технология подготовки описания с использованием системы автоматической транслитерации и переводчика на сайте <http://www.translit.ru>

1. Войти на сайт translit.ru. В окошке «варианты» выбрать систему транслитерации BGN (Board of Geographic Names). Вставить в специальное поле ФИО авторов, название издания на русском языке и нажать кнопку «в транслит».
2. Копировать транслитерированный текст в готовящийся список.
3. Перевести с помощью переводчика Google название книги, статьи на английский язык, перенести его в готовящийся список. Перевод, безусловно, требует редактирования, поэтому данную часть необходимо готовить человеку, понимающему английский язык.
4. Объединить транслитерируемое и переводное описания, оформляя в соответствии с принятыми правилами.

5. В конце описания в круглых скобках указывается (In Russ.).

Образец оформления списка литературы

Литература/References

1. Литература

Насырова Р. Ф., Иванов М. В., Незнанов Н. Г. Введение в психофармакогенетику. СПб.: Издательский центр СПб НИПНИ им. В. М. Бехтерева; 2015. 272 с.

References

Nasyrova R. F., Ivanov M. V., Neznanov N. G. *Vvedenie v psikhofarmakogenetiku* [Introduction to psychopharmacogenetics]. St. Petersburg: Izdatel'skiy tsentr SPb NIPNI im. V. M. Bekhtereva; 2015. 272 p. (In Russ.).

2. Литература

Колесник А. П. Прогностическое значение экспрессии p53 у больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого. *Онкология*. 2013;15(1):20–23

References

Kolesnik A. P. Prognostic value of p53 expression in patients with early non-small cell lung cancer. *Onkologiya*. 2013;15(1):20–23. (In Russ.).

3. Литература

Шульженко М. Г., Василенко И. А., Уграк Б. И., Шохин И. Е., Медведев Ю. В., Малашенко Е. А. Сравнительный анализ методов определения подлинности субстанции-порошок «Даларгин». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):111–117 DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

References

Shulzhenko M. G., Vasilenko I. A., Ugrak B. I., Shohin I. E., Medvedev Yu. V., Malashenko E. A. Comparative analysis of methods for determining the authenticity of the substance – «Dalargin» inquiry. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):111–117. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

4. Литература/References

Üçok A., Gaebel W. Side effects of atypical antipsychotics: a brief overview. *World Psychiatry*. 2008;7(1):58–62. DOI: 10.1002/j.2051-5545.2008.tb00154.x.

5. Литература/References

Cornier M. A., Dabelea D., Hernandez T. L., Lindstrom R. C., Steig A. J., Nicole R. S., Van Pelt R. E., Wang H., Eckel R. H. The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*. 2008;29(7):777–822. DOI: 10.1210/er.2008-0024.

В библиографическом описании каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. Список литературы должен соответствовать формату, рекомендуемому Американской Национальной Организацией по Информационным стандартам (National Information Standards Organisation – NISO), принятому National Library of Medicine (NLM) для баз данных (Library's MEDLINE/PubMed database) NLM: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>.

Названия периодических изданий могут быть написаны в сокращенной форме в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine (NLM Catalog). Обычно эта форма написания самостоятельно принимается изданием; ее можно узнать на сайте издательства либо в списке аббревиатур Index Medicus. Если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название. Названия отечественных журналов сокращать нельзя. Недопустимо сокращать название статьи.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Монографии

Выходные данные указываются в следующей последовательности: фамилия и инициалы автора (авторов), название монографии (полностью раскрывая все слова), номер повторного издания, место издания (город), издательство, год издания, количество страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Соколова Г. Н., Потапова В. Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис; 2009. 328 с.

References

Sokolova G. N., Potapova V. B. *Kliniko-patogeneticheskie aspekty yazvennoy bolezni zheludka* [Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer]. Moscow: Anacharsis; 2009:328 p. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Jenkins P. F. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.

Статья из журнала

Выходные данные указываются в следующей последовательности: автор(ы) (фамилии и инициалы всех авторов). Название статьи. Название журнала (курсивом). Год; том (в скобках номер журнала): цифры первой и последней страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Шишкин С. В., Мустафина С. В., Щербак 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 предоставляемых библиографических данных авторы несут ответственность вплоть до отказа в праве на публикацию.

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ

Таблицы и рисунки должны быть представлены на русском и английском языках.

Таблицы

Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок на русском и английском языке и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию.

Ссылки на таблицы в тексте обязательны. Для сноски применяется символ *. Если используются данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, должно быть полностью приведено его название.

Рисунки

Все рисунки (диаграммы, фотографии) нумеруются. В тексте должна быть ссылка на соответствующий рисунок.

Каждый рисунок должен сопровождаться подписью на русском и английском языках. В подписях не должно быть аббревиатур. Внутрисуточные обозначения подписываются цифрами или латинскими буквами.

Если рисунки ранее уже публиковались, необходимо указать оригинальный источник, представить письменное разрешение на их воспроизведение от держателя прав на публикацию.

Список подписей рисунков на русском и английском языках размещается в конце статьи.

Рисунки представляются отдельными файлами в формате *.tif, *.jpg, *.cdr, *.ai, с разрешением не менее 300 dpi.

Каждый файл именуется по фамилии первого автора и номеру рисунка.



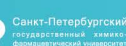
gotoipheb.ru | +7 921 330 6218



Международная выставка и форум по фармацевтике и биотехнологиям

6–8 апреля 2027 | Санкт-Петербург

Поддержка:



Организатор:



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**

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**

Периодичность выхода
журнала **4 раза в год**

Партнер ключевых
мероприятий отрасли

Распространяется
бесплатно

Мы в Telegram



По вопросам сотрудничества
info@pharmjournal.ru
info@chpa.ru