WWW.PHARMJOURNAL.RU

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

RESEARCH & PRODUCTION JOURNAL

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

ВНЕСЕН В ПЕРЕЧЕНЬ
Российский центр научной информации
Scopus®

ГРУППА КОМПАНИЙ Лабконцепт ЛФИ LABINVENT ГОСМЕТР

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ ЖИДКОСТНЫЙ ХРОМАТОГРАФ LicArt 62

LICART art of chromatography

500+ поставленных и запущенных хроматографов

2 года гарантии с возможностью расширения

2026 год полноценной локализации производства основных блоков хроматографа в РФ

Новинка!

Автодозаторы с прямым механизмом дозирования (flow-through needle / split-loop)

Санкт-Петербург +7 (812) 327-37-00 lc@labconcept.ru labconcept.ru

INFO@PHARMJOURNAL.RU

Том 15, № 3. 2026
Volume 15, No. 3. 2026

ЦФА | центр фармацевтической аналитики

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

Посетить сайт:

ЦЕНТР ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ АНАЛИТИКИ

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

ПОЧЕМУ МЫ?

ЛИДЕР ОТРАСЛИ 2023

СЕРТИФИКАТЫ

Первая в России биоаналитическая лаборатория, сертифицированная по GLP

СОВРЕМЕННОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Все исследования выполняются на современном проверенном оборудовании

ОПЫТ

100+ исследований выполняются ежегодно

ЛУЧШИЕ СПЕЦИАЛИСТЫ

В составе лаборатории работают 30+ сотрудников

WWW.PHARMJOURNAL.RU

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

РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Научно-производственный журнал

2026. Том 15, № 3

DRUG DEVELOPMENT & REGISTRATION

Research & production journal

2026. Volume 15, No. 3

Разработка и регистрация лекарственных средств

Научно-производственный журнал

Цели и задачи журнала

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

Первый раздел посвящен поиску и разработке новых лекарственных средств.

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

Третий раздел описывает аналитические методики контроля качества.

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

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

Главный редактор

Шохин И. Е. – д-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 Лулумбы», 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 товароведения 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, Москве, 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 ФБГОУ 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

Пожарицкая 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 фармации Медицинского института непрерывного образования, ФГБОУВО «РОСБИОТЕХ». Врач – Клинический фармаколог ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» имени Н. А. Семашко», Москва, Россия
Русинов В. Л. – чл. корр. РАН, д-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 технологи ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия
Смехова И. Е. – доц., профессор кафедры технологии лекарственных форм ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», Санкт-Петербург, Россия
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 технологи 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	31.08.2026
Копирайт	© Авторское право на статьи. Авторы, 2026 © Оригинал-макет, оформление, составление, редактирование. Разработка и регистрация лекарственных средств, 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 CC BY 4.0
Цена	Свободная

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

Drug development & registration

Research & production journal

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, Moscowskiy Trakt, Tomsk, 634050, Russia
Online version founders	**LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA")** Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia
Publisher	**LLC "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA")** Address: room 1/1, 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia
Journal director	Natalia V. Kuldjanova
Managing Editor	Nadezhda S. Mikhaylova
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	31.08.2026
Copyright	© Articles copyright. Authors, 2026 © Original layout, compilation, design, editing. Drug development & registration, 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 (CC BY 4.0)
Price	Free

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

СОДЕРЖАНИЕ

От редакции 10

Поиск и разработка новых лекарственных средств

Изучение анальгетического потенциала 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов на модели поведенческой ноцицепции
О. О. Сенокосова, Д. Г. Дианова, В. Д. Бояршинов, В. Л. Гейн, О. В. Долгих 30

Лекарственные грибы и их место в фармакопейных монографиях разных стран (обзор)
С. В. Денисов, М. Т. Ханды, М. Н. Повыдыш 38

Фитохимический профиль биомассы борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) как основа для рационального использования
Т. В. Бомбела, Е. С. Сурбеева, К. Е. Якушина, Е. В. Вишняков, И. И. Тернинко, С. В. Кривощеков, М. В. Белоусов, В. Г. Лужанин 51

Фармацевтическая технология

Вопросы изучения кинетики высвобождения лекарственных средств из имплантатов, формируемых *in situ* (обзор)
П. С. Сахарова, Н. О. Белявский, Е. О. Бахрушина 64

Современные подходы к разработке лекарственных форм паклитаксела: проблемы и перспективы (обзор)
А. С. Баразова, С. В. Овсиенко, Н. А. Беседина, А. Ю. Савченко, А. Я. Хайменов 86

Выживаемость бифидобактерий в альгинат-хитозановых микрокапсулах с инулином при моделировании условий желудочно-кишечного тракта
П. А. Андрюшков, А. Л. Марченко, Т. Ф. Черных, Б. Г. Буденштейн 99

Определение пространства дизайна и нормального рабочего диапазона параметров процесса получения очищенного экстракта конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян
А. А. Полещук, В. В. Сорокин, И. Е. Каухова, М. Д. Медведева, Л. Ю. Александрова, А. В. Сауц 107

Технология OROS как инженерный подход к контролируемому высвобождению лекарственных веществ (обзор)
М. Ю. Гадаев, А. Л. Марченко, М. С. Панов 119

Гелевые и гидрогелевые повязки с антибактериальными и репаративными свойствами на основе материалов животного сырья: фармацевтико-технологические и регистрационные аспекты (обзор)
Н. С. Холопов, А. Е. Суханов, В. В. Сепп, К. С. Бакулин, Е. Д. Кубасова 134

Сравнительное изучение адгезивных свойств трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом методом зондирования липкости
К. Д. Якимов, У. В. Ногаева, Д. С. Гордеева, Р. И. Мустафин, Е. В. Флисюк 153

Методы анализа лекарственных средств

Определение средней молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР
Н. Е. Кузьмина, С. В. Моисеев, В. А. Евтеев, Н. Д. Бунятян, А. Б. Прокофьев 162

Использование метода поляризационно-флуоресцентного иммуноанализа для оценки содержания ацетохлора в лекарственном растительном сырье
М. А. Пашкова, Д. Цзычен, Л. И. Мухаметова, С. А. Еремин, Ю. В. Медведев, С. В. Кареева, Г. В. Раменская, С. М. Филимонова 170

Стандартизация жидких водных и водно-спиртовых извлечений из цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.)
А. Д. Дунилин, О. В. Тринеева 180

Изучение биологически активных веществ в траве Бакопа Монье (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием
О. С. Лаврова, Д. О. Боков, И. В. Гравель 195

Изучение аминокислотного состава сырья остролодочника волосистого (*Oxytropis pilosa* (L.) DC.), произрастающего на территории Саратовской области
Л. В. Караваева, У. А. Матвиенко, А. М. Полуянов, Н. А. Дурнова 207

Доклинические и клинические исследования

Результаты клинического исследования фазы I с участием здоровых добровольцев нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы
В. В. Быков, П. Д. Юдина, В. В. Ларченко, В. В. Кашталап, А. В. Быкова, А. Е. Алифоренко, К. Е. Кожуховский, С. А. Станкевич, Е. В. Ефимова, Т. П. Калашникова, И. В. Кулагина, А. И. Венгеровский, В. А. Хазанов 218

Сравнительная нефропротективная эффективность производных малоновой кислоты (этмабена и малобена) при ишемически-реперфузионном повреждении почек у крыс
А. Ю. Гришина, Ю. Э. Генералова, А. С. Иванов, И. А. Титович, Д. Ю. Ивкин 227

Экспериментальная оценка высоких доз L-орнитина L-аспартата при неалкогольном стеатогепатите и его внепеченочных осложнениях
В. А. Приходько, Т. М. Матузок, К. С. Дорощук, А. А. Федорова, В. Е. Карев, А. С. Самарич, В. Е. Кованcков, Е. А. Карелина, Н. А. Муравьева, М. О. Пятченков, А. Г. Марков, С. В. Оковитый 241

Безопасность противоопухолевого лекарственного средства на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины (доклинические исследования)
Е. В. Кулигина, Д. И. Ржевский, А. Н. Мурашев, Г. В. Кочнева, О. А. Коваль, В. А. Рихтер 256

Регуляторные вопросы

Подходы к оценке экологического воздействия лекарственных средств (обзор)
А. В. Головин, Н. В. Пятигорская, С. А. Лосева, Ж. И. Аладышева, О. А. Зырянов, М. Г. Гринин 271

Материалы конференций 286

Исправления 316

CONTENTS

Introduction 10

Research and development of new drug products

Study of the analgesic potential of 5-aryl-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones in a behavioral nociception model
Olga O. Senokosova, Dina G. Dianova, Vitaly D. Boyarshinov, Vladimir L. Gein, Oleg V. Dolgikh 30

Medicinal mushrooms and their place in pharmacopoeial monographs from different countries (review)
Sergei V. Denisov, Maria T. Khandy, Maria N. Povydysh 38

Phytochemical profile of *Heracleum sosnowskyi* Manden. biomass as a basis for rational use
Tatyana V. Bombela, Elizaveta S. Surbeeva, Karolina E. Yakushina, Evgeniy V. Vishnyakov, Inna I. Terninko, Sergei V. Krivoshchekov, Mikhail V. Belousov, Vladimir G. Luzhanin 51

Pharmaceutical Technology

Issues of studying drug release kinetics from *in situ* forming implants (review)
Polina S. Sakharova , Nikita O. Belyavskiy , Elena O. Bakhrushina 64

Current approaches to paclitaxel formulation development: challenges and future perspectives (review)
Anastasiia S. Barazova, Sergey V. Ovsienko, Nadezhda A. Besedina, Alla Yu. Savchenko, Alexander Ya. Khaymenov 86

Survival of bifidobacteria in alginate-chitosan microcapsules with inulin under simulated gastrointestinal conditions
Pavel A. Andryushkov, Alexei L. Marchenko, Tatiana F. Chernykh, Boris G. Budenshtein 99

Determination of design space and normal operating range of process parameters to produce purified *Aesculus hippocastanum* L. seed extract
Anastasiya A. Poleshchuk, Vladislav V. Sorokin, Irina E. Kaukhova, Mariya D. Medvedeva, Lubov Yu. Aleksandrova, Artur V. Sauts 107

OROS technology as an engineering approach to controlled drug release (review)
Murtuzali Yu. Gadaev, Alexei L. Marchenko, Maxim S. Panov 119

Gel and hydrogel dressings with antibacterial and reparative properties based on animal-derived materials: pharmaceutical-technological and regulatory aspects (review)
Nikita S. Kholopov, Anton E. Sukhanov, Vladimir V. Sepp, Konstantin S. Bakulin, Elena D. Kubasova 134

Comparative study of the adhesive properties of transdermal patches with trans-resveratrol using the probe tack test
Kirill D. Yakimov, Uljana V. Nogaeva, Daria S. Gordeeva, Rouslan I. Moustafine, Elena V. Flisyuk 153

Analytical Methods

Determination of the weight average molecular weight of methacrylic acid copolymers by diffusion-ordered NMR spectroscopy
Natalia E. Kuz'mina, Sergey V. Moiseev, Vladimir A. Evteev, Natalia D. Bunyatyan, Alexey B. Prokofiev 162

Application of fluorescence polarization immunoassay for acetochlor determination in medicinal plant material
Maria A. Pashkova, Diao Zicheng, Liliya I. Mukhametova, Sergey A. Eremin, Yuri V. Medvedev, Sofya V. Kareeva, Galina V. Ramenskaya, Svetlana M. Filimonova 170

Standardization of liquid aqueous and aqueous-alcoholic extracts from *Aesculus hippocastanum* L. flowers
Aleksandr D. Dunilin, Olga V. Trineeva 180

Study of biologically active substances in *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. herb (aerial parts) by ultra-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection
Olga S. Lavrova, Dmitry O. Bokov, Irina V. Gravel 195

Study of the amino acid composition of raw material of *Oxytropis pilosa* (L.) DC., growing in the Saratov region
Ludmila V. Karavaeva, Uliana A. Matvienko, Andrey M. Poluyanov, Natalya A. Durnova 207

Preclinical and clinical study

Results of a phase I clinical trial of a new soluble guanylate cyclase stimulator in healthy volunteers
Vladimir V. Bykov, Polina D. Yudina, Valentin V. Larchenko, Vasilii V. Kashtalap, Arina V. Bykova, Anastasia E. Aliforenko, Kirill E. Kozhukhovsky, Sergey A. Stankevich, Elena V. Efimova, Tatiana P. Kalashnikova, Irina V. Kulagina, Alexander I. Vengerovskii, Veniamin A. Khazanov 218

Comparative nephroprotective efficacy of malonic acid derivatives (etmaben and maloben) in renal ischemia-reperfusion injury in rats
Anna Yu. Grishina, Julia E. Generalova, Artem S. Ivanov, Irina A. Titovich, Dmitry Yu. Ivkin 227

Experimental evaluation of high-dose L-ornithine L-aspartate in nonalcoholic steatohepatitis and its extrahepatic complications
Veronika A. Prikhodko, Tatyana M. Matuzok, Ksenia S. Doroshchuk, Arina A. Fedorova, Vadim E. Karev, Alexey S. Samarich, Vladislav E. Kovanskov, Ekaterina A. Karelina, Nina A. Muraveva, Mikhail O. Pyatchenkov, Alexander G. Markov, Sergey V. Okovityi 241

Safety of an antitumor drug based on the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact (preclinical studies)
Elena V. Kuligina, Dmitry I. Rzhevsky, Arkady N. Murashev, Galina V. Kochneva, Olga A. Koval, Vladimir A. Richter 256

Regulatory Issues

Approaches to assessing the environmental impact of pharmaceuticals (review)
Aleksei V. Golovin, Nathalia V. Pyatigorskaya, Sofia A. Loseva, Zhanna I. Aladysheva, Oleg A. Zyryanov, Maxim G. Grinin 271

Conference Proceedings 286

Erratums 316

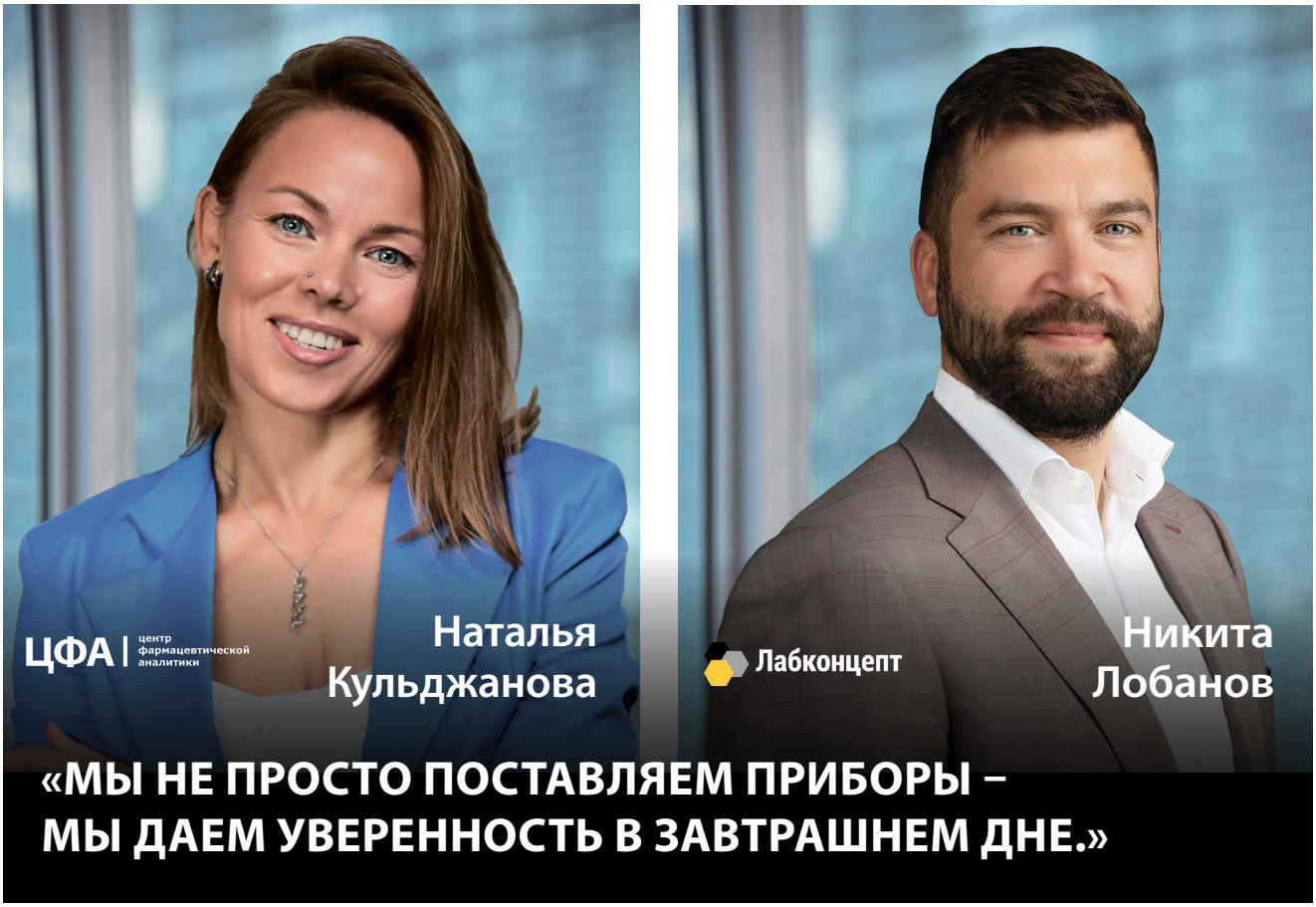
Редакционная статья / Editorial article

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 fields of biotechnology and immunoprophylaxis.



В рамках проекта «Мнение лидеров» мы пообщались с **Никитой Васильевичем Лобановым**, учредителем ГК «Лабконцепт». Рынок аналитического лабораторного оборудования в России переживает тектонические сдвиги: уход западных брендов, расцвет параллельного импорта, жесткие требования фармацевтики и курс на импортозамещение. ГК «Лабконцепт» – один из игроков, который не просто адаптируется к новым условиям, а создает продукт нового поколения. О том, как компания с 30-летней историей превратилась в производителя российских ВЭЖХ-систем, почему сервис важнее цены и что ждет рынок в ближайшие годы – рассказал в своем интервью **Никита Васильевич**.

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

Центральная тема выпуска – стратегия ГК «Лабконцепт» в условиях трансформации рынка: от дистрибуции к локализации производства, развитию сервисной экосистемы и созданию российского жидкостного хроматографа LicArt как ответ на вызовы времени и запросы фармацевтической отрасли.

Наталья Кульджанова: ***ГК «Лабконцепт» – известный и хорошо зарекомендовавший себя поставщик лабораторного оборудования, однако, история образования ГК «Лабконцепт» нетриви-***

альна – расскажите об этом и о том, чем ГК «Лабконцепт» выделяется на фоне других поставщиков?

Никита Лобанов: Если судить по открытым источникам, ООО «Лабконцепт» – одна из самых молодых компаний данного профиля и масштаба деятельности на рынке. Может возникать вопрос о нашем дебюте и высокой активности на отраслевых мероприятиях и в общем маркетинговом поле. Однако никакой конспирологии и чудес нет: наша история началась около 30 лет назад, а основная команда и структурная часть знакомы многим еще по названиям «Аналит» и «Госметр». «Аналит», будучи крупнейшим дистрибьютором японского производителя аналитического оборудования Shimadzu, был широко известен на рынке и заработал добрую репутацию благодаря квалифицированной сервисной поддержке, собственной действующей лаборатории и профессиональной, отзывчивой и клиентоориентированной команде. После 2021 года «Аналит» из-за наложенных на него точечных санкций претерпел реорганизацию и значительно нарастил свои возможности благодаря созданию единой группы с другим крупным игроком лабораторного рынка – «НПП Госметр», профилирующимся на разработке и производстве лабораторных весов I и II классов точности.

Наличие развитых производственных и инженерных возможностей можно выделить в качестве первого, но не единственного фактора, который выделяет нас на фоне большинства конкурентов в РФ. Кроме этого, я бы выделил наши возможности по оказанию комплексной поддержки по любому вопросу, связанному с аналитическим оборудованием из портфолио группы компаний. Мы стараемся следить за всеми этапами поставки и эксплуатации прибора и готовы поддержать пользователей в самых неожиданных ситуациях. Работа с «Лабконцепт» организована так, что достаточно позвонить, представиться и описать общие вводные (задача и желаемый результат), все остальное сделают наши специалисты. При этом под специалистами я подразумеваю не только менеджера отдела продаж, хотя контакт с компанией, как правило, начинается именно с этого отдела. Все сотрудники, занимающиеся подбором и продажей оборудования, имеют высшее профильное химическое или биологическое образование, некоторые имеют кандидатские степени, также почти половина штата данного отдела в прошлом работала в действующих лабораториях разного профиля. Кроме менеджеров по продажам, это наши сервисные инженеры, осуществляющие запуск, обслуживание и первичный инструктаж пользователей, а главное – методисты из собственной лаборатории, готовые провести не только углубленное обучение, но и адаптацию или постановку пользовательских методик на поставляемом оборудовании. Такой комплексный подход – от подбора, поставки и запуска до фактического начала работы специалистами заказчика под кураторством и при поддержке нашей лаборатории – является стандартом работы ГК «Лабконцепт». Для тех, кто в рамках реальной деятельности сталкивался с выбором и приобретением дорогостоящего оборудования и его дальнейшим обслуживанием, диагностикой, ремонтом, очевидно, что поддержку такого уровня не может или не хочет обеспечить практически никто на рынке аналитического оборудования России. Говоря о других отличительных особенностях, можно упомянуть собственную профильную IT-компанию, отдельную лабораторию в Москве, занимающуюся аутсорсинговыми исследованиями для фармацевтического сектора, и сотрудничество с рядом ведущих университетов и институтов Академии наук.

В качестве короткой справки: в настоящий момент ГК «Лабконцепт» имеет представительства и сервисные центры в восьми городах России, собственные действующие аналитические лаборатории в Санкт-Петербурге и Москве, аккредитованный учебный центр (с лицензией от Министерства образования), крупнейшую в стране сервисную службу, большой склад оборудования, расходных материалов и запасных частей, собственное производство с отделом контроля качества и IT-компанию. Всего в штате группы компаний работает более 190 человек.

Наталья Кульджанова: ***Сегодня на рынке аналитического оборудования продолжают сосуществовать зарубежные, китайские и российские производители. Как вы оцениваете текущую ситуацию? Изменился ли характер спроса?***

Никита Лобанов: Характер спроса не поменялся, тут все крайне просто: как и обычно, покупатель хочет выбрать надежные и качественные приборы за минимальные деньги, что, разумеется, не всегда возможно, но с уверенностью можно предположить, что никогда не изменится. Если серьезно, то предложение на рынке за последние четыре года претерпело по-настоящему существенные изменения (что можно сказать не только про рынок аналитического оборудования, но и про большинство сфер деятельности в стране). Покупатель столкнулся с неизвестными марками, неизвестными торгующими компаниями, что не может не пугать и не вносить сумятицы. Любое новое и незнакомое всегда воспринимается не таким удобным, сложным, по сравнению с проверенным, а на деле чаще всего просто привычным, старым. Когда к подобному, вполне объяснимому паттерну добавляются какие-то объективные недоработки или недостатки, то «вообще тушите свет».

Нельзя не сказать о текущем параллельном импорте, который достаточно свободно и, местами бесконтрольно попадает в нашу страну. Прежде все-

го хотелось бы напомнить, что любой «серый» прибор (в отношении Agilent, Shimadzu, Waters и др.) – это в первую очередь отказ производителя от гарантийной поддержки, что влечет вполне реальные и значительные риски инцидентов, способных вызвать не только эпизодические простои оборудования в случае поломки, но и полный выход его из строя. Кроме того, за прошедшее время значительная часть приборов известных мировых фирм обновилась, вышли новые модели, а старые сняты с производства. Это несет дополнительные издержки на внесение в ГРСИ, но самое главное – иногда частичное, а иногда уже и почти полное отсутствие ответственного и компетентного сервиса как такового. Поддержку лицензированного программного обеспечения, долгие сроки поставки, стоковые и бывшие в употреблении приборы под видом новых с разных заграничных складов неликвида, которые без гарантии поставляются в Россию, уже и говорить не стоит. Можно с уверенностью сказать, что параллельный импорт сейчас – это «кот в мешке»: строя на его основе бизнес-конструкты, можно, конечно, и выиграть, но шанс потерять и для поставщика, и для конечного заказчика – не иллюзорный.

Как и к любому вопросу, к покупке оборудования необходимо подходить грамотно и не верить на слово. Есть несколько факторов, которые необходимо оценивать при выборе оборудования: качество сборки, в том числе качество и надежность комплектующих; доступность на российском рынке (касается как прибора, так и расходных материалов к нему); качество сервиса и методической поддержки; понятное, современное программное обеспечение и, на сегодня главное, с возможностью обновлений; возможность выбора, то есть подбор комплектации по цене, по решению поставленной задачи, по возможности дооснащения в будущем.

Одно из самых главных здесь – доверие к поставщику и верификация его реальных возможностей. Для того чтобы быть уверенным в завтрашнем дне, сегодня важно знать не только то, ЧТО ты покупаешь, но и у КОГО ты покупаешь. Все перечисленные факторы хорошо работают только в совокупности. И чтобы вы могли окончательно убедиться в грамотной работе нашей команды, мы сейчас активно предлагаем возможность бесплатной апробации. То есть не только посещение нашей лаборатории и испытание нескольких образцов, а полноценный запуск прибора на площадке пользователя, обучение и возможность работы в течение определенного периода времени (обычно это 1–3 месяца). По результатам апробации пользователь вправе выкупить прибор или отказаться от него. Все, что мы просим взамен, – реальный отчет или отзыв об опыте работы на предоставленной технике.

Наталья Кульджанова: ***Давайте перейдем к чуть более частным вещам, какие наиболее актуальные продукты вы бы выделили сейчас для фармацевтической отрасли?***

Никита Лобанов: Я могу судить только с точки зрения аналитической лаборатории: сейчас самым востребованным и популярным оборудованием, конечно, остаются жидкостные хроматографы.

Для ГК «Лабконцепт» сам жидкостный хроматограф LicArt 62 является одной из наиболее продаваемых позиций. При этом полное портфолио группы компаний, конечно, включает практически весь спектр оборудования для фармацевтических лабораторий, будь то оборудование для электрохимии или молекулярной спектроскопии, или простые тестеры растворения. У нас регулярно добавляется и новая продукция, к примеру, не так давно мы стали официальными дистрибьюторами компании Boxun, которая 30 лет специализируется на производстве лабораторных решений по контролю температуры, влажности, освещенности и биологической стерилизации в области наук о жизни.

Практически с любым оборудованием возможно ознакомиться «вживую» и при необходимости предоставить свои образцы для пробного анализа. К нам довольно часто обращаются не только по вопросам жидкостной хроматографии, но и по газохроматографическому анализу, представленному в нашей лаборатории газовым хроматографом EXPEC G-Chrom 2306 с различными детекторами и приставками, включая масс-спектрометрический детектор, и газовым хромато-масс-спектрометром типа «тройной» квадруполь EXPEC G-Chrom MS.

Наталья Кульджанова: ***Какие задачи сегодня наиболее часто ставят перед вами фармацевтические лаборатории при выборе новой ВЭЖХ-системы?***

Никита Лобанов: В первую очередь это надежность любой системы, которую покупает фармацевтическая лаборатория. Зачастую у лаборатории довольно много задач и очень мало времени, что в сочетании с молодыми и не всегда опытными операторами приводит к плохому уходу за оборудованием. При этом иногда довольно сложно объяснить, почему даже для приборов, таких как аналитические весы, требуется уход (обслуживание, настройка и эксплуатация в правильных условиях). Почти всегда дело упирается в соблюдение простых правил эксплуатации и в небольшой набор несложных пользовательских операций по уходу за техникой, что при правильной организации процесса занимает совсем немного времени, но, к сожалению, не всегда на местах этому уделяют внимание.

Поэтому, хоть перед нами и ставят высокие требования по отказоустойчивости, их выполнение зависит не только от нас. Мы, как и другие участни-

ки рынка, сталкиваемся с такого рода сложностями. Именно поэтому к нашим приборам сразу же в комплекте мы поставляем и регулярно обновляем различные вспомогательные материалы и целый набор удобных видеоинструкций по регламентному уходу и обслуживанию. Кроме того, у нас есть специальные краткие памятки и таблички с важной информацией, сделанные нашими инженерами, где описано, как и с какой периодичностью необходимо выполнять ту или иную процедуру по обслуживанию.

Помимо составляющих, непосредственно связанных с железом, существует еще довольно много требований к ПО, ведь именно с ПО непосредственно сталкивается оператор в своей повседневной работе. Это объемный пункт, думаю, его мы сможем обсудить далее.

Здесь стоит в очередной раз напомнить про нашу лабораторию и возможность обучения. Для лабораторий, сталкивающихся с кадровым голодом, это более чем актуально. При этом речь идет не только о теоретических курсах (безусловно, это тоже востребовано и важно), но и об обучении работе на конкретном приборе и конкретном программном обеспечении, что бывает необходимо не только для начинающего оператора.

Наталья Кульджанова: ***Как вы уже обозначали, помимо поставки и производства оборудования ГК «Лабконцепт» активно развивает направление сервисной и методической поддержки. Насколько сегодня эти компетенции важны для конечного пользователя?***

Никита Лобанов: На мой взгляд, это не просто важно, это – один из главных вопросов, на который стоит обращать внимание при выборе поставщика.

Про методическую поддержку я успел упомянуть ранее, так что остановлюсь на сервисной. ГК «Лабконцепт» располагает сервисной службой с разными локациями по всей стране для наиболее быстрого реагирования и, как следствие, более бюджетного решения для пользователей. Превалирующая часть инженеров в свое время обучалась на заводе Shimadzu, а часть хорошо знакома и обучена на технике компании Agilent, так что, переходя на новое оборудование, мы одни из первых позаботились о системном и постоянном обучении наших сервис-инженеров. Все они уже побывали на заводах-производителях в Китае, обучаясь различным нюансам по запуску и диагностике, и, более того, регулярно обновляют свои навыки.

Крупные фармацевтические (и не только) заводы зачастую имеют в своем штате инженеров для обслуживания оборудования, поэтому наличие сервисной службы у поставщика для них хоть и важный, но, как может показаться на первый взгляд, несколько скомпенсированный собственными возможностями фактор. С моей точки зрения, такой подход при очевидных плюсах несет и массу рисков. Иногда возникают сложные поломки, которые требуют диагностики, полноценной связи с производителем и дальнейшего ремонта. Глубокий уровень владения материалом могут обеспечить только узкопрофильные специалисты. Подобное сложно и накладно организовывать в рамках производственных предприятий, но весьма органично и экономически оправдано для компаний такого профиля, как «Лабконцепт». Развивая тему поломок далее, любой простой оборудования влечет остановку или ограничение производства (или его части), а это всегда сопровождается финансовыми потерями. Быстрое реагирование на ситуацию, быстрый ремонт – это всегда экономия и уверенность в планировании.

Подытожу: необходимо помнить, что для быстрой диагностики и ремонта требуются запасные части. Они всегда будут в наличии у вас или абстрактного поставщика параллельного импорта? Для нашей продукции – будут.

Наталья Кульджанова: ***Недавно ГК «Лабконцепт» объявила о запуске производства ключевых модулей ВЭЖХ LicArt в России. Как вы пришли к этой идее и какой у вас дальнейший план действий?***

Никита Лобанов: С августа 2022 года по нынешний момент поставлено и запущено в эксплуатацию уже более 450 жидкостных хроматографов LicArt 62. Нам пора менять наши баннеры и рекламную продукцию, так как мы стремительно приближаемся к 500 запущенным машинам. Наши хроматографы установлены и работают на предприятиях различной направленности, среди них: фармацевтические производства (более половины введенного в эксплуатацию приборного парка), лаборатории экологического контроля, исследовательские и учебные учреждения, нефтехимические и химические заводы, а также многие другие.

В центре внимания нашей компании всегда была не просто поставка приборов, но и полноценное сервисное и методическое сопровождение предлагаемых решений. В составе блоков ВЭЖХ LicArt 62 изначально использовались качественные и надежные комплектующие, в том числе некоторые производимые ранее зарубежными брендами. По мере быстрого роста числа отгрузок, пусконаладок и, как следствие, количества приборов, введенных в активную эксплуатацию у наших пользователей, нам удалось выявить определенное количество слабых мест, которые мы старались максимально оперативно устранять.

Например, мы столкнулись с тем, что камеры дегазации Systec, для которых нормальный срок эксплуатации составляет три года, выходили из строя в 1,5–2 раза раньше. Разбираясь с этим, нашли конкретный изъян и заменили поставщика камер на более бюджетный и доступный вариант без снижения качества конечного продукта. Также в прошлом году

была улучшена конструкция клапанов насосов, с которыми наблюдались некоторые проблемы с залипаниями. Сейчас таких вопросов больше не возникает, а попутно увеличен срок их службы при активной эксплуатации, и сегодня данный узел не уступает аналогам от известных мировых брендов.

Практика постоянного внесения возможных улучшений в прибор была принята нами в качестве долгосрочного стратегического подхода к продукту с момента его выпуска на рынок. Сегодня мы можем со всей уверенностью говорить, что линейка хроматографов LicArt 62 постоянно совершенствуется и дополняется, с каждым годом повышается общая стабильность, отказоустойчивость, надежность и возможности ВЭЖХ-системы. Для нас также естественным и обязательным моментом является поддержка пользователей, которые приобрели наш продукт до его обновления или модификации, всеми новинками, которые улучшили работу прибора. Приведу примеры:

- При выходе обновлений нашего программного обеспечения, которые могут быть востребованы у того или иного пользователя, мы бесплатно предоставляем новую версию ПО.
- В прошлом наш диодно-матричный детектор, при том что он всегда имел вполне пристойные технические характеристики, не справлялся с некоторыми методиками. Всего их было 6–8 % от общего объема задач, и связано это, как правило, с исследованием микропримесей в различных субстанциях. Мы значительно улучшили характеристики данного детектора (часть решений была разработана непосредственно в РФ нашими инженерами), после чего всем пользователям нашей техники, которым не хватало чувствительности при работе или даже просто казалось, что на новой гипотетической методике ее может не хватить, мы бесплатно модифицировали данный блок. Мы будем так поступать и впредь со всей нашей техникой.

Теперь о самом важном: с конца 2024 года на базе собственной производственной площадки «Госметра» мы начали разрабатывать собственные блоки для дооснащения прибора, а именно весовой модуль контроля расхода растворителей, а впоследствии и модуль постколоночной деривативации, который уже готов, ставится на производство и является на текущий момент не только самым современным, но и более чем в полтора раза доступнее по цене решением для оборудования такого типа на рынке РФ.

Нам нравится заниматься нашим продуктом, и с учетом требований непростого времени и наличия у нас крупного спектра возможностей производство ключевых модулей ВЭЖХ в России стало единственно логичным путем развития LicArt.

Сейчас на базе «Госметра» организована отдельная производственная площадка, уже обучено достаточное количество сотрудников (в том числе на фабриках у наших китайских партнеров), собраны первые блоки. Уже в сентябре 2026 года мы планируем завершить подготовительный этап и направить пакет документов для начала процедуры внесения в реестр отечественной промышленной продукции Минпромторга.

Наталья Кульджанова: ***Расскажите подробнее, какие ключевые модули и компоненты готовятся к производству в России, а главное, будет ли чем-то российский прибор отличаться от китайского?***

Никита Лобанов: На старте мы решили сосредоточиться на производстве основных блоков, без которых жидкостный хроматограф существовать не может в принципе, и взяли в проработку насосы всех типов (изократический, бинарный и четвертичный), термостаты и два наиболее универсальных и востребованных детектора – спектрофотометрический и диодно-матричный, причем спектрофотометрический детектор сразу в двух исполнениях: одно- и двухволновом. Именно для этих блоков мы планируем и можем в России производить крайне значительный процент компонентов: полноценную пайку печатных плат, частично оптику и такие узкопрофильные изделия, как сапфировые плунжеры, и подавляющую часть металлических изделий, в том числе самых сложных деталей насосов, например карданного валика. В стране будут производиться и наши собственные автодозаторы, однако в первое время процент российских комплектующих в них будет меньше, чем в остальных узлах, и это сознательное решение, связанное с некоторыми временными экономическими аспектами, а также с общей стратегией развития продукта на ближайшие два года. При этом отечественные комплектующие в них тоже будут, и со временем их количество возрастет, также на нашей стороне полноценная сборка и настройка данного блока в РФ. Для начала производства уже подготовлено около 90 % конструкторской документации: описаны и отрисованы компоненты для насосов, термостата и одного из детекторов, к сентябрю этого года, как уже говорилось, закончим со вторым и окончательно приведем в порядок все технологические карты. Также к концу третьего квартала мы ожидаем получить первые партии деталей с контрактных производств в РФ и в октябре соберем 3–4 хроматографа уже по постоянной технологии, можно сказать серийно, а не «на коленке», как всегда происходит с предсерийными образцами.

В дальнейшем, когда производство ранее названных блоков будет полностью отлажено, мы планируем сделать упор на усовершенствовании имеющихся компонентов и разработке собственных ВЭЖХ-блоков и модификаций. Мы имеем к этому и юридиче-

скую возможность, включая права на интеллектуальную собственность по всем нашим модификациям, и компетенции.

Наталья Кульджанова: ***Сегодня многие считают, что отечественное аналитическое оборудование уступает зарубежному. Действительно ли это так? Насколько вы уверены в качестве российского ВЭЖХ LicArt?***

Никита Лобанов: Да, действительно, у многих давно сформировалось устойчивое общее мнение о том, что все зарубежное по определению имеет лучшее качество, чем произведенное в нашей стране. Понятно, почему, например, еще 10–12 лет назад такая точка зрения активно транслировалась и поддерживалась не без участия поставщиков зарубежного оборудования, которое долгое время доминировало на отечественном рынке. Но и тогда, и тем более сейчас в России были и есть достаточно крепкие производители. Да, по большей части, выпускаемое оборудование нельзя назвать передним краем мировой техники, но для 85–90 % задач в стране такого уровня и не нужно, а уверенно закрыть превалирующую часть рутины и даже заметный сегмент в разработках на отечественных приборах в целом ряде областей можно без ущерба для дела или снижения производительности труда оператора.

Локализация производства и развитие нашего ВЭЖХ в качестве вектора были выбраны нами по следующим причинам: в отличие, например, от газовой хроматографии, производство жидкостных хроматографов в РФ было и остается относительно слабо развитым, а более или менее объемный рынок для данного типа приборов в России есть. Мы уверены, что именно наше оборудование может и станет лучшим российским ВЭЖХ и хотя, не сможет выйти в мировые передовики, но гарантированно перекроет весь средний и наиболее массовый уровень задач в стране, став отличным продуктом для широкого круга пользователей. Я абсолютно не сомневаюсь как в полезности такого действия с точки зрения постепенного импортозамещения, так и в коммерческом успехе данной идеи, что важно не только из-за личного стяжательства, но и потому, что любой бизнес должен оставаться именно бизнесом и зарабатывать, не стагнировать годами, а иметь возможность развиваться и модернизироваться, для чего нужны инвестиции.

Подводя итог, дополнительно сообщу, что у нас уже собрано несколько предсерийных отечественных систем, которые успешно прошли спецификационные тесты и работают в лабораториях по несколько месяцев, одна уже порядка полугода. Они ни в чем не уступают хроматографам, выходящим из крупноузловой сборки, в их последней технической ревизии и со всеми модернизациями. Мы можем уверенно сказать, что LicArt российского производства получается прибором очень достойного качества уже на старте, и дальше мы будем стремиться сделать его еще лучше.

Наталья Кульджанова: ***Программное обеспечение является важной частью любого оборудования. Каким ПО будет оснащаться российский LicArt? Будет ли программное обеспечение соответствовать всем требованиям фармацевтической отрасли?***

Никита Лобанов: В первую очередь мы делаем ставку на ПО, которое разрабатывает наша IT-компания, расположенная в Минске. Это сетевое программное обеспечение Space CDS – о нем мы много рассказываем, поэтому этот продукт уже достаточно известен. Оно позволяет полноценно управлять хроматографом и обрабатывать результаты, доступно в сетевой и одиночной версиях, а также может заменить нативное ПО ВЭЖХ ряда других производителей.

Также важно, что Space CDS – ПО нашего собственного производства, в нем нет заимствованных зарубежных компонентов, соответственно, оно отлично подходит для предприятий, максимально ориентированных на отечественное оборудование.

Что касается фармацевтической отрасли – Space CDS было разработано с учетом рекомендаций основных регламентов GxP, GAMP и CFR (в части требований к электронным записям и подписям) и, соответственно, оснащено всеми средствами, необходимыми для обеспечения целостности данных в лаборатории.

Другие варианты ПО на выбор пользователя также будут доступны и внесены в ГРСИ с нашим российским хроматографом.

Наталья Кульджанова: ***Насколько сложным оказался перенос производства аналитического оборудования в Россию? Какие компетенции для этого потребовались?***

Никита Лобанов: Непростым, конечно, но другого ни я, ни коллектив и не ожидали. Пришлось проделать действительно большую и недешевую работу: после весьма сложных переговоров и итогового согласия от наших технологических партнеров в Китае углубленно обучить достаточное количество специалистов по сборке и тестированию оборудования и разработке, заняться конструкторской документацией, которая хоть и была нам частично передана согласно заключенному соглашению, но требовала большой адаптации и огромного числа доработок. Также мы практически с нуля разрабатывали техпроцесс по производству ряда компонентов у наших контрактных партнеров в России, что было обусловлено существенными отличиями в парке оборудования у нас и в Китае. Необходимо было подготовить собственный участок для полноценной сборки, настройки конечных изделий и производства некоторых элементов, которые мы решили не переносить на контрактные площадки.

Поскольку у нас уже есть похожий, и даже более широкий опыт с весовым оборудованием, да и по части хроматографии у нас собрана очень сильная команда специалистов, данный объем работ мы смогли осилить за весьма разумные сроки. Могу сказать, что с момента начала всех согласований до настоящего времени мы еще ни разу не выбились из графика, намеченного более года назад.

Наталья Кульджанова: ***Помимо ВЭЖХ, какие планы у вас именно по развитию производства, и готовится ли какое-то еще оборудование к локализации в РФ?***

Никита Лобанов: Пока основной фокус у нас именно на ВЭЖХ. Наладить серийное производство основных блоков – в первую очередь. Затем у нас уже намечен план по модификации и выпуску новых дополнительных блоков.

В дальнейшем, если ситуация в стране позволит, мы бы смотрели в сторону производства ионных хроматографов или полупрепаративных систем. Также, отвлекаясь от хроматографии, у нас есть планы по развитию модельной линейки весового оборудования и, возможно, началу локализации еще некоторых аналитических приборов, но пока я воздержусь от озвучивания на широкую аудиторию данных планов. Речь идет про 2028–2029 годы, не ранее.

Наталья Кульджанова: ***Многие сейчас говорят, что рынок аналитического лабораторного оборудования вступил в кризис. С вашей точки зрения, насколько эти явления могут затронуть ГК «Лабконцепт» и какие вообще перспективы для рынка и своей компании вы видите в ближайшие годы?***

Никита Лобанов: Мы замечаем общее падение рынка, начавшееся в середине прошлого года и активно набирающее обороты сейчас. Это объясняется сложившейся внешнеполитической ситуацией. Сейчас время непростое для большинства субъектов экономической деятельности, однако мы рассчитываем пройти его с минимальными потерями и пока не пожертвовали ни одним из важных для нас проектов развития. Могу ответственно заявить, что на текущий момент объективное сокращение спроса во всех областях для нашей группы компаний хоть и имеет место быть, но в ощутимо меньшем масштабе, чем в среднем по рынку. Мы постараемся сделать все возможное, чтобы данная тенденция сохранилась, однако всерьез загадывать, где мы будем лет через пять, я бы сейчас воздержался. Надеемся на лучшее и делаем все, что зависит от нас, чтобы именно оно и наступило.

Мнение Лидеров®

Рекламная статья / Sponsored article

Определение стероидных соединений и тритерпеновых гликозидов в экстрактах морских иглокожих методом ВЭЖХ-МС/МС с применением хроматографа LicArt 62 в качестве front-end-системы

Лабконцепт

Авторы подготовили статью при финансовой поддержке компании ООО «Лабконцепт»

Полярные стероидные соединения морских звезд и тритерпеновые гликозиды голотурий представляют собой уникальные классы биологически активных вторичных метаболитов, обладающих значительным структурным разнообразием и широким спектром биологических эффектов. Для исследования сложных смесей этих природных соединений был применен метаболомный подход с использованием ВЭЖХ-МС/МС. Хроматографическое разделение проводили на жидкостном хроматографе LicArt 62, соединенном с квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром Bruker Impact II Q-TOF. В результате анализа экстракта морской звезды *Lethasterias fusca* было обнаружено более 350 соединений, а экстракта голотурии *Eupentacta fraudatrix* – более 550 соединений.

Описанное ниже исследование проводилось в лаборатории ТИБОХ ДВО РАН.

Determination of steroid compounds and triterpene glycosides in marine echinoderm extracts by HPLC-MS/MS using the LicArt 62 chromatograph as a front-end system

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

Polar steroid compounds from starfish and triterpene glycosides from sea cucumbers represent unique classes of biologically active secondary metabolites characterized by considerable structural diversity and a broad range of biological effects. A metabolomics approach based on HPLC-MS/MS was applied to investigate complex mixtures of these natural compounds. Chromatographic separation was performed using a LicArt 62 HPLC coupled to a Bruker Impact II Q-TOF quadrupole time-of-flight mass spectrometer. More than 350 compounds were detected in the *Lethasterias fusca* starfish extract and more than 550 compounds were detected in the *Eupentacta fraudatrix* sea cucumber extract.

The study described below was conducted at the laboratory of the G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry (PIBOC).

Полярные стероидные соединения морских звезд и тритерпеновые гликозиды голотурий представляют собой уникальные классы биологически активных вторичных метаболитов, отличающихся необычным химическим строением и широким спектром биологических эффектов, в их числе существенное ингибирование образования опухолевых клеток.

Характерной особенностью метаболома морских звезд является высокое содержание стероидных соединений, обладающих значительным структурным разнообразием. К ним относятся стероидные гормоны, свободные стерины, а также полярные стероидные соединения, в том числе полигидроксистероиды, родственные им моно-, би- и более редкие триозиды, гликозиды с циклическими углеводными цепями и олигогликозиды, известные как астеросапонины.

Тритерпеновые гликозиды голотурий также характеризуются уникальными химическими структурами, существенно отличающимися от тритерпеновых гликозидов наземных растений. Эти соединения проявляют широкий спектр биологических и фармакологических свойств, включая цитотоксическую, противогрибковую, бактерицидную, гемолитическую, противовирусную активность и другие свойства. Некоторые гликозиды способны индуцировать апоптоз, ингибировать рост опухолевых клеток, а также проявлять иммуномодулирующие свойства.

Поскольку экстракты морских звезд и голотурий представляют собой чрезвычайно сложные смеси природных соединений, различающихся по химическому строению, физико-химическим свойствам и содержанию в исходном биологическом материале,

традиционный подход к исследованию таких объектов с целью поиска биологически активных веществ основан на последовательном выделении индивидуальных соединений из суммарных экстрактов с использованием различных хроматографических методов с последующим установлением химической структуры при помощи комплекса физико-химических методов. Такой подход позволяет надежно определить строение выделенных соединений и провести детальное изучение их биологической активности. Однако его применение часто ограничено сложностью получения индивидуальных веществ в количестве и чистоте, достаточных для полноценной структурной характеристики и биологических испытаний.

Альтернативный подход к исследованию сложных смесей биологически активных природных соединений основан на применении масс-спектрометрических методов для идентификации, структурной аннотации и сравнительного анализа как известных, так и ранее не описанных метаболитов.

Такой тип исследований особенно эффективен при анализе многокомпонентных природных экстрактов, поскольку дает возможность одновременно регистрировать широкий спектр соединений, включая минорные компоненты, которые могут быть труднодоступны для выделения классическими препаративными методами. Кроме того, данные масс-спектрометрии высокого разрешения и тандемной масс-спектрометрии позволяют устанавливать молекулярные формулы, выявлять диагностические фрагментные ионы, определять структурно родственные группы соединений и проводить предварительную аннотацию новых метаболитов на основе их масс-спектрометрического поведения.

С целью изучения химического состава и установления структурных особенностей ранее неизвестных вторичных метаболитов был применен метаболомный подход для анализа суммарных фракций полярных стероидных соединений, включая свободные полигидроксистероиды, родственные им гликозиды и астеросапонины из морской звезды *Lethasterias fusca* и тритерпеновые гликозиды голотурии *Eupentacta fraudatrix*.

Несмотря на то что результаты метаболомных исследований во многом зависят от характеристик и возможностей самого масс-детектора, не менее важно, чтобы соединенная с МСД front-end хроматографическая система обеспечивала должное качество разделения компонентов, достаточную воспроизводимость дозирования образцов и хорошую точность установки потока элюента. Помимо этого, необходимо, чтобы ВЭЖХ обеспечивал длительную бесперебойную работу без снижения качества результатов во времени.

В данной серии экспериментов использовался высокоэффективный жидкостный хроматограф LicArt 62 в следующей комплектации: четвертичный градиентный насос QP-62dn, автосамплер с термостатированием образцов S-103dc, термостат с охлаждением T-85C. Прибор был предоставлен институту (ТИБОХ ДВО РАН) компанией «Лабконцепт» в рамках долгосрочного сотрудничества зимой 2026 года. За прошедшее время хроматограф успешно прошел апробацию в реальных исследованиях различных биологических объектов и продемонстрировал хорошую совместимость с масс-спектрометрами как высокого, так и низкого разрешения.

Для исследований, описанных в данной статье, LicArt 62 был соединен с квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром Bruker Impact II Q-TOF. Хроматографическое разделение выполняли на колонке Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, 2,1 × 150 мм, 1,9 мкм, с предколонкой Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, 2,1 × 5 мм, 1,9 мкм (Agilent Technologies, США) (рисунок 1).

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Визуализация системы LicArt 62 с квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром Bruker Impact II Q-TOF

Figure 1. Visualization of the LicArt 62 system coupled with a Bruker Impact II Q-TOF quadrupole time-of-flight mass spectrometer

Семь свежих особей голотурии *Eupentacta fraudatrix* массой 3,9 ± 1,3 г были измельчены и трижды экстрагированы этанолом общим объемом 0,5 л. Полученные экстракты фильтровали, упаривали досуха и перерастворяли в 15 мл этанола. Аликвоту экстракта объемом 200 мкл центрифугировали, после чего супернатант подвергали твердофазной экстракции. Для ТФЭ использовали картриджи Bond Elut C18,

100 мг/1 мл (Agilent Technologies, США), сорбент кондиционировали 3 мл этанола, затем 3 мл воды. Аликвоту экстракта объемом 100 мкл наносили на картридж по каплям. После нанесения образца картридж промывали 1 мл воды. Гликозиды элюировали 1 мл 100%-го этанола. Полученные элюаты упаривали досуха, растворяли в 500 мкл 80%-го метанола в воде (об./об.) и использовали для последующего анализа.

Пять свежевыловленных особей морской звезды *Lethasterias fusca* со средней сырой массой 151 ± 97 г были измельчены и подвергнуты трехкратной экстракции этанолом общим объемом 1,5 л. Полученные этанольные экстракты фильтровали, объединяли и упаривали в вакууме. Высушенный экстракт подвергали жидкостно-жидкостной экстракции с использованием системы растворителей хлороформ : метанол : вода (8 : 4 : 3) с целью получения очищенной фракции полярных стероидных соединений. После диспергирования смесь встряхивали на шейкере в течение 20 мин и центрифугировали 15 мин при 1400 об/мин. Аликвоту верхней фазы объемом 100 мкл отбирали и повторно экстрагировали смесью $CHCl_3$/MeOH/H_2O, доводя конечный объем до 1600 мкл. После центрифугирования верхнюю фазу вновь отбирали в объеме 400 мкл, высушивали в вакуумном центрифужном концентраторе и перерастворяли в 150 мкл 50%-го метанола. Для обессоливания полученную фракцию подвергали твердофазной экстракции. Картридж Bond Elut C18, 100 мг/1 мл (Agilent Technologies, США), кондиционировали 3 мл ацетонитрила, затем 3 мл 0,1%-й муравьиной кислоты в воде. Аликвоту экстракта объемом 100 мкл наносили на картридж ТФЭ. Затем картридж промывали 0,5 мл 0,1%-й муравьиной кислоты. Полярные стероидные соединения элюировали 1 мл 100%-го ацетонитрила. Полученную фракцию высушивали, растворяли в 500 мкл 80%-го метанола в воде (об./об.) и использовали для последующего анализа.

В качестве подвижных фаз использовали 0,1%-й муравьиной кислоты в воде + 5 мМ NH_4FA (элюент А) и 0,1%-й муравьиной кислоты в 98%-м ацетонитриле + 5 мМ NH_4FA (элюент В). Градиентное элюирование проводили по следующей программе:

0,0 мин – 15 % В,
5,0 мин – 30 % В,
30,0 мин – 75 % В,
33,0 мин – 100 % В,
38,0 мин – 100 % В,
38,5 мин – 15 % В,
50,0 мин – 15 % В.

Хроматографическое разделение проводили при скорости потока 0,4 мл/мин и температуре колонки 45 °С. Объем вводимой пробы составлял 3 мкл.

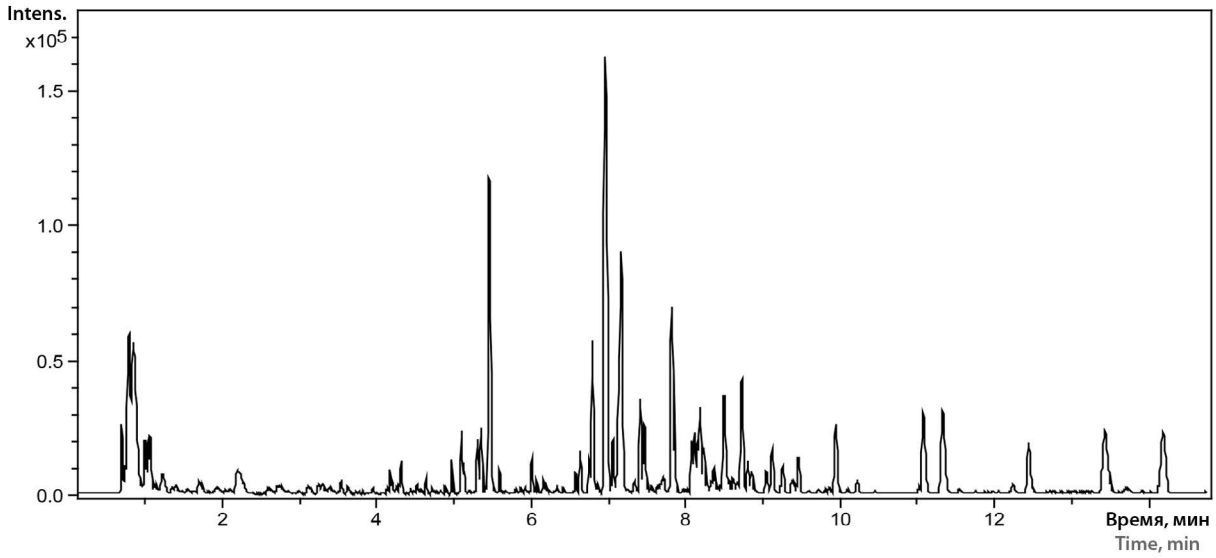


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Хроматограмма по ионному току основного компонента, полученная в режиме регистрации отрицательных ионов, экстракта полярных стероидных соединений морской звезды *Lethasterias fusca* (получена с использованием хроматографа LicArt 62, соединенного с квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром Bruker Impact II Q-TOF)

Figure 2. Base peak chromatogram of the polar steroid compound extract of the starfish *Lethasterias fusca*, acquired in negative ion mode using a LicArt 62 HPLC coupled to a Bruker Impact II Q-TOF quadrupole time-of-flight mass spectrometer

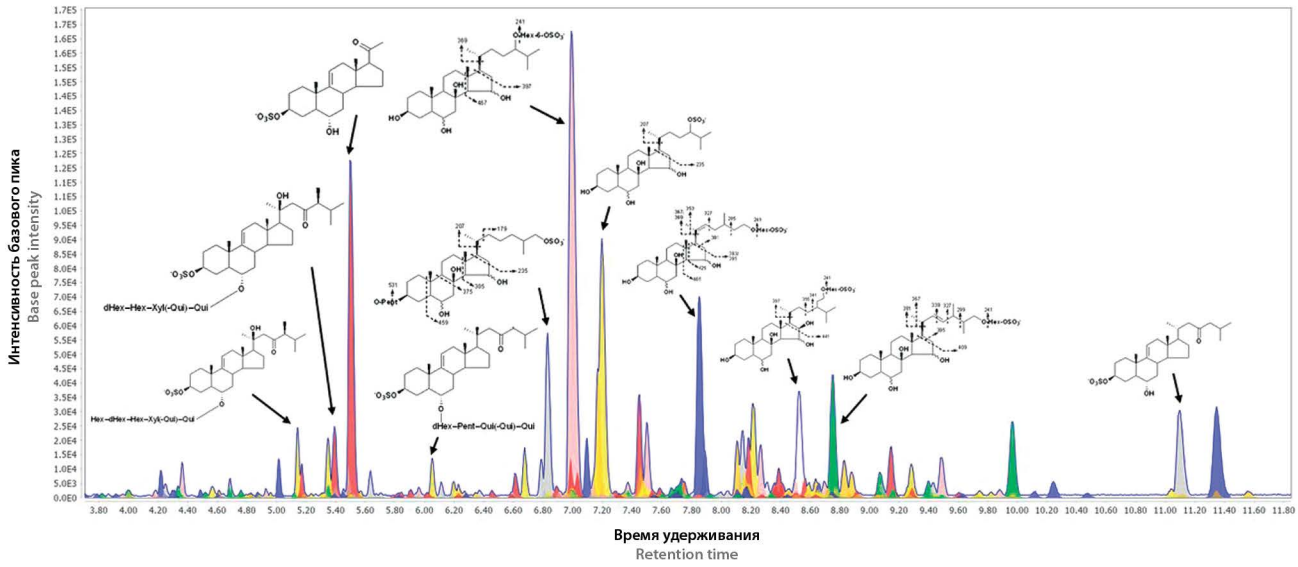


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. **Хроматограмма по ионному току обнаруженных компонентов, полученная в режиме регистрации отрицательных ионов, экстракта полярных стероидных соединений морской звезды *Lethasterias fusca* (получена с использованием хроматографа LicArt 62, соединенного с квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром Bruker Impact II Q-TOF)**

Figure 3. **Extracted ion chromatogram of the detected components obtained in negative ion mode for the polar steroid compound extract of the starfish *Lethasterias fusca* (obtained using a LicArt 62 HPLC coupled to a Bruker Impact II Q-TOF quadrupole time-of-flight mass spectrometer)**

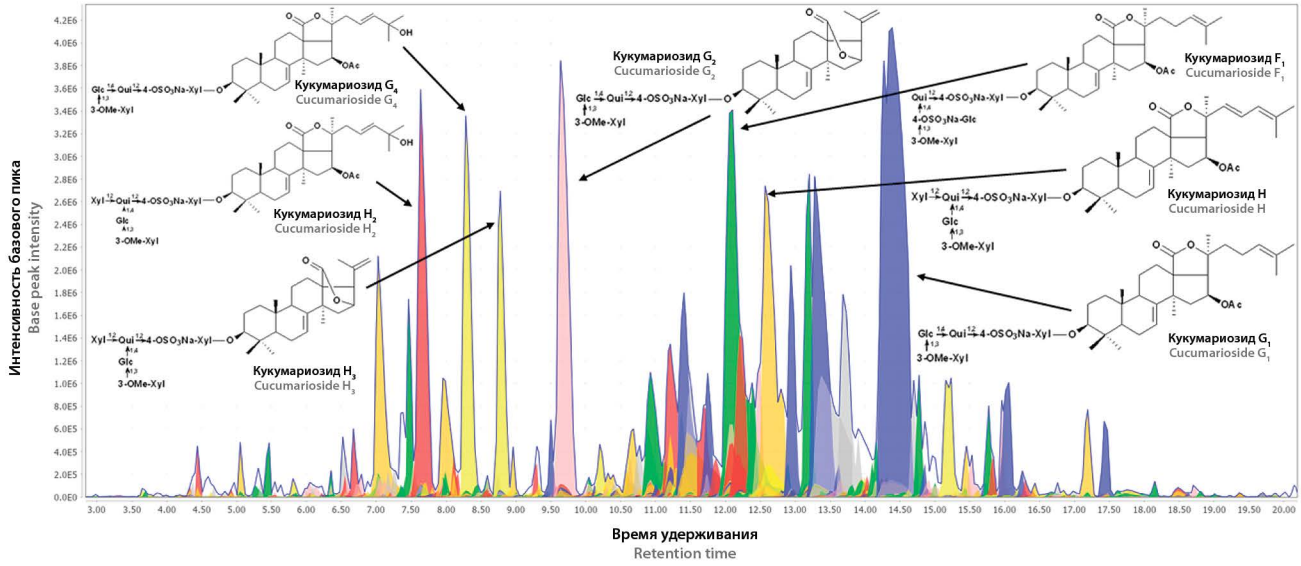


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. **Хроматограмма по ионному току обнаруженных компонентов, полученная в режиме регистрации отрицательных ионов, экстракта тритерпеновых гликозидов голотурии *E. fraudatrix* (получена с использованием хроматографа LicArt 62, соединенного с квадрупольно-времяпролетным масс-спектрометром Bruker Impact II Q-TOF)**

Figure 4. **Extracted ion chromatogram of the detected components obtained in negative ion mode for the triterpene glycoside extract of the sea cucumber *Eupentacta fraudatrix* (obtained using a LicArt 62 HPLC coupled with a Bruker Impact II Q-TOF quadrupole time-of-flight mass spectrometer)**

Масс-спектрометрическое детектирование проводили с использованием источника ионизации электрораспылением. Оптимизированные параметры ионизации были следующими: напряжение на капилляре ±4,0 кВ, давление распыляющего газа 2,0 бар, скорость потока осушающего газа 8 л/мин, температура осушающего газа 200 °C. Масс-спектры регистрировали в диапазоне *m/z* 80–1600. Тандемные масс-спектры, полученные при диссоциации, индуцированной столкновениями, регистрировали в режиме auto-MS/MS при энергии столкновений от 75 до 125 эВ; точное значение энергии столкновений зависело от молекулярной массы ионов-предшественников. Ионы-предшественники изолировали с шириной окна изоляции 4 Th. Калибровку масс-спектрометра проводили с использованием смеси ESI-L Low Concentration Tuning Mix (Agilent Technologies, США). Управление прибором осуществляли с помощью программного обеспечения otofControl, версия 4.0 (Bruker Daltonics, Германия). Обработку данных проводили с использованием программного обеспечения DataAnalysis, версия 4.3 (Bruker Daltonics, Германия), и MZmine 2.53.

Метаболическое профилирование экстракта *L. fusca* позволило обнаружить и охарактеризовать большой ряд различных стероидных гликозидов и родственных им соединений. Структурная аннотация обнаруженных соединений основывалась на данных масс-спектрометрии высокого разрешения и тандемной масс-спектрометрии, а также на значениях времен удерживания соответствующих соединений, литературных данных и биосинтетических закономерностях. В результате анализа было обнаружено более 350 соединений. Основные пики соответствовали полярным стероидным гликозидам – гликозидам полигидроксистероидов и астеросапонинам. Для наиболее интенсивных метаболитов на основании полученных данных была выполнена структурная аннотация. Структуры аннотированных метаболитов приведены на рисунках 2–4.

Для изучения суммарной фракции тритерпеновых гликозидов *E. fraudatrix* экстракты голотурий анализировались методом ВЭЖХ-ИЭР-МС. Полученные данные позволили обнаружить и охарактеризовать как ранее известные, так и новые соединения. Всего было обнаружено более 550 соединений. Данные масс-спектрометрии высокого разрешения и тандемной масс-спектрометрии совместно с хроматографическими данными позволили идентифицировать известные соединения и установить элементный состав и предложить структуры для части новых тритерпеновых гликозидов.

МС/МС-спектры обнаруженных гликозидов содержали интенсивные серии фрагментных ионов, которые позволили установить последовательности моносахаридных звеньев в углеводных фрагментах. В ряде случаев в МС/МС-спектрах наблюдались характерные пики ионов, образованные при разрыве связей в агликоне, что позволило охарактеризовать строение тритерпеновых ядер и боковых цепей агликонов.

Рекламная статья / Sponsored article

Оценка влияния конструктивных особенностей жидкостных хроматографов LicArt 62 (ООО «Лабконцепт») и LC-40 Nexera (Shimadzu) на результаты анализа

Авторы подготовили статью при финансовой поддержке компании ООО «Лабконцепт»

При разработке любой аналитической методики ключевым этапом является оценка ее робастности – устойчивости к незначительным колебаниям различных параметров. При достаточном запасе времени разработчик может детально изучить каждый фактор, влияющий на хроматографическое разделение: состав подвижной фазы, температуру колонки, объем инжекции и другие параметры. Однако одним из наиболее значимых факторов, определяющих время удерживания, форму и разделение пиков, является сама хроматографическая система. Если при создании новой методики исследователь может оперативно протестировать ее на оборудовании разных производителей, то при переносе уже утвержденного анализа на новый прибор в условиях дефицита времени возникает риск несоответствия критериям пригодности хроматографической системы.

Evaluation of the effect of design features of the LicArt 62 (Labconcept LLC) and LC-40 Nexera (Shimadzu) liquid chromatographs on analysis results

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

In the development of any analytical method, a key step is the assessment of its robustness, i.e., its ability to remain unaffected by minor variations in different parameters. Given sufficient time, a method developer can thoroughly investigate each factor affecting chromatographic separation, including mobile phase composition, column temperature, injection volume, and other parameters. However, one of the most significant factors determining retention time, peak shape, and resolution is the chromatographic system itself. When developing a new method, a researcher can readily test it using instruments from different manufacturers. However, when transferring an already approved analytical method to a new instrument under time constraints, there is a risk that the chromatographic system may fail to meet the established system suitability criteria.

В настоящее время многие аналитические лаборатории оснащены жидкостными хроматографами различных производителей. Нередко внутри одной компании разные подразделения используют разное оборудование. На практике это приводит к формированию субъективных предпочтений при выборе прибора для конкретного анализа вопреки тому, что современные хроматографы универсальны и предназначены для решения широкого спектра задач. Именно поэтому при выборе нового ВЭЖХ руководству лабораторий, уже имеющих в своем парке приборы преимущественно одного производителя, важно ориентироваться не только на технические характеристики приобретаемого прибора, но и на возможность комфортного переноса существующих в лаборатории методик. В случае если хроматограф и управляющее ПО имеют необходимые инструменты, а производитель или поставщик может обеспечить должный уровень сервисной и методической поддержки, приобретение нового ВЭЖХ будет вполне целесообразным.

При этом пользователи все чаще рассматривают именно отечественное оборудование, причем основными аргументами здесь становятся качество, доступность расходных материалов, быстрая поставка, оперативный сервис и методическое сопровождение.

Хроматограф LicArt 62 от ГК «Лабконцепт» – яркий пример полного соответствия этим запросам. В настоящее время в РФ эксплуатируется уже более 450 систем, поставленных под самые разнообразные аналитические задачи, многие из приборов эксплуатируются в режиме 24/7. Введенная на первых этапах поставки LicArt 62 практика непрерывного улучшения позволила сделать этот хроматограф надежным и универсальным решением для лабораторий, сопоставимым по своим возможностям и характеристикам с зарубежными предшественниками. Активная эксплуатация приборов пользователями помогла наладить ценную обратную связь, оперативно выявить потенциально слабые места и модернизировать систему, чтобы гарантировать стабильную работу оборудования и высокую точность результатов. При этом

модернизация затронула не только аппаратную часть, но и программное обеспечение: существенно улучшились алгоритмы расчета, возможности интегратора, инструменты для работы со спектральными данными, визуальный интерфейс и многое другое.

В конце 2025 года для хроматографов LicArt 62 начался новый этап развития – переход от крупноузловой сборки к локализации производства в России. Первые предсерийные отечественные модули, в числе которых бинарные и четвертичные насосы, термостаты, автосамплеры, а также UV- и DAD-детекторы, уже собираются и тестируются в лаборатории в Санкт-Петербурге.

Работа на новом оборудовании всегда сопряжена с определенным числом рисков. Именно поэтому перед покупкой LicArt 62 многие пользователи просят воспроизвести на нем их рабочие методики и сравнить полученные результаты с теми, что они получают у себя. Наша компания с готовностью подобную услугу оказывает: мы проводим пробные анализы или даже постановки методик заказчика на оборудовании, работающем в лаборатории ГК «Лабконцепт» в Санкт-Петербурге. В связи с большим количеством подобных запросов мы провели детальное изучение того, как конструктивные особенности систем – такие как объем задержки градиента, точность термостатирования, характеристики детектора и многие другие параметры – влияют на итоговые хроматограммы и как своевременно учитывать и нивелировать эти различия при трансфере методик.

Для оценки универсальности современного аналитического оборудования и изучения влияния особенностей хроматографических систем на результаты анализа была выполнена серия сравнительных исследований на хроматографах LC-40 Nexera и LicArt 62 (рисунок 1). В качестве модельных задач выбраны определение качественного и количественного состава смеси водорастворимых витаминов, а также анализ парацетамола.

Испытания проводились на приборах следующей комплектации:

LC-40 Nexera (Shimadzu)	LicArt 62
Насос LC-40D	Четырехканальный насос QP-62dn
Автодозатор SIL-40C	Автодозатор S-103dc
Термостат колонок CTO-40S	Термостат колонок T-85C
Диодно-матричный детектор SPD-M40	Диодно-матричный детектор DAD-62
ПО LabSolutions 5.118	ПО Space CDS 25H2 и LicArt WSV

Выбор парацетамола в качестве одного из объектов исследования обусловлен его хорошей изученностью и высокой актуальностью: данное вещество массово входит в состав активно развивающегося сегмента комбинированных лекарственных препаратов.

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Визуализация хроматографов LicArt 62 и LC-40 Nexera Shimadzu

Figure 1. Visualization of the LicArt 62 and Shimadzu LC-40 Nexera chromatographs

Анализ парацетамола был проведен в следующих хроматографических условиях:

Длина волны: 254 нм.

Хроматографическая колонка: Dikma Spursil C18 (3 мкм, 150 × 3,0 мм).

Подвижная фаза (ПФ):

Компонент А: буферный раствор (1,7 г KH_2PO_4 + + 1,8 г K_2HPO_4 на 1 л воды).

Компонент В: ацетонитрил.

Режим градиентного элюирования:

Время, мин	Скорость потока, мл/мин	ПФ А, %	ПФ В, %
0,0	0,300	95,0	5,0
10,0	0,300	70,0	30,0
25,0	0,300	70,0	30,0
25,1	1,000	95,0	5,0
40,0	0,300	95,0	5,0

Для объективного сравнения данных, полученных на различном оборудовании, мы проводили сопоставление параметров пригодности хроматографической системы – этот подход является наиболее показательным для всесторонней оценки. В таблице 1 подробно представлены экспериментальные результаты, нормативные требования к пригодности системы, а также типы растворов, которые использовались в ходе проведения данных испытаний.

Одним из наиболее критически важных параметров является селективность разделения пиков парацетамола и его примеси – 4-аминофенола. Данное

Таблица 1. Параметры пригодности хроматографических систем LC-40 Nexera и LicArt 62

Table 1. System suitability parameters for the LC-40 Nexera and LicArt 62 HPLC

Параметры пригодности системы System suitability parameter	**LicArt 62**	**LC-40 Nexera**	**Требование** Acceptance criterion	**Раствор*** Solution*
Разрешение между пиками 4-аминофенола и парацетамола Resolution between 4-aminophenol and paracetamol peaks	9,354	8,126	Не менее 5,0 Not less than 5.0	ППХС SSS
Отношение «сигнал – шум» Signal-to-noise ratio	11,90	12,34	Не менее 10,0 Not less than 10.0	РЧХС CSS
Число теоретических тарелок Number of theoretical plates	12205	7822	Не менее 5000 Not less than 5000	РС RS
RSD площади пика парацетамола RSD of paracetamol peak area	0,326	0,115	Не более 5,0 % Not more than 5.0 %	РС RS
Фактор асимметрии парацетамола Paracetamol asymmetry factor	1,572	1,004	Не более 2,0 Not more than 2.0	РС RS
Число теоретических тарелок Number of theoretical plates	11297	7176	Не менее 5000 Not less than 5000	СО RSS
Фактор асимметрии Asymmetry factor	1,469	1,037	Не более 2,0 Not more than 2.0	СО RSS
RSD площади пика парацетамола RSD of paracetamol peak area	0,065	0,003	Не более 2,0 % Not more than 2.0 %	СО RSS

Примечание.
* Использованные растворы для оценки параметров пригодности хроматографической системы:
ППХС – раствор для пригодности хроматографической системы.
РЧХС – раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.
РС – раствор сравнения.
СО – раствор стандартного образца.

Note.
* Solutions used for the evaluation of chromatographic system suitability parameters:
SSS – system suitability solution.
CSS – chromatographic system sensitivity solution.
RS – reference solution.
RSS – reference standard solution.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

требование обусловлено высокой токсичностью 4-аминофенола, в связи с чем ведущие мировые фармакопеи строго регламентируют его остаточное содержание в готовых лекарственных формах. Предельно допустимое содержание этой примеси составляет не более 50 ppm (или 0,005 % от заявленного содержания парацетамола).

На рисунках 2 и 3 приведены хроматограммы раствора для проверки пригодности системы, полученные на приборах LicArt 62 и LC-40 Nexera соответственно. При сопоставлении данных можно заметить некоторые различия: в частности, на хроматографе LicArt 62 значение разрешения между критической парой пиков составило 9,3, тогда как на LC-40 Nexera оно составило 8,1. Тем не менее обе аналитические системы полностью удовлетворяют критериям пригодности: в обоих случаях разрешение существенно превышает установленное требование – не менее 5,0.

Не менее актуальной задачей является определение качественного и количественного состава смеси водорастворимых витаминов. Данный вид анализа широко востребован как в сфере контроля безопасности и качества пищевой продукции, так и в фармацевтической области, в частности при производстве и стандартизации биологически активных добавок.

Для оценки линейности, чувствительности и правильности работы хроматографических систем в широком диапазоне концентраций была подготовлена серия многокомпонентных градуировочных растворов. В качестве аналитов использовали водорастворимые витамины: никотиновую кислоту, пиридоксина гидрохлорид (витамин B_6), рибофлавин (витамин B_2) и тиамина гидрохлорид (витамин B_1).

Исследование проводили методом внешнего стандарта в диапазоне концентраций, охватывающем шесть порядков разведения для каждого компонента: 0,1; 0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625 и 0,00313 мг/мл.

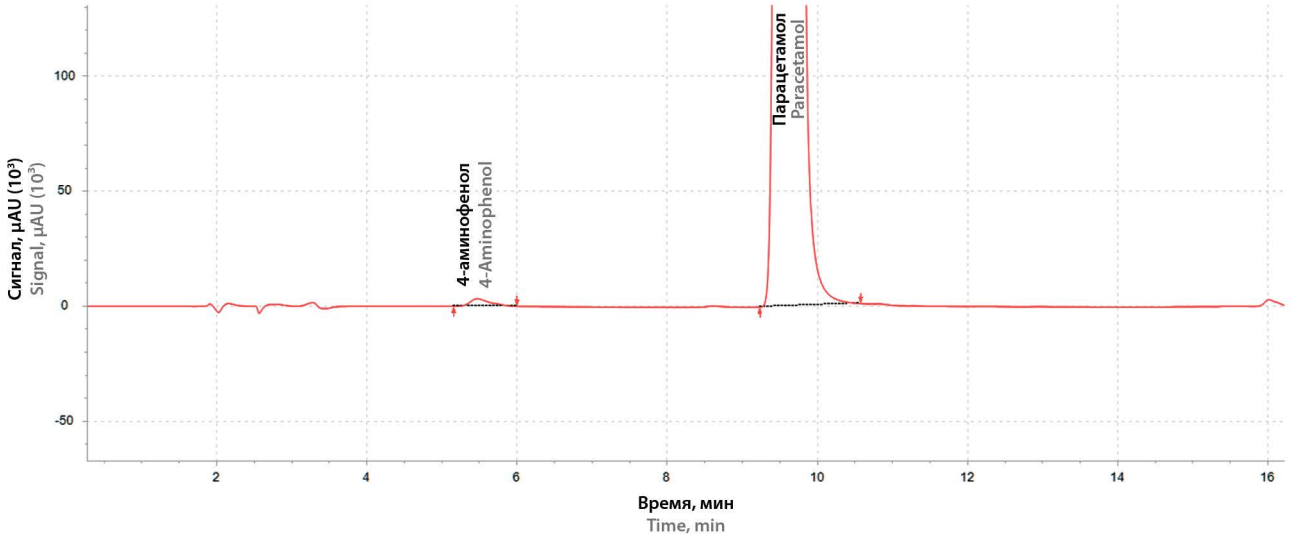


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы на приборе LicArt 62 (ООО «Лабконцепт»)

Figure 2. Chromatogram of the system suitability solution obtained using the LicArt 62 HPLC (Labconcept LLC)

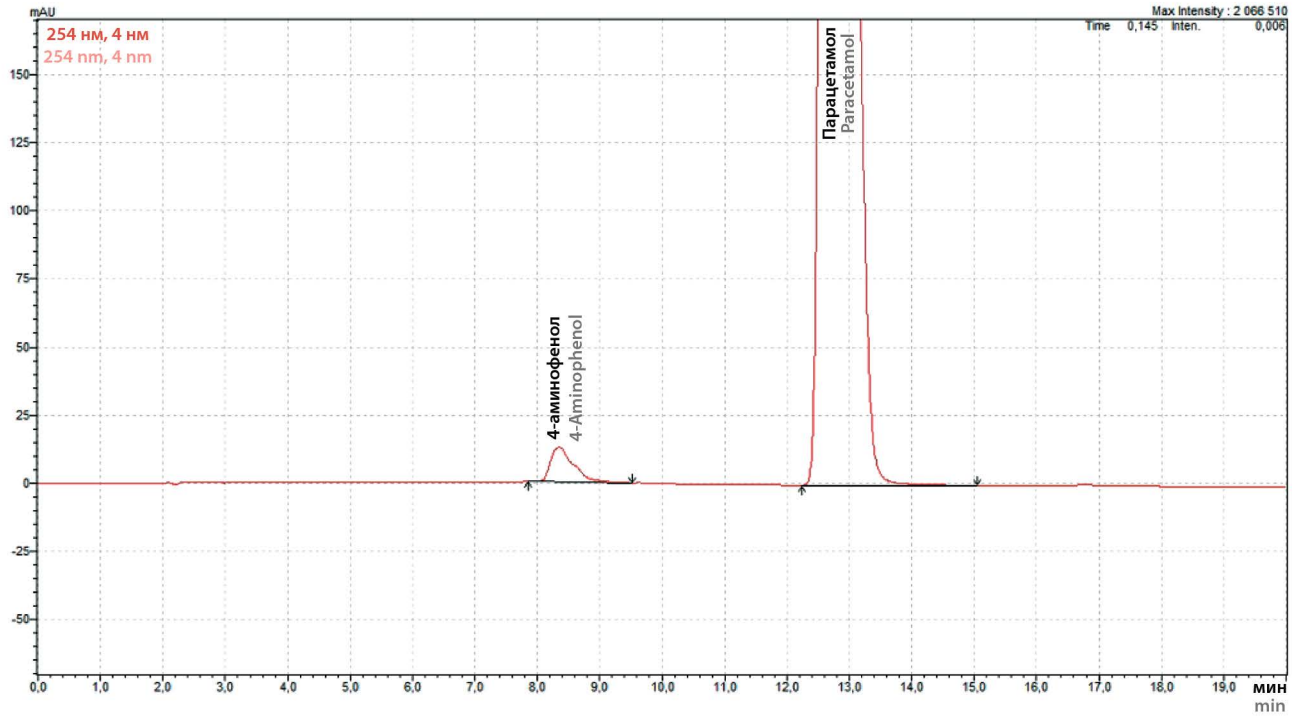


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы на приборе LC-40 Nexera (Shimadzu)

Figure 3. Chromatogram of the system suitability solution obtained using the LC-40 Nexera chromatograph (Shimadzu)

Анализ водорастворимых витаминов был выполнен в следующих хроматографических условиях:

Длина волны: 260, 280 нм.

Хроматографическая колонка: Ultisil Alk C18 (5 мкм, 250 × 4,6 мм).

Скорость потока: 1,0 мл/мин.

Температура термостата колонок: 30 °C.

Объем инжекции: 20 мкл.

Подвижная фаза (ПФ):

Компонент А: фосфатный буфер с pH 2,5 с добавкой гептансульфоната натрия и ацетонитрила.

Компонент В: ацетонитрил.

Режим градиентного элюирования:

Время, мин	ПФ А, %	ПФ В, %
0,01	94	6
6,00	94	6
10,00	84	16
14,00	84	16
17,00	50	50
19,50	50	50
22,00	94	6
27,00	94	6

Сравнение хроматографического поведения четырех водорастворимых витаминов (никотиновой кислоты, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина и тиамина гидрохлорида) во всем исследованном диапазоне концентраций проводили по следующим ключевым параметрам: временам удерживания (t_R), разрешению (R_s), фактору асимметрии (A_s), числу теоретических тарелок (N). Экспериментальные данные, полученные на LicArt 62 и LC-40 Nexera для различных уровней концентраций, приведены в таблицах 2–5 (рисунки 4 и 5).

При сопоставлении хроматограмм обеих модельных задач на LicArt 62 систематически фиксируются более высокие значения эффективности и разрешения. Данная закономерность напрямую связана со временем удерживания аналитов. На хроматографе LicArt 62 пики всех исследуемых веществ элюируются стабильно раньше (например, для никотиновой кислоты $t_R \approx 4{,}20$ мин против ≈4,50 мин на LC-40 Nexera; для тиамина ≈17,31 мин против ≈18,55 мин). Совокупность раннего выхода пиков и большей эффективности свидетельствует о том, что жидкостная линия хроматографа LicArt 62 обладает меньшим внут-

Таблица 2. Данные по витамину: никотиновая кислота

Table 2. Data for nicotinic acid

Параметр Parameter	**Никотиновая кислота, LicArt 62** Nicotinic acid, LicArt 62						**Никотиновая кислота, LC-40 Nexera** Nicotinic acid, LC-40 Nexera					
Концентрация, мг/мл Concentration, mg/mL	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1
t_R, мин t_R, min	4,241	4,183	4,183	4,202	4,191	4,199	4,611	4,503	4,473	4,494	4,511	4,51
A_s	1,061	0,865	0,863	0,845	1,012	0,963	1,182	1,18	1,198	1,162	1,123	1,084
N	22217	18374	19032	19387	20637	21879	13745	13235	14547	13677	13333	13921

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Таблица 3. Данные по витамину: пиридоксина гидрохлорид

Table 3. Data for pyridoxine hydrochloride

Параметр Parameter	**Пиридоксин, LicArt 62** Pyridoxine, LicArt 62						**Пиридоксин, LC-40 Nexera** Pyridoxine, LC-40 Nexera					
Концентрация, мг/мл Concentration, mg/mL	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1
t_R, мин t_R, min	10,921	10,894	10,867	10,869	10,825	10,738	10,928	10,545	10,452	10,422	10,250	10,272
R_s	31,051	34,219	34,306	33,904	32,902	30,121	25,099	24,956	25,298	24,024	20,798	20,044
A_s	1,061	1,050	1,067	1,154	1,353	1,816	1,363	1,093	1,163	1,316	2,098	2,088
N	27558	26309	26032	25096	22670	17713	15954	16574	16613	15053	10742	9474

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Таблица 4. **Данные по витамину: рибофлавин**

Table 4. **Data for riboflavin**

Параметр Parameter	**Рибофлавин, LicArt 62** Riboflavin, LicArt 62						**Рибофлавин, LC-40 Nexera** Riboflavin, LC-40 Nexera					
Концентрация, мг/мл Concentration, mg/mL	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1
t_R, мин t_R, min	16,838	16,839	16,830	16,832	16,825	16,822	17,952	17,935	17,939	17,977	17,949	17,961
R_s	26,974	26,821	26,882	26,645	26,147	24,663	26,58	29,189	29,738	29,03	26,619	25,151
A_s	1,0255	1,037	1,035	1,0815	1,059	1,099	1,165	1,155	1,134	1,094	1,02	0,931
N	145695	146605	147343	149153	152078	153189	154989	161081	160285	158307	154062	144044

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

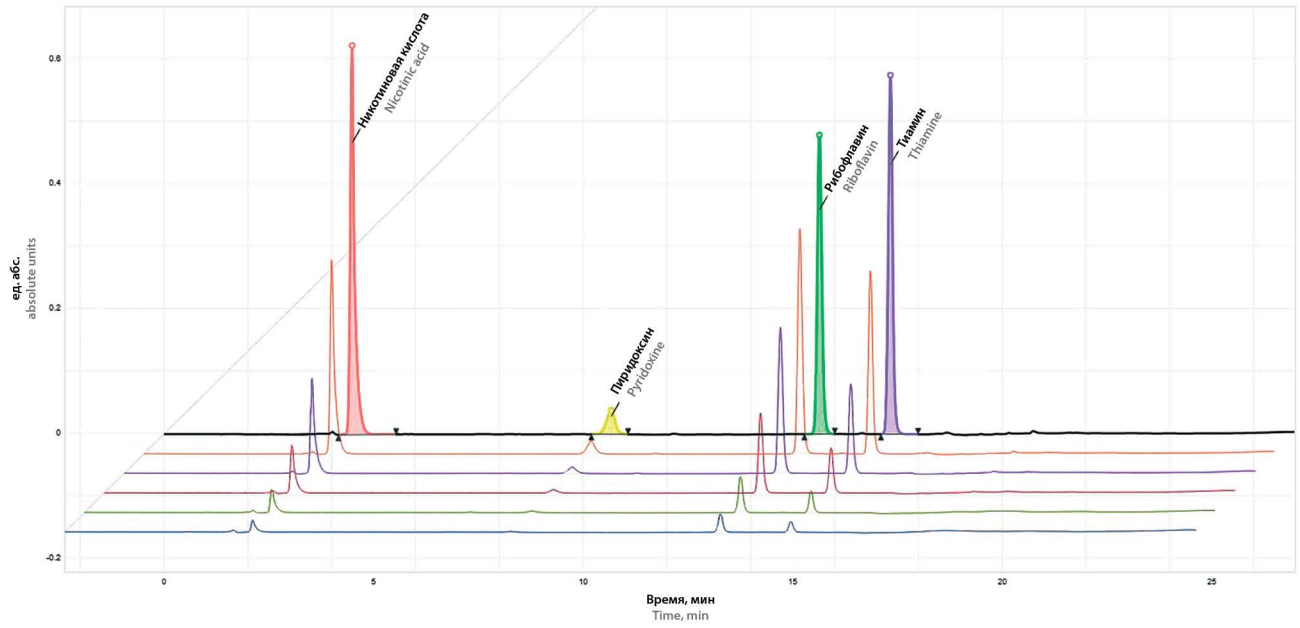


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. **Наложение хроматограмм градуировочных растворов, полученных на приборе LicArt 62 (ООО «Лабконцепт»)**

Figure 4. **Overlay of chromatograms of calibration solutions obtained using the LicArt 62 HPLC (Labconcept LLC)**

ренним объемом и меньшим объемом задержки градиента. Это минимизирует размытие хроматографических зон в процессе поступления подвижной фазы в систему и обеспечивает более точный профиль градиента на входе в колонку. Таким образом, конструктивные особенности LicArt 62 обеспечивают выигрыш в экспрессности, эффективности и разделяющей способности, что критично для анализа следовых токсичных примесей (таких как 4-аминофенол).

В свою очередь, система LC-40 Nexera имеет преимущество по характеристикам симметрии пиков и сходимости результатов параллельных инжекций, что обусловлено принципиально разным устройством систем ввода пробы: у LicArt 62 автодозатор шприцевого типа, а у LC-40 Nexera – петлевого типа. Фактор асимметрии для парацетамола на хроматографе LC-40 Nexera оказался практически идеальным (1,004–1,037), в то время как на LicArt 62 наблюда-

Таблица 5. **Данные по витамину: тиамина гидрохлорид**

Table 5. **Data for thiamine hydrochloride**

Параметр Parameter	**Тиамин, LicArt 62** Thiamine, LicArt 62						**Тиамин, LC-40 Nexera** Thiamine, LC-40 Nexera					
Концентрация, мг/мл Concentration, mg/mL	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1	0,00313	0,00625	0,0125	0,025	0,05	0,1
t_R, мин t_R, min	17,306	17,315	17,310	17,316	17,314	17,331	18,590	18,551	18,527	18,571	18,522	18,502
R_s	3,113	3,177	3,212	3,260	3,305	3,429	2,633	2,58	2,459	2,469	2,375	2,215
A_s	1,167	1,089	1,038	1,080	1,043	0,906	1,015	1,02	1,021	1,028	1,041	1,049
N	308718	310176	310573	314690	313605	303510	60619	61642	61500	61166	61259	61226

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

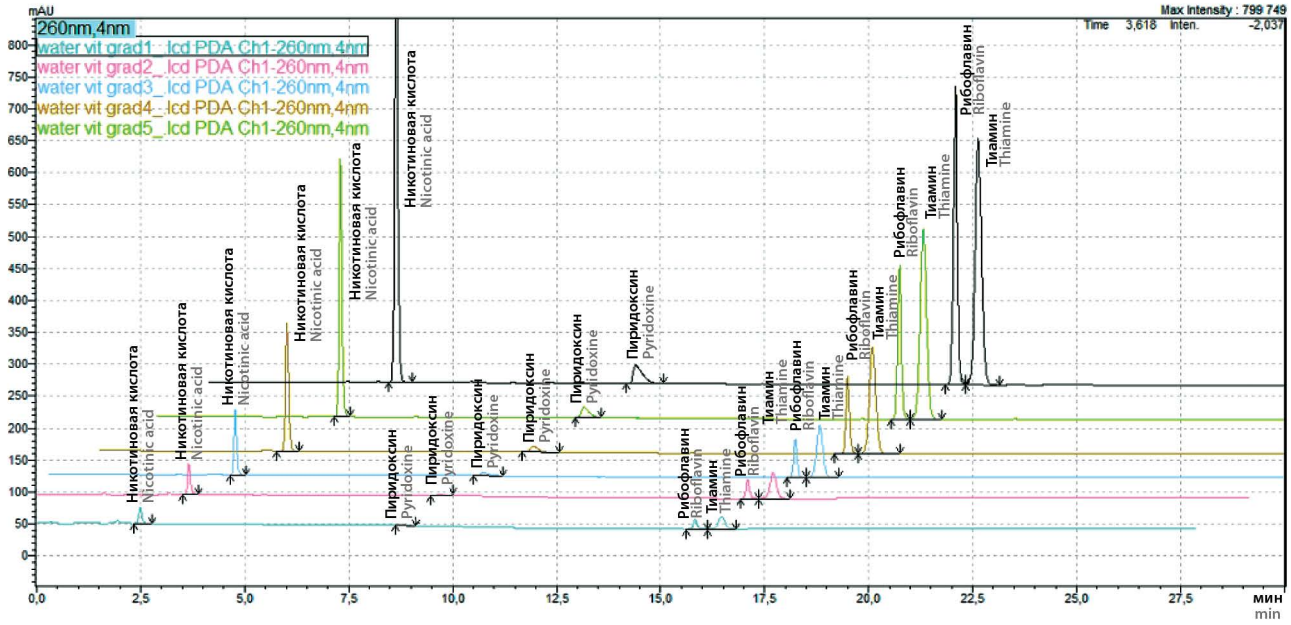


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. **Наложение хроматограмм градуировочных растворов, полученных на приборе LC-40 Nexera (Shimadzu)**

Figure 5. **Overlay of chromatograms of calibration solutions obtained using the LC-40 Nexera chromatograph (Shimadzu)**

лась умеренная асимметрия (1,469–1,572). Для витаминов на LC-40 Nexera также зафиксированы более стабильные и близкие к единице значения асимметрии. Показатели относительного стандартного отклонения площади пиков (RSD) на LC-40 Nexera оказались максимально низкими (вплоть до 0,003 % для стандартного образца парацетамола против 0,065 % на LicArt 62).

Проведенный эксперимент показывает, что обе хроматографические системы полностью удовлетворяют критериям пригодности как для простых изократических, так и для сложных многокомпонентных градиентных методик анализа. Выявленные различия носят приборный характер и не препятствуют прямому трансферу методик контроля качества фармацевтической и пищевой продукции между данными приборами без проведения ревалидации. При этом жидкостный хроматограф LicArt 62 по совокупности факторов не уступает зарубежному аналогу, что дополнительно подтверждает универсальность и надежность данного прибора, которые выгодно сочетаются с его доступностью на рынке, гарантийным и постгарантийным обслуживанием.

Минпромторг России

ГИЛС и НП

GMP

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

Research article / Оригинальная статья

УДК 615.28

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2288

Check for updates

CC BY 4.0

Изучение анальгетического потенциала 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов на модели поведенческой ноцицепции

О. О. Сенокосова[1]✉, Д. Г. Дианова[2], В. Д. Бояршинов[3], В. Л. Гейн[1], О. В. Долгих[2]

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

[2] Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»). 614045, Россия, Пермский край, г. Пермь, ул. Монастырская, д. 82

[3] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «Пермский ГМУ им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России). 614990, Россия, Пермский край, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26

✉ **Контактное лицо:** Сенокосова Ольга Олеговна. **E-mail:** ya.zhigalova2017@yandex.ru

Резюме

Введение. Высокая распространенность болевых синдромов среди населения актуализирует поиск высокоэффективных болеутоляющих средств с приемлемым профилем безопасности. Производные 3-гидрокси-3-пирролин-2-онов, проявляя различные виды фармакологической активности, являются достаточно перспективными соединениями для создания на их основе новых, передовых лекарственных препаратов с выраженным анальгетическим действием.

Цель. Изучить в тесте «Горячая пластина» степень выраженности анальгетического потенциала ранее неизвестных 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использованы вновь синтезированные 3-гидрокси-3-пирролин-2-оны, содержащие в положении 1 изобутильный заместитель (I–VI). Оценка эффективности анальгетического действия 6 соединений-аналогов осуществлена *in vivo* на модели поведенческой ноцицепции.

Результаты и обсуждение. Фармакологический скрининг показал, что ранее синтезированные авторами новые соединения при пероральном поступлении в тестах ноцицепции термического генеза обладают анальгетическим потенциалом. Установлено, что наиболее выраженное анальгетическое действие характерно для соединения VI. По результатам эксперимента выявлены отдельные закономерности «структура – анальгетическая активность». Следовательно, впервые полученные 3-гидрокси-3-пирролин-2-оны, содержащие в положении 1 изобутильный заместитель, обладают анальгетическим потенциалом (I, III, V, VI).

Заключение. На модели поведенческой ноцицепции выполнено тестирование полученных 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов (серия из 6 соединений-аналогов), изучена взаимосвязь между химической структурой веществ и их активностью, идентифицирован основной кандидат со значительным анальгетическим потенциалом для дальнейшего изучения (лабораторный образец с шифром VI).

Ключевые слова: фармакологический скрининг, ряд ранее неизвестных замещенных тетрагидропиррол-2,3-дионов, тест «Горячая пластина», анальгетический потенциал, циклооксигеназа, простагландины

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

Вклад авторов. О. О. Сенокосова, В. Л. Гейн синтезировали соединения. О. О. Сенокосова, Д. Г. Дианова, В. Д. Бояршинов выполнили фармакологический скрининг. Д. Г. Дианова, О. В. Долгих участвовали в разработке концепции исследования и написании рукописи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Соответствие принципам этики. Исследования проведены с разрешения этического комитета Пермской государственной фармацевтической академии (протокол № 8 от 25.03.2024).

© Сенокосова О. О., Дианова Д. Г., Бояршинов В. Д., Гейн В. Л., Долгих О. В., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Senokosova O. O., Dianova D. G., Boyarshinov V. D., Gein V. L., Dolgikh O. V., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Сенокосова О. О., Дианова Д. Г., Бояршинов В. Д., Гейн В. Л., Долгих О. В. Изучение анальгетического потенциала 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов на модели поведенческой ноцицепции. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):30–37. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2288

Поступила в редакцию: 11.02.2026
Поступила после рецензирования: 05.06.2026
Принята к публикации: 31.07.2026

Study of the analgesic potential of 5-aryl-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones in a behavioral nociception model

Olga O. Senokosova[1]✉, Dina G. Dianova[2], Vitaly D. Boyarshinov[3], Vladimir L. Gein[1], Oleg V. Dolgikh[2]

[1] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation (FSBEI HE PSPA MOH Russia). 2, Polevaya str., Perm, Perm Krai, 614990, Russia
[2] Federal Budget Scientific Institution «Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies». 82, Monastyrskaya str., Perm, Perm Krai, 614045, Russia
[3] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Medical University named after Academician E. A. Wagner" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 26, Petropavlovskaya str., Perm, Perm Krai, 614990, Russia

✉ **Corresponding author:** Olga O. Senokosova. **E-mail:** ya.zhigalova2017@yandex.ru

Abstract

Introduction. The high prevalence of pain syndromes among the global population highlights the need for searching for highly potent analgesic agents with a favorable safety profile. 3-Hydroxy-3-pyrrolin-2-one derivatives exhibit diverse pharmacological activities and represent promising compounds for the development of novel analgesic drug candidates with pronounced efficacy.

Aim. To study the degree of analgesic potential of previously unknown 5-aryl-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones in a hot plate test.

Materials and methods. Newly synthesized 3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones containing an isobutyl substituent at position 1 (I–VI) were the objects of the study. The analgesic efficacy of 6 analog compounds was assessed *in vivo* using a behavioral nociception model.

Results and discussion. Pharmacological screening demonstrated that the new compounds previously synthesized by the authors exhibited analgesic potential following oral administration in thermal nociception tests. Compound VI demonstrated the most pronounced analgesic activity. Structure–activity relationship (SAR) analysis revealed distinct patterns correlating molecular features with analgesic efficacy. These findings indicate that the newly synthesized 3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones bearing an isobutyl substituent at position 1 exhibit significant analgesic potential (compounds I, III, V, VI).

Conclusion. The obtained 5-aryl-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones (a series of 6 analog compounds) were tested on a model of behavioral nociception, the relationship between the chemical structure of the substances and their activity was studied, and the main candidate with significant analgesic potential was identified for further study (laboratory sample with code VI).

Keywords: pharmacological screening, a series of previously unknown substituted tetrahydropyrrole-2,3-diones, hot plate test, analgesic potential, cyclooxygenase, prostaglandins

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

Contribution of the authors. Olga O. Senokosova, Vladimir L. Gein synthesized the compounds. Olga O. Senokosova, Dina G. Dianova, Vitaly D. Boyarshinov performed pharmacological screening. Dina G. Dianova, Oleg V. Dolgikh participated in developing the study concept and writing the manuscript. All authors participated in the discussion of the results.

Compliance with the principles of ethics. The study was conducted with the permission of the Ethics Committee of the Perm State Pharmaceutical Academy (Protocol No. 8 dated 25.03.2024).

For citation: Senokosova O. O., Dianova D. G., Boyarshinov V. D., Gein V. L., Dolgikh O. V. Study of the analgesic potential of 5-aryl-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones in a behavioral nociception model. *Drug development & registration*. 2026;15(3):30–37. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2288

Received: 11.02.2026
Revised: 05.06.2026
Accepted: 31.07.2026

ВВЕДЕНИЕ

Согласно результатам крупномасштабного исследования показано, что среднестатистический показатель общей распространенности неуточненной боли среди взрослого населения в мире соответствует 27,5 % [1], а по сведениям других авторов – 50,3 % [2]. Так, в Европе до 48 % взрослого населения страдает хроническим болевым синдромом [3], а в России – около 43 % взрослого населения [1]. Боль – это дискомфорт, мучительное, неприятное чувство, которое сопровождается физическими и эмоциональными страданиями в результате повреждения органов [2, 3]. Боль рассматривается как эффективная реакция, необходимая для сохранения целостности тканей организма при повреждении. Однако в ряде случаев вследствие центральной сенсибилизации или воспалительного процесса острая боль, трансформируясь в хронический процесс, приобретает статус самостоятельного заболевания – хронического болевого синдрома. Опиоидные анальгетики достаточно часто и успешно используются при фармакотерапии острой и хронической боли средней или высокой интенсивности. Однако, являясь клинически эффективными, данные лекарственные препараты (ЛП) имеют значительный спектр нежелательных побочных реакций (НПР), что ограничивает их использование. Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) широко назначаются для контроля умеренной и слабой боли, при этом на фоне данных ЛП развиваются нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), отмечаются поражения печени и почек, вследствие чего лимитируется их применение [6]. НПВС, ингибируя циклооксигеназу (COX), предотвращают метаболизм арахидоновой кислоты (ARA). Для купирования боли различной этиологии и интенсивности довольно часто применяют неопиоидный анальгетик метамизол натрия. Сложный механизм анальгетического эффекта ЛП остается до конца неясным и, возможно, обусловлен COX-2- и COX-3-зависимым действием на уровне задних рогов спинного мозга, влиянием на каннабиоидную и опиоидергическую системы. Препарат имеет приемлемый профиль безопасности, а гепатотоксичность, поражение слизистой оболочки ЖКТ и агранулоцитоз, согласно последним исследованиям, наблюдаются намного реже относительно типичных НПВС [5]. Поиск и создание лекарственных средств с высокой анальгетической эффективностью и наименьшим количеством НПР является приоритетной задачей на современном этапе развития биомедицины.

Значительный диапазон фармакологических свойств производных пирролидина является основой разработки новых перспективных соединений, содержащих данный каркас. В доступной литературе представлены результаты исследований, указывающие на различные фармакологические эффекты соединений, в том числе противовоспалительный [4, 6], анальгетический [4, 7], противосудорожный и антиноцицептивный [8, 9], противоопухолевый, антибактериальный, противовирусный, противотуберкулезный и др. [10]. Вещества на основе замещенных пирролидин-2,3-дионов проявляют различные виды биологической активности, между тем их большая часть демонстрирует именно потенциальное анальгетическое действие [10]. Очевидно, сегодня органический синтез новых соединений ряда замещенных тетрагидропиррол-2,3-дионов, обладающих потенциальной анальгетической активностью с верификацией в моделях *in vivo*, является важным аспектом для практической биомедицины.

Цель работы – изучить в тесте «Горячая пластина» степень выраженности анальгетического потенциала ранее неизвестных 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная химическая часть

Ранее авторами синтезированы и описаны неизвестные 1,4,5-тризамещенные пирролидин-2,3-дионы (I–VI) [11]. Новые лабораторные образцы получены путем трехкомпонентной реакции при комнатной температуре, где в качестве растворителя использован диоксан.

Экспериментальная фармакологическая часть

Нелинейные лабораторные мыши ($n = 50$) массой 23–38 г случайным образом были распределены на следующие группы: контрольную (без фармакокоррекции, $n = 10$), сравнения (предварительное введение препарата сравнения метамизола натрия, $n = 10$) и 6 опытных (предварительное введение лабораторных образцов, эффект каждого оценивали на 5 животных). Лабораторные животные находились в строго контролируемых условиях (рацион, доступ к воде). Исследования выполнены с разрешения этического комитета Пермской государственной фармацевтической академии (протокол № 8 от 25.03.2024). Анальгетическую активность изучали в тесте «Горячая пластина». Термическое раздражение моделировали помещением животного на металлическую пластинку, нагретую до 52 °C [12]. Соединения I–VI в дозе 50 мг/кг и метамизол натрия (Баралгин® М, таблетки по 500 мг, Sanofi India Limited, Индия, серия 4P2385A, годен до 06.2028) в дозе 93 мг/кг [13] вводили внутрижелудочно за 60 мин до помещения животного на горячую пластину. Латентный период, фиксируемый в секундах, устанавливался как время между помещением животного на горячую пластину и моментом начала облизывания одной из задних лап для каждого животного. Данная поведенческая реакция животного на ноцицептивное воздействие служит валидным показателем наличия фармакологической активности [12].

Стандартный пакет прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, США) использован для выполнения статистического анализа первичной информации. Критерий Манна – Уитни использован для сравнения количественных данных эксперимента, для которых рассчитана медиана (Me), нижний квартиль (Q_1) и верхний квартиль (Q_3). Статистически значимыми результаты сравнения принимались при $p < 0,005$. Вычислительные процедуры выполнялись с использованием языка программирования Python (версия 3.9). Для обработки химических структур использовалась библиотека RDKit (версия 2022.09.5). Структуры соединений представляли в виде SMILES-нотаций, на основе которых генерировали 2D-молекулы. Для каждого соединения генерировались множественные конформеры с последующей минимизацией энергии. Для каждого соединения рассчитывались следующие группы дескрипторов: молекулярная масса (MW), коэффициент липофильности (Log *P*), топологическая площадь полярной поверхности (TPSA), количество доноров (HBD) и акцепторов (HBA) водородных связей, количество вращающихся связей, количество ароматических циклов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам выполненного эксперимента выявлено, что на фоне предварительного введения лабораторным животным препарата сравнения (метамизола натрия) статистически значимо ($p < 0,05$) повышалось в 1,4 раза латентное время оборонительного рефлекса относительно контрольного диапазона (таблица 1). Обнаружено, что у грызунов, которым до помещения на горячую пластину предварительно введены соединения I, III и V, достоверно ($p < 0,05$) увеличено в среднем в 1,8 раза время латентного периода по сравнению со значениями, полученными в группе контроля. У животных на фоне предшествующего внутрижелудочного введения вещества VI выявлено статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение восприятия поведенческого ответа на ноцицептивную стимуляцию в 2,3 раза относительно контрольных величин и в 1,5 раза относительно результатов, полученных в группе сравнения. Лабораторные образцы с шифром II, IV не имели статистически достоверных отличий от контрольного диапазона.

Сравнительная характеристика соединений I и II с одинаковым незамещенным арильным циклом при C_5 показала, что введение электроноакцепторного заместителя (—Cl) в параположение арильного цикла при C_4 повышает активность по сравнению с электронодонорным (—CH_3) (таблица 2). Важно выделить, что наличие сильного электронодонора (—OCH_3) в арильный цикл при C_5 компенсирует отсутствие электроноакцептора в арильном цикле при C_4. Присутствие метоксигрупп в ароматическом кольце при C_5 увеличивает анальгетический потенциал. Отмечено, что замена одной группы —OCH_3 на —OH в соединении IV привела к угнетению активности. Комбинация электроноакцептора (—Cl) в арильном кольце при C_4 и электронодонора (—OCH_3) в арильном кольце при C_5 создает синергический электронный эффект заместителей, что характерно для самого активного соединения VI. По результатам данного исследования прослеживается положительная связь между липофильностью и активностью у соединений. Так, лабораторные образцы II и IV обладают низкими показателями липофильности (4,23 и 3,94 соответственно) и минимальным анальгетическим действием. Наибольшая величина показателя липофильности отмечена у соединения VI, демонстрирующего выраженную активность. Необходимо отметить, что уменьшение числа заместителей доноров Н-связей приводит к увеличению анальгетического потенциала. Представленные данные позволяют предположить, что рост активности меж-

Таблица 1. Результаты анальгетической активности, полученные в тесте «Горячая пластина», Me (Q_1; Q_3)

Table 1. The results of analgesic activity obtained in the hot plate test, Me (Q_1; Q_3)

Соединение Compound	Длительность латентного периода, с Latency period duration, s	*p*	
		Контроль Control	Препарат сравнения Comparator drug
I	20,00 (17,00; 25,00)	$p < 0,05$	$p > 0,05$
II	18,00 (16,00; 19,00)	$p > 0,05$	$p > 0,05$
III	20,50 (16,50; 23,00)	$p < 0,05$	$p > 0,05$
IV	19,00 (14,00; 22,00)	$p > 0,05$	$p > 0,05$
V	21,20 (16,50; 26,00)	$p < 0,05$	$p > 0,05$
VI	26,00 (22,50; 27,50)	$p < 0,05$	$p < 0,05$
Баралгин® М Baralgin® M	16,00 (14,00; 18,00)	$p > 0,05$	–
Контрольные значения Control values	11,50 (10,00; 16,50)	–	–

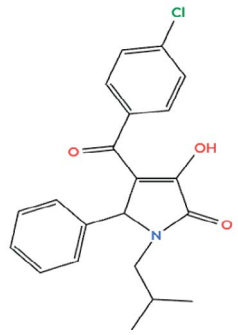
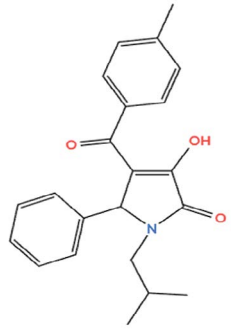
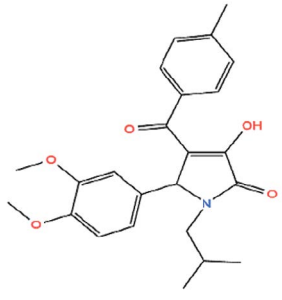
Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ду соединениями V и VI обусловлен не только электронными эффектами, но и уменьшением HBD. Топологическая площадь полярной поверхности для новых 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов идентифицирована в диапазоне 57,6–87,1 Å^2. Вероятно, что повышение значений данного показателя способствует угнетению активности, так как для лабораторного образца IV с низким анальгетическим потенциалом TPSA составляет 87,1 Å^2. Возможно, оптимальный диапазон TPSA для анализируемых соединений соответствует 60–78 Å^2. Оценка полученных данных позволяет предположить, что соединения с большей молекулярной массой имеют более высокий анальгетический потенциал. Между тем нарастание активности у соединения может являться следствием добавления заместителей, а не прямой зависимости. Очевидно, доступный объем информации об анальгетической активности ряда замещенных тетрагидропиррол-2,3-дионов, представленный в научной литературе за последние десятилетия, и результаты собственных исследований во многом согласуются.

Гетероциклические азотсодержащие соединения на основе пирролидинового кольца, полученные в результате химического синтеза, обладают уникальными структурами и, соответственно, характеризуют-

Таблица 2. Новые 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны, обладающие потенциальной анальгетической активностью

Table 2. New 5-aryl-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones with potential analgesic activity

№	Химическая структура Chemical structure	MW	Log *P*	TPSA	HBD	HBA	Увеличение латентного времени, % Increase in latency time, %
I		369,84	4,57	57,61	1	3	73
II		349,43	4,23	57,61	1	3	56
III		409,48	4,24	76,07	1	5	78

Окончание таблицы 2

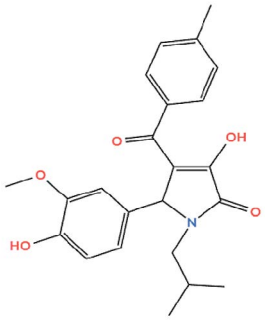
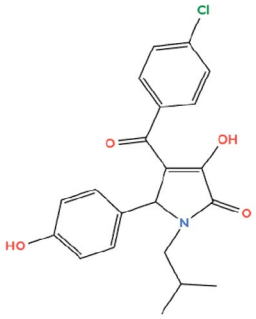
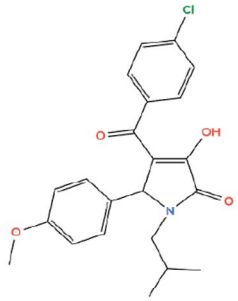
№	Химическая структура Chemical structure	MW	Log *P*	TPSA	HBD	HBA	Увеличение латентного времени, % Increase in latency time, %
IV		395,45	3,94	87,07	2	5	65
V		385,84	4,27	77,84	2	4	84
VI		399,87	4,58	66,84	1	4	126

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ся анальгетической активностью различной интенсивности центрального и/или периферического генеза. Сегодня активно обсуждается информация о болеутоляющем эффекте производных 3-пирролин-2-онов, однако механизм развития их анальгетической активности до конца не раскрыт. Полагают, что замещенные тетрагидропиррол-2,3-дионы реализуют свою анальгетическую активность не только за счет ингибирования образования PGE, но и посредством множества других механизмов. Вероятно, замещенные 3-пирролин-2-оны, обладая потенциальным центральным и/или периферическим действием, создают условия для обеспечения синергизма их анальгетических свойств. По предварительным результатам соединения способны нарушать метаболизм ARA, модулировать опиоидную, эндоканнабиноидную системы, изменять активность TRPV1-ионных каналов [10]. Показано, что важнейшим участником формирования болевой реакции является трансмиттер воспаления PGE2, который, воздействуя на нейроны, вызывает сенситизацию ноцицепторов. Так, экспериментально доказано, что PGE2, опосредуя длительную стимуляцию

рецепторов и термическую сенсибилизацию ноцицепторов, способствует формированию хронической воспалительной боли и значительной чувствительности к повышенной температуре. Следует обратить внимание: ранее авторами при моделировании каррагенининдуцированного отека лапы крысы идентифицированы соединения (I, III, V, VI) с противовоспалительным потенциалом, что имеет существенное значение при реализации анальгетического эффекта [6]. Так, лабораторный образец с шифром VI проявил максимально выраженный эффект относительно других соединений, а именно статистически значимо ($p < 005$) в 1,8 раза уменьшил признаки воспаления по сравнению с контрольными значениями, что предполагает наличие у соединений угнетающего влияния на COX-2. Вероятно, механизм потенциального анальгетического действия гетероциклических соединений и их производных является многофакторным, требует дальнейшего изучения и подтверждения. Предположительно, изученные лабораторные образцы проявляют потенциальное анальгетическое действие на центральном уровне. Однако для идентификации точного механизма действия перспективных кандидатов необходимы дальнейшие углубленные фармакологические исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Направленный химический синтез и разработка терапевтически эффективных ЛП на основе замещенных пирролидин-2,3-дионов с потенциальным анальгетическим действием позволяет повысить качество фармакотерапии заболеваний и состояний, которые сопровождаются болевыми синдромами. Полученные данные позволяют предлагать 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-оны в качестве перспективных кандидатов для дальнейшего более глубокого исследования. По силе анальгетической активности в проведенном тесте (помещение на горячую пластину) соединение VI является лидером среди исследуемых образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чурюканов М. В., Давыдов О. С., Кукушкин М. Л., Яхно Н. Н. Распространенность хронической боли у взрослого населения Российской Федерации: результаты всероссийского эпидемиологического исследования. *Российский журнал боли*. 2025;23(2):54–62. https://doi.org/10.17116/pain20252302154
2. Zimmer Z., Fraser K., Grol-Prokopczyk H., Zajacova A. A global study of pain prevalence across 52 countries: examining the role of country-level contextual factors. *Pain*. 2022;163(9):1740–1750. https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002557
3. Rometsch C., Martin A., Junne F., Cosci F. Chronic pain in European adult populations: a systematic review of prevalence and associated clinical features. *Pain*. 2025;166(4):719–731. https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000003406
4. Sadiq A., Khan M. A., Zafar R., Ullah F., Ahmad S., Ayaz M. Synthesis and anti-inflammatory and analgesic potentials of ethyl 2-(2,5-dioxo-1-phenylpyrrolidin-3-yl)-2-methylpropanoate. *Pharmaceuticals*. 2024;17(11):1522. https://doi.org/10.3390/ph17111522
5. Stromer W., Fontanilla P., Cywińska-Durczak B. Safety of metamizole superior to comparable OTC analgesics. *Evidence-Based Medicine*. 2025;5:250017. https://doi.org/10.52778/efsm.25.0017
6. Гейн В. Л., Дианова Д. Г., Сенокосова О. О., Булдакова Е. А., Рудакова И. П., Новикова В. В. Изучение противовоспалительной, анальгетической активности и острой токсичности 5-арил-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2025;59(5):19–22. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2025-59-5-19-22
7. Rapacz A., Kamiński K., Obniska J., Koczurkiewicz P., Pękala E., Filipek B. Analgesic, antiallodynic, and anticonvulsant activity of novel hybrid molecules derived from N-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide in animal models of pain and epilepsy. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2017;390(6):567–579. https://doi.org/10.1007/s00210-017-1358-3
8. Rapacz A., Rybka S., Obniska J., Sałat K., Powroźnik B., Pękala E., Filipek B. Evaluation of anticonvulsant and antinociceptive properties of new N-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and 3-methylpyrrolidine-2,5-dione. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2016;389:339–348. https://doi.org/10.1007/s00210-015-1194-2
9. Rapacz A., Jakubiec M., Abram M., Jasiński J., Chrzan K., Góra M., Dziubina A., Wójcik-Pszczoła K., Koczurkiewicz-Adamczyk P., Ciepiela K., Pękala E., Obniska J., Kamiński K. Discovery of new 3-(benzo[*b*]thiophen-2-yl) pyrrolidine-2,5-dione derivatives as potent antiseizure and antinociceptive agents–in vitro and in vivo evaluation. *Pharmaceuticals*. 2024;17(11):1532. https://doi.org/10.3390/ph17111532
10. Wójcicka A., Redzicka A. An overview of the biological activity of pyrrolo[3,4-*c*]pyridine derivatives. *Pharmaceuticals*. 2021;14(4):354. https://doi.org/10.3390/ph14040354
11. Гейн В. Л., Дианова Д. Г., Сенокосова О. О., Носова Н. В., Булдакова Е. А., Мокрушин И. Г. Трехкомпонентный синтез 5-арил(гетарил)-4-ароил-1-изобутил-3-гидрокси-3-пирролин-2-онов. *Журнал общей химии*. 2024;94(3):342–349. https://doi.org/10.31857/S0044460X24030039
12. Бунятян Н. Д., Васильев А. Н., Верстакова О. Л., Журавлева М. В., Лепахин В. К., Коробов Н. В., Меркулов В. А., Орехов С. Н., Сакаева И. В., Утешев Д. Б., Яворский А. Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
13. Колла В. Э., Сыропятова Б. Я. Дозы лекарственных средств и химических соединений для лабораторных животных. М: Медицина; 1998. 263 с.

REFERENCES

1. Churyukanov M. V., Davydov O. S., Kukushkin M. L., Yakhno N. N. Prevalence of chronic pain in adult population of the Russian Federation: an all-Russian epidemiological study. *Russian Journal of Pain*. 2025;23(2):54–62. (In Russ.) https://doi.org/10.17116/pain20252302154

2. Zimmer Z., Fraser K., Grol-Prokopczyk H., Zajacova A. A global study of pain prevalence across 52 countries: examining the role of country-level contextual factors. *Pain*. 2022;163(9):1740–1750. https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002557
3. Rometsch C., Martin A., Junne F., Cosci F. Chronic pain in European adult populations: a systematic review of prevalence and associated clinical features. *Pain*. 2025;166(4):719–731. https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000003406
4. Sadiq A., Khan M. A., Zafar R., Ullah F., Ahmad S., Ayaz M. Synthesis and anti-inflammatory and analgesic potentials of ethyl 2-(2,5-dioxo-1-phenylpyrrolidin-3-yl)-2-methylpropanoate. *Pharmaceuticals*. 2024;17(11):1522. https://doi.org/10.3390/ph17111522
5. Stromer W., Fontanilla P., Cywińska-Durczak B. Safety of metamizole superior to comparable OTC analgesics. *Evidence-Based Medicine*. 2025;5:250017. https://doi.org/10.52778/efsm.25.0017
6. Gein V. L., Dianova D. G., Senokosova O. O., Buldakova E. A., Rudakova I. P., Novikova V. V. Study of anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of 5-aryl-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2025;59(5):19–22. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/0023-1134-2025-59-5-19-22
7. Rapacz A., Kamiński K., Obniska J., Koczurkiewicz P., Pękala E., Filipek B. Analgesic, antiallodynic, and anticonvulsant activity of novel hybrid molecules derived from N-benzyl-2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)propanamide and 2-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanamide in animal models of pain and epilepsy. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2017;390(6):567–579. https://doi.org/10.1007/s00210-017-1358-3
8. Rapacz A., Rybka S., Obniska J., Sałat K., Powroźnik B., Pękala E., Filipek B. Evaluation of anticonvulsant and antinociceptive properties of new N-Mannich bases derived from pyrrolidine-2,5-dione and 3-methylpyrrolidine-2,5-dione. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2016;389:339–348. https://doi.org/10.1007/s00210-015-1194-2
9. Rapacz A., Jakubiec M., Abram M., Jasiński J., Chrzan K., Góra M., Dziubina A., Wójcik-Pszczoła K., Koczurkiewicz-Adamczyk P., Ciepiela K., Pękala E., Obniska J., Kamiński K. Discovery of new 3-(benzo[*b*]thiophen-2-yl) pyrrolidine-2,5-dione derivatives as potent antiseizure and antinociceptive agents–in vitro and in vivo evaluation. *Pharmaceuticals*. 2024;17(11):1532. https://doi.org/10.3390/ph17111532
10. Wójcicka A., Redzicka A. An overview of the biological activity of pyrrolo[3,4-*c*]pyridine derivatives. *Pharmaceuticals*. 2021;14(4):354. https://doi.org/10.3390/ph14040354
11. Gein V. L., Dianova D. G., Senokosova O. O., Nosova N. V., Buldakova E. A., Mokrushin I. G. Three-component synthesis of 5-aryl(hetaryl)-4-aroyl-1-isobutyl-3-hydroxy-3-pyrrolin-2-ones. *Russian Journal of General Chemistry*. 2024;94(3):342–349. (In Russ.) https://doi.org/10.31857/S0044460X24030039
12. Bunyatyan N. D., Vasilyev A. N., Verstakova O. L., Zhuravleva M. V., Lepakhin V. K., Korobov N. V., Merkulov V. A., Orekhov S. N., Sakaeva I. V., Uteshev D. B., Yavorsky A. N., editors. Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ.)
13. Kolla V. E., Syropyatov B. Ya. Doses of drugs and chemical compounds for laboratory animals. Moscow: Meditsina; 1998. 263 p. (In Russ.)

Обзорная статья / Review article

УДК 615.28

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2373

Check for updates

CC BY 4.0

Лекарственные грибы и их место в фармакопейных монографиях разных стран (обзор)

С. В. Денисов[1]✉, М. Т. Ханды[2], М. Н. Повыдыш[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

[2] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН). 690022, Россия, г. Владивосток, пр-т 100-летия Владивостока, д. 159

✉ **Контактное лицо:** Денисов Сергей Владимирович. **E-mail:** denisov.sergej@spcpu.ru

Резюме

Введение. Грибы (*Fungi*) – эволюционно обособленная группа гетеротрофных организмов, занимающая уникальное положение в системе живой природы. В настоящее время они рассматриваются медициной как перспективные источники новых биологически активных веществ. Несмотря на тысячелетнюю историю применения в традиционной медицине и рост числа исследований биологической активности различных групп веществ грибов, внедрение этого сырья в фармацевтическую практику ограничено. Ключевая проблема – сложность стандартизации из-за отсутствия нормативной документации. В отличие от растений, число фармакопейных монографий на грибное сырье (плодовые тела, мицелий, экстракты) исчисляется единицами, отсутствуют унифицированные подходы к оценке качества. Таким образом, разработка и гармонизация стандартов на сырье грибного происхождения позволит реализовать его терапевтический потенциал.

Текст. В статье рассматриваются вопросы стандартизации сырья грибного происхождения. Описаны основные сферы применения макромицетов. Названы основные виды высших грибов, используемые в медицине, и озвучены перспективы использования других потенциальных кандидатов. Описаны виды подтвержденной биологической активности для определенных видов грибов, включая противоопухолевую, иммуномодулирующую и антиоксидантную активность. Показан рост числа исследований высших грибов как источников биологически активных веществ. Проведен анализ фармакопей России, Китая, Японии, Индии, США, Бразилии и других стран на наличие в них монографий на грибы. Материалами данного обзора послужили различные фармакопейные издания, находящиеся в открытом доступе, на английском и русском языках. Установлены виды фармакопейных грибов, сходства и различия в подходах к стандартизации. Приведены показатели качества сырья, по которым проводят стандартизацию в различных фармакопеях. Приведены примеры лекарственных препаратов (ЛП) и биологически активных добавок (БАД) к пище на основе грибов, зарегистрированных в России. Обозначены проблемы разработки нормативной документации, стандартов качества и методик анализа на сырье грибного происхождения.

Заключение. Выявлено, что нормативная база, регламентирующая качество сырья грибного происхождения, крайне ограниченна. Необходимо расширение списков фармакопейных видов грибов, используемых для производства лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище.

Ключевые слова: лекарственные грибы, фармакопейные грибы, сырье грибного происхождения, биологическая активность, биологически активные добавки к пище

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

Вклад авторов. С. В. Денисов – сбор и обработка литературных данных, подготовка текста статьи. М. Т. Ханды – обсуждение результатов, разработка концепции исследования, редакция текста. М. Н. Повыдыш – руководство проектом, редакция текста.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124012200181-4).

© Денисов С. В., Ханды М. Т., Повыдыш М. Н., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Denisov S. V., Khandy M. T., Povydysh M. N., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Денисов С. В., Ханды М. Т., Повыдыш М. Н. Лекарственные грибы и их место в фармакопейных монографиях разных стран. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):38–50. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2373

Поступила в редакцию: 14.05.2026
Поступила после рецензирования: 25.06.2026
Принята к публикации: 07.08.2026

Medicinal mushrooms and their place in pharmacopoeial monographs from different countries (review)

Sergei V. Denisov[1]✉, Maria T. Khandy[2], Maria N. Povydysh[1]

[1] Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia
[2] Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity of Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. 159, prospekt 100-letiya Vladivostoka, Vladivostok, 690022, Russia

✉ **Corresponding author:** Sergei V. Denisov. **E-mail:** denisov.sergej@spcpu.ru

Abstract

Introduction. Fungi represent an evolutionarily distinct group of heterotrophic organisms that occupy a unique position in the system of wildlife. Currently, they are considered by modern medicine as promising sources of new biologically active compounds. Despite a millennia-long history of use in traditional medicine and an increasing number of studies on the biological activity of various groups of fungal substances, the incorporation of this raw material into pharmaceutical practice remains limited. The key problem lies in the difficulty of standardization due to the absence of regulatory documentation. Unlike plants, the number of pharmacopoeial monographs on fungal raw materials (fruit bodies, mycelium, extracts) is very low, and unified approaches to quality assessment are lacking. Thus, the development and harmonization of standards for fungal raw materials will enable the realization of their therapeutic potential.

Text. This article addresses the issues of standardization of fungal raw materials. The main areas of application of macromycetes are described. The principal species of higher fungi used in medicine are named, and the prospects for using other potential candidates are discussed. The types of confirmed biological activity for specific fungal species, including antitumor, immunomodulatory, and antioxidant activities, are described. The increasing number of studies on higher fungi as sources of biologically active compounds is demonstrated. The pharmacopoeias of Russia, China, Japan, India, the USA, Brazil, and other countries were analyzed for the presence of monographs on mushrooms. The materials for this review include various pharmacopoeial editions available in open access in English and Russian. The species of pharmacopoeial fungi are identified, along with similarities and differences in standardization approaches. Quality parameters used for standardization in different pharmacopoeias are presented. Examples of medicinal products and biologically active food additives based on mushrooms registered in Russia are given. The problems of developing regulatory documentation, quality standards, and analytical methods for fungal raw materials are outlined.

Conclusion. It has been determined that the regulatory framework governing the quality of fungal raw materials is extremely limited. The expansion of the lists of pharmacopoeial fungal species used for the production of medicines and dietary supplements is necessary.

Keywords: medicinal mushrooms, pharmacopoeial mushrooms, raw materials of mushroom origin, biological activity, biologically active food additives

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

Contribution of the authors. Sergei V. Denisov – collection and processing of literature data, preparation of the manuscript text. Maria T. Khandy – discussion of the results, development of the research concept, manuscript editing. Maria N. Povydysh – editing of the manuscript, project supervision.

Funding. This work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Project No. 124012200181-4).

For citation: Denisov S. V., Khandy M. T., Povydysh M. N. Medicinal mushrooms and their place in pharmacopoeial monographs from different countries. *Drug development & registration*. 2026;15(3):38–50. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2373

Received: 14.05.2026
Revised: 25.06.2026
Accepted: 07.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Фармакогнозия стояла у истоков зарождения медицины. Люди передавали из поколения в поколение знания об использовании лекарственных растений и грибов. В народной медицине использовали более 200 видов грибов, включая несъедобные и ядовитые [1]. Кроме того, высокое содержание белка, пищевых волокон, витаминов, минеральных веществ делает их источником сбалансированного рациона питания [2].

Ведущая роль в применении грибов в лечении заболеваний принадлежит восточной медицине. Около 2000 лет назад в трактате о лекарственных грибах китайский целитель Ву Син описал более 100 видов грибов [3]. Один из этих грибов – гриб рейши – использовался в качестве иммуностимулятора (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.) и стал настолько популярным, что быстро занял место и на западном рынке [3]. Помимо восточных стран, известно о многовековой истории применения грибов в медицине Центральной Америки, Африки и Европы [4, 5]. На территории России издавна известен березовый гриб, или чага (*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilat), применяющийся при лечении туберкулеза, онкологических заболеваний и заболеваний желудочно-кишечного тракта [6].

В медицинской биотехнологии микроскопические грибы занимают ведущую роль. Они являются продуцентами ферментов, антибиотиков, спиртов, стероидов, органических кислот [7–10]. В последнее десятилетие возросло количество исследований макромицетов в качестве источников биологически активных веществ [10, 11]. Они богаты полисахаридами, терпеноидами, лактонами, алкалоидами, сапонинами, фенольными соединениями [1, 4]. Возросшее число исследований грибов с целью выделения индивидуальных веществ и создания лекарственных препаратов на их основе является толчком к разработке нормативной документации, обеспечивающей качество новых лекарственных средств. Государственная фармакопея (ГФ) – главный свод законов, норм, стандартов, призванных обеспечить качество лекарственных средств [12]. Важно проанализировать представленность сырья грибного происхождения в различных фармакопеях мира.

Задачи исследования: анализ фармакопейных монографий и аналогичных нормативных документов разных стран на сырье грибного происхождения с целью установления подходов и методов стандартизации сырья лекарственных грибов, а также понимания широты нормативной базы и степени ее разработанности.

Исследование проводили с применением информационных поисковых систем (PubMed, ScholarGoogle) и библиотечных баз данных (eLibrary, Cyberleninca). Анализировали данные фармакопей, находящихся в открытом доступе, на английском и русском языках, а именно: Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания, 2018, и XV издания, 2023 (ГФ РФ XIV изд. и ГФ РФ XV изд.); Международной фармакопеи XI издания, 2022; Европейской фармакопеи XI издания, 2022; Фармакопеи США, 2024; Китайской фармакопеи, 2020; Индийской фармакопеи, 2022; Японской фармакопеи XVII издания, 2016; Государственной фармакопеи Республики Казахстан, 2009; Государственной фармакопеи Республики Беларусь, 2007; Бразильской фармакопеи VI издания, 2019.

Грибы как лекарство и биологически активная добавка к пище

Нормативная база для стандартизации сырья грибного происхождения крайне мала. Не во всех фармакопеях представлены статьи на грибы, что объясняется сравнительно недавним возросшим интересом ученых к грибам как лекарственному сырью. В таблице 1 приводятся виды грибов, представленных в различных фармакопеях. Монографии на лекарственные грибы при наличии находятся в разделе монографий на лекарственное растительное сырье (ЛРС) и имеют схожую структуру (рисунок 1).

Изменений в сторону увеличения количества фармакопейных монографий на сырье грибного происхождения в настоящий момент не наблюдается. Фармакопейная статья (ФС) на березовый гриб (чага) переходит из издания в издание, начиная с Государственной фармакопеи СССР XI издания[1]; ФС на ганодерму лакированную из фармакопеи США 2023 года[2] перешла в соответствующее издание 2024 года[3].

В ГФ РФ XIV издания представлена ФС на березовый гриб (*I. obliquus*)[4]. Согласно справочнику Видаль чага проявляет общеукрепляющее и иммуностимулирующее действие[5]. Сообщается о наличии противовирусного, противовоспалительного, антиоксидантного и противоопухолевого действия [5, 13–15].

В Китайской фармакопее[6] представлены монографии на сырье *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.; *Ganoderma sinense* J.D. Zhao, L.W. Hsu, X.Q. Zhang; *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst; *Coriolus versicolor* (L.) Quel.;

[1] Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Доступно по: https://djvu.online/file/deOifPMVCbTse Ссылка активна на 27.05.2026.

[2] United State Pharmacopeia 46 – NF 41. 2023. Available at: https://www.webofpharma.com/2023/05/usp-2023-pdf-united-state-pharmacopeia.html Accessed: 27.05.2026.

[3] United State Pharmacopeia 47 – NF 42. 2024. Available at: https://www.webofpharma.com/2024/02/usp-2024-pdf-free-download-united-state.html Accessed: 25.04.2026.

[4] Государственная фармакопея Российской Федерации. ФС.2.5.0103.18 «Чага *Inonotus obliquus*». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/2/2-5/chaga-inonotus-obliquus/ Ссылка активна на 25.04.2026.

[5] Справочник Видаль. Доступно по: https://www.vidal.ru/drugs/aescusan__10017?ysclid=mkn72d0run813606327 Ссылка активна на 25.04.2026.

[6] Chinese Pharmacopoeia. 2020. Available at: https://www.webofpharma.com/2023/09/chinese-pharmacopoeia-2020-in-english.html Accessed: 25.04.2026.

Таблица 1. **Грибы в фармакопеях разных стран**

Table 1. **Mushrooms in pharmacopoeias of different countries**

Наименование фармакопеи Name of the pharmacopoeia	Название вида Species name	Стандартизация Standardization
ГФ РФ XIV, 2018 The State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV, 2018	*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilat	Качественная реакция на хромогенный комплекс. Количественный анализ: содержание фенольных соединений спектрофотометрическим методом в пересчете на резорцин Qualitative reaction for a chromogenic complex. Quantitative analysis: determination of phenolic compound content by spectrophotometric method, calculated as resorcinol
Китайская фармакопея, 2020 Chinese Pharmacopoeia, 2020	*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.	Количественный анализ: методом ВЭЖХ в пересчете на аденозин Quantitative analysis: by HPLC method, calculated as adenosine
	Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst; *Ganoderma sinense* J.D. Zhao, L.W. Hsu, X.Q. Zhang	Количественный анализ: спектрофотометрия в УФ-области, а также колориметрия для определения полисахаридов и тритерпеновых кислот Quantitative analysis: UV spectrophotometry, as well as colorimetry for the determination of polysaccharides and triterpene acids
	Coriolus versicolor (L.) Quel.	Количественный анализ: содержание сахаров титриметрическим методом в пересчете на безводную глюкозу (обратная алкалиметрия) Quantitative analysis: sugar content by titrimetric method, calculated as anhydrous glucose (indirect alkalimetry)
	Calvatia gigantea (Batsch ex Pers.) Lloyd	Количественный анализ: определение суммы экстрактивных веществ Quantitative analysis: determination of the total extractive substances
Японская фармакопея XVII издания, 2016 Japanese Pharmacopoeia, XVII, 2016	*Poria cocos* (Schwein.) F.A. Wolf	Качественные реакции на полисахариды Qualitative reactions for polysaccharides
Фармакопея США, 2024 United States Pharmacopoeia, 2024	*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst	Качественный анализ: ТСХ, ВЭЖХ на тритерпеновые кислоты, ВЭЖХ на водорастворимые полисахариды. Количественный анализ: содержание тритерпеновых кислот методом ВЭЖХ Qualitative analysis: TLC, HPLC for triterpene acids, HPLC for water-soluble polysaccharides. Quantitative analysis: determination of triterpene acid content by HPLC

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Calvatia gigantea (Batsch ex Pers.) Lloyd. В фармакопее США представлена статья на *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.

В Японской фармакопее[1] представлен гриб пория кокосовидная (*Poria cocos* (Schwein.) F.A. Wolf), который проявляет иммуномодулирующую, противовоспалительную, противоопухолевую и антиоксидантную активность и для которого описано влияние на качество сна [16–20].

В Международной, Европейской, Индийской, Бразильской фармакопеях, а также в фармакопеях Республики Казахстан и Республики Беларусь монографий на сырье грибного происхождения не было найдено.

В разных странах подходы к стандартизации различаются (таблица 2). В Китайской фармакопее имеются сведения об использовании того или иного вида сырья в медицине, а в Японской фармакопее на вид *P. cocos* отсутствует показатель количественного определения. Фармакопейные монографии стран Азии напоминают прописи на лекарственное сырье, используемое в медицине.

[1] The Japanese Pharmacopoeia. XVII edition. 2016. Available at: https://www.webofpharma.com/2021/04/the-japanese-pharmacopoeia-seventeenth.html Accessed: 25.04.2026.

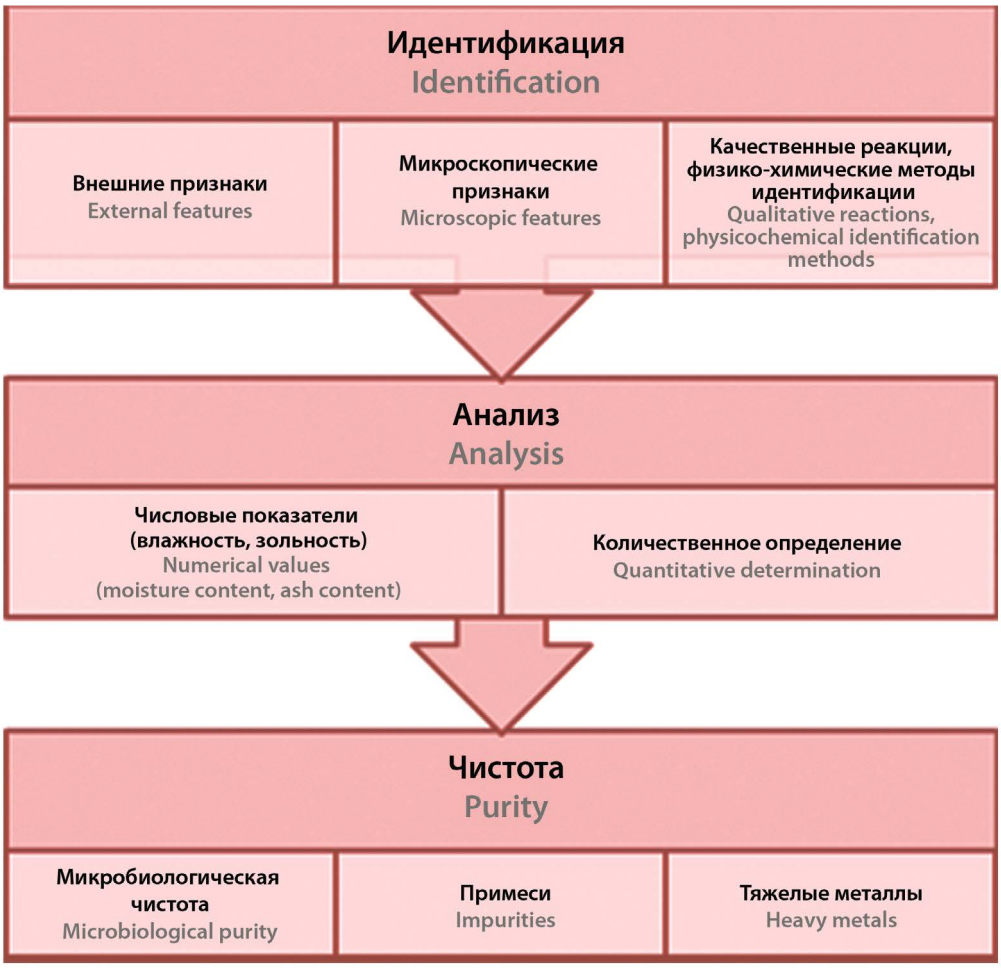


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Общая структура фармакопейных монографий на ЛРС и сырье грибного происхождения

Figure 1. General structure of pharmacopoeial monographs on medicinal plant and mushroom raw materials

Единственным видом грибов, который входит в состав лекарственных препаратов (ЛП) является березовый гриб (чага). В Государственном реестре лекарственных средств зарегистрировано 10 препаратов с международными непатентованными наименованиями «Чага измельченная», «Гриба березового настойка», «Гриба березового экстракт», выпускающихся в форме измельченного сырья в пачках, в виде настойки для приема внутрь и в виде препарата «Бефунгин» – раствора для приема внутрь и концентрата для приготовления раствора для приема внутрь[1]. Данный гриб входит в состав многочисленного количества биологически активных добавок (БАД) к пище.

БАД к пище – это источники эссенциальных пищевых веществ. Продажа БАД к пище в Российской Федерации осуществляется относительно недавно (с 1985 года) [21]. Многие исследователи отмечают динамический рост количества выпускаемых БАД к пище и рост потребительского спроса на них [21–24].

Согласно реестру свидетельств о государственной регистрации и данным электронной платформы medum.ru, в России зарегистрировано 60 БАД к пище, содержащих в составе березовый гриб (чага)[2, 3]. Среди них наибольшее количество составляют фильтр-пакеты (43 %) и капсулы для приема

[1] Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.minzdrav.gov.ru/GRLS.aspx?isfs=0&regtype=1,6&pageSize=10&order=Registered&orderType=desc&pageNum=1&MnnR=чага&token=cda015c3-119b-4f1b-b9f2-43a38d97c028 Ссылка активна на 10.01.2026.

[2] Реестр свидетельств о государственной регистрации. Доступно по: https://fp.crc.ru/evrazes/?pg=3&oper=s&rpp=25&type=max&text_prodnm=%F7%E0%E3%E0&text_n_type=%C5 Ссылка активна на: 27.05.2026.

[3] Электронная платформа medum.ru. Доступно по: https://medum.ru/svidetelstva-o-gosudarstvennoj-registracii-bad-poisk/4?s=гриб Ссылка активна на: 27.05.2026.

Таблица 2. Показатели качества, представленные в фармакопеях

Table 2. Quality indicators presented in pharmacopoeias

Показатели подлинности и качества Authenticity and quality indicators	**Наименование объекта** Name of the object						
	ГФ РФ XIV, 2018 The State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV, 2018	**Китайская фармакопея, 2020** Chinese Pharmacopoeia, 2020				**Фармакопея США, 2024** United States Pharmacopoeia, 2024	**Японская фармакопея XVII издания, 2016** Japanese Pharmacopoeia, XVII, 2016
	***Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilat**	***Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.**	***Calvatia gigantea* (Batsch ex Pers.) Lloyd**	***Coriolus versicolor* (L.) Quel.**	***Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst**	***Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst**	***Poria cocos* (Schwein.) F.A. Wolf**
Внешние признаки External signs	+	+	+	+	+	+	+
Микроскопические признаки Microscopic signs	+	+	+	+	+	+	+
Определение основных групп БАВ/ идентификация Identification of the main BAS groups/ identification	+	+	+	+	+	+	+
Числовые показатели (влажность/ зольность) Numerical values (humidity/ash content)	+	+	+	+	+	+	+
Количественное определение Quantitative determination	+	–	+	+	+	+	–
Микробиологическая чистота Microbiological purity	+	+	+	+	+	+	+
Примеси Impurities	+	+	+	+	+	+	–
Упаковка/маркировка/хранение Packaging/labeling/storage	+	+	+	+	+	+	+
Фармакологический эффект Pharmacological effect	–	+	+	+	+	–	–
Способ применения / дозировка Method of application/dosage	–	+	+	+	+	–	–

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

внутрь (28 %), но встречаются и такие формы, как порошки (17 %), таблетки (5 %), сиропы (3 %), драже (2 %) и растворы-концентраты (2 %). Примерами могут служить следующие БАД к пище: «Витаботаника Чага», капсулы, ЗАО «Эвалар»; «Чага», измельченное сырье, фильтр-пакеты, ООО «Лекра-СЭТ»; «Фиточай Чага (березовый гриб), серия «Алтай». Травы Алтая», фильтр-пакеты, ООО «Алсу»; «Березовый гриб чага молотая (*Inonotus obliquus*), Доктор Грибов», фильтр-пакеты, ИП Орлов Антон Владимирович, и др. Помимо ЛП и БАД к пище, разработаны и используются косметические средства с чагой, такие как «Крем-бальзам «Чага» для тела при заболевании суставов», «Крем-бальзам «Чага» для ног при заболеваниях вен», «Бальзам В. Дикуля», «Бефунгин, биокрем для ног», «Бефунгин, бальзам для тела», «Масло чаги» [15].

В качестве БАД к пище разрешены к использованию на территории Российской Федерации и грибы, включенные в зарубежные фармакопеи (таблица 3).

Таблица 3. Виды грибов, входящие в состав БАД к пище и представленные в зарубежных фармакопеях

Table 3. Species of mushrooms included in dietary supplements and listed in foreign pharmacopoeias

Наименование вида Name of the species	**Название зарубежной фармакопеи, содержащей данный вид** Name of a foreign pharmacopoeia containing this species	**Количество зарегистрированных БАД к пище на территории РФ** Number of registered dietary supplements in the territory of the Russian Federation
Cordyceps sinensis (Berk.) Sacc.	Китайская фармакопея, 2020 Chinese Pharmacopoeia, 2020	57
Coriolus versicolor (L.) Quel.		7
Calvatia gigantea (Batsch ex Pers.) Lloyd		2
Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst	Китайская фармакопея, 2020 Фармакопея США, 2024 Chinese Pharmacopoeia, 2020 United States Pharmacopoeia, 2024	72
Poria cocos (Schwein.) F.A. Wolf	Японская фармакопея XVII издания, 2016 Japanese Pharmacopoeia, XVII, 2016	1

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

БАД к пище на основе *C. versicolor* реализуются под названиями «Трутовик разноцветный», «Траметес разноцветный». *C. gigantean* используется в виде БАД к пище под названием «Дождевик гигантский». *G. lucidum* можно встретить под названиями «Рейши», «Линчжи», «Ганодерма». Помимо фармакопейных видов, в качестве БАД к пище используются следующие виды грибов: ежовик гребенчатый (*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.), лентинула съедобная (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), грифола курчавая (*Grifola frondosa* (Dicks.) Gray), агарик бразильский (*Agaricus blazei* auct. non Murrill), веселка обыкновенная (*Phallus impudicus* L.) и др. Нередко используются комбинации нескольких лекарственных грибов или комплексные добавки, например: «Ежовик + рейши», капсулы, ООО «Метанутрикс»; «Смесь экстрактов 8 грибов KIKI Health», капсулы, KIKI Limited; «Экстракт грибов Рейши, Шиитаке и Мейтаке», капсулы, Solgar, Inc.

Увеличение числа научных исследований и клинических испытаний позволяет говорить о перспективе становления данных видов грибов лекарственными средствами [24–26]. Рост количества исследований грибов отчетливо демонстрирует рисунок 2, составленный по материалам электронной платформы PubMed[1].

Исследования грибов с целью выделения новых биологически активных веществ позволят расширить номенклатуру лекарственных средств и биологически активных добавок к пище, что требует создания нормативной документации, регламентирующей качество сырья.

[1] National Library of Medicine PubMed. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ Accessed: 10.03.2026.

Биологическая активность грибов

Грибы издревле известны своими целебными свойствами. Многовековая история применения в народной медицине, опыт, передаваемый потомкам наряду с современными технологиями, открывают огромное поле научной деятельности. Вторичный метаболизм грибов отличается исключительным химическим разнообразием: продуцируемые ими соединения (терпеноиды, поликетиды, нерибосомные пептиды, алкалоиды и др.) зачастую обладают уникальными механизмами действия, не характерными для высших растений [27–29]. Именно из грибного сырья и культуральной жидкости были впервые выделены такие знаковые соединения, как пенициллин, циклоспорин А, ловастатин и эрготамин [30]. Биологически активные вещества высших грибов проявляют различную биологическую активность и обладают уникальными механизмами действия (рисунок 3). Для высших грибов установлено антиоксидантное, противоопухолевое, противовоспалительное, противовирусное, противопаразитарное, противомикробное, гепатопротекторное, антидиабетическое действие [31, 32].

Кордицепс китайский (*C. sinensis*) активно используется в традиционной китайской медицине. Широко изучаются противоопухолевые и антиоксидантные свойства. Его обширное использование подтверждает значительное количество БАД к пище, доступных к продаже, в том числе и в Российской Федерации. Сообщается, что БАВ данного гриба способствуют повышению либидо, проявляют иммуномодулирующее действие, замедляют процессы старения и оказывают антиатеросклеротический эф-

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Количество публикаций по запросу «Medicinal fungi»

Figure 2. Number of publications on request "Medicinal fungi"

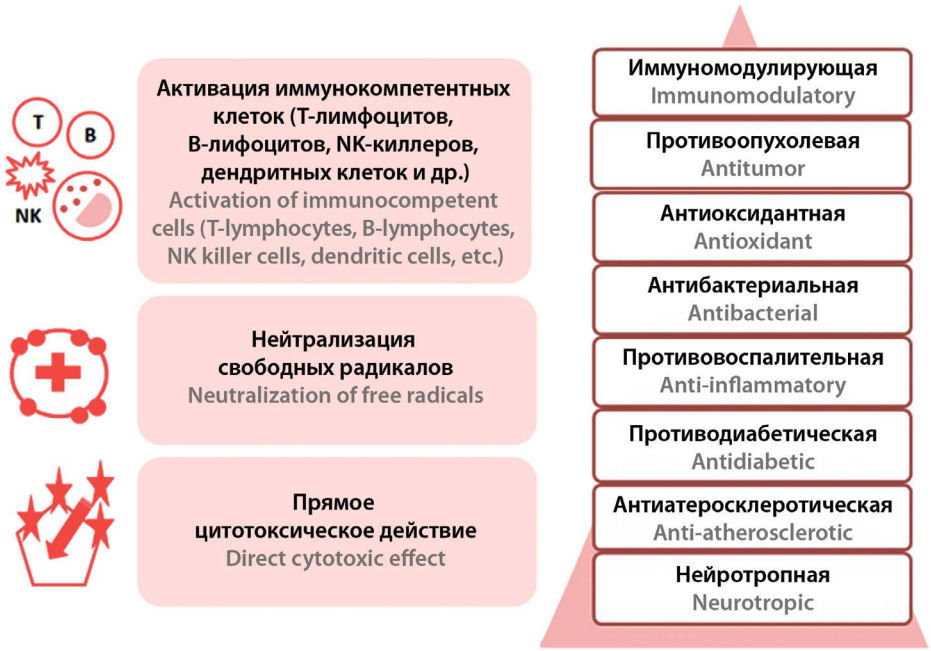


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Основные механизмы действия БАВ и виды биологической активности высших грибов

Figure 3. Main mechanisms of action of biologically active substances and types of biological activity of higher fungi

фект [33]. Существуют исследования, показывающие эффективность применения кордицепса при аритмиях [34]. Изучены механизмы противоопухолевого действия *C. sinensis* [35]. Трутовик разноцветный (*C. versicolor*) проявляет иммуномодулирующее, антиоксидантное и противомикробное действие [36, 37]. Современные исследования показывают пребиотическую активность трутовика разноцветного *in vitro* [38]. С данным сырьем разработан вагинальный гель, используемый в качестве средства гигиены, противомикробного, противовоспалительного средства [39]. Головач гигантский (*C. gigantea*) обладает антиокси-

дантными, противораковыми, иммуномодулирующими, противомикробными, противодиабетическими и ранозаживляющими свойствами [40–42]. В экспериментах на мышах подтверждено гипогликемическое действие головача гигантского [43]. Ганодерма китайская (*G. sinense*) и ганодерма лакированная (*G. lucidum*) – представители многочисленного и разнообразного рода *Ganoderma* sp. *G. sinense* – сырье для производства вспомогательного препарата, используемого во время химиотерапии онкологических заболеваний в Китае, обладающее противоопухолевым, антиоксидантным, иммуномодулирующим действием [44]. *G. lucidum* зарегистрирована в реестре пищевых добавок в США как средство для укрепления иммунитета [45].

Одна из основных причин смертности среди заболеваний – это онкологические заболевания [46]. Грибы широко исследуются в качестве источников БАВ, обладающих противоопухолевой активностью. В основном противоопухолевой активностью обладают полисахариды, в частности β-глюканы. Принцип действия – стимулирование собственных механизмов защиты. Выраженность эффекта зависит от строения, характера разветвления цепи, молекулярной массы [46].

Аутоиммунные заболевания стали колоссальной проблемой современности. С активацией иммунокомпетентных клеток (макрофаги, лимфоциты, клетки-киллеры, интерлейкины, цитокины и др.) связывают иммуномодулирующую активность грибных полисахаридов [25, 46–49].

Антибактериальное, противовирусное и противопротозойное действие описано для терпеноидов, в частности сесквитерпеноидов, выделенных из представителей грибов рода *Lentinus* sp., *Ganoderma* sp. [47]. Противовирусную активность также связывают с полисахаридами. Для грибов, относящихся к родам *Ganoderma* sp., *Lentinus* sp., *Pleurotus* sp., подтверждена противовирусная активность и установлена зависимость между содержанием полисахаридной фракции и интенсивностью противоинфекционного действия [50].

Большая группа фенольных соединений, выделяемых грибами, включающая ароматические спирты, дубильные вещества, гидроксикоричные кислоты, лигнаны, флавоноиды, ответственна за нейропротекторные свойства, антиоксидантную защиту организма и профилактику сердечно-сосудистых заболеваний [47]. С антиоксидантными свойствами связывают антивозрастной эффект, используемый в сфере производства косметики и биологически активных добавок к пище. Нейтрализация свободных радикалов, пероксидов характерна также для токоферолов, содержащихся в липидной фракции различных видов грибов, что отражает их антиоксидантное действие. За антиатеросклеротический эффект и профилактику сердечно-сосудистых заболеваний ответственны полиненасыщенные жирные кислоты грибов [47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было показано, что номенклатура официальных видов грибов, используемых в качестве сырья для производства лекарственных препаратов, крайне мала. На сегодняшний день можно проследить увеличение ассортимента БАД к пище на основе грибов и спроса на них. В Российской Федерации в качестве БАД к пище используются грибы, являющиеся фармакопейными в зарубежных странах. Обширное число исследований и разработок в этой области требует в дальнейшем разработки нормативной документации.

У каждой страны есть возможность расширения номенклатуры официального и фармакопейного сырья, чего требует современное научное сообщество. Поэтому тема разработки нормативной базы на сырье грибного происхождения, как и детальное изучение химического состава с целью выявления БАВ, остается актуальной задачей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Костромина Е. О., Чхенкели В. А. Получение препаратов на основе дереворазрушающих грибов. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014;(6):48–51.
2. Николаева М. А., Бакайтис В. И., Рязанова О. А. Влияние химического состава на пищевую ценность свежих грибов. *Индустрия питания*. 2021;6(3):84–92. https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-3-10
3. Ильницкий А. Н. Фунготерапия в современных медицине и здравоохранении. *Геронтология*. 2021;9(3).
4. Вассер С. П. Наука о лекарственных шляпочных грибах: современные перспективы, достижения, доказательства и вызовы. *Биосфера*. 2015;7(2):238–248.
5. Wormer E. J. Mit Pilzen heilen – Immunaktivierung durch Vital pilze. *Die Naturheilkunde*. 2022;5:31–34. (In Germ.)
6. Змитрович И. В., Денисова Н. П., Баландайкин М. Э., Белова Н. В., Бондарцева М. А., Переведенцева Л. Г., Перелыгин В. В., Яковлев Г. П. Чага и ее биоактивные комплексы: история и перспективы. *Формулы фармации*. 2020;2(2):84–93.
7. Осмоловский А. А., Крейер В. Г., Баранова Н. А., Егоров Н. С. Протеолитические ферменты мицелиальных грибов с плазминоподобной и активаторной к плазминогену активностью. *Успехи современной биологии*. 2021;141(5):467–482. https://doi.org/10.31857/S0042132421050069
8. Мухаммадиев Б. К., Муминова Р. Д. Штамм гриба рода *Trichoderma harzianum*-25/П продуцент целлюлолитических ферментов. *Евразийский Союз Ученых*. 2020;5(74):26–31. https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2020.9.74.794
9. Цед Е. А., Василенко З. В., Королёва Л. М., Волкова С. В., Астапенко С. В., Селемина Н. М. Рисовый гриб как продуцент органических кислот при получении безалкогольных напитков брожения. *Пиво и напитки*. 2012;4;26–29.
10. Огарков Б. Н., Огаркова Г. Р., Самусенок Л. В. Микро- и макромицеты как основа биотехнологических препаратов. *Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология»*. 2010;3(2):75–86.

11. Петровская И. Ф. Биоактивные соединения высших грибов и наиболее перспективные из них для разработки противовирусных препаратов. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. 2024;6:21–25. https://doi.org/10.37882/2223-2966.2024.6-2.30
12. Дорофеев В. Л. Фармакопеи разных стран: обзор стандартов качества лекарственных средств. *Ремедиум*. 2011;3:48–54.
13. Шиповалов А. В., Кудров Г. А., Карташов М. Ю., Драчкова И. А., Пьянков О. В., Омигов В. В., Таранов О. С., Теплякова Т. В. Противовирусная активность водного экстракта базидиального гриба *Inonotus obliquus* в отношении вируса SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*) в экспериментах *in vivo* на мышах линии BALB/c. *Вопросы вирусологии*. 2023;68(2):152–160. https://doi.org/10.36233/0507-4088-168
14. Abgomaa A., Elbadawy M., Ishihara Y., Yamamoto H., Kaneda M., Yamawaki H., Shinohara Y., Usui T., Sasaki K. Anti-cancer activity of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) against dog bladder cancer organoids. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1159516 https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1159516
15. Кузнецова О. Ю. Обзор современных препаратов с биологически активными композициями березового гриба чага. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016;(1):128–141.
16. Deng L., Huang G. The medicinal value of natural and modified *Poria cocos* polysaccharides. *Polymer Bulletin*. 2024;81(18):16355–16372. https://doi.org/10.1007/s00289-024-05499-0
17. Guo Y., Liu T., Li D. Research progress on the pharmacological effects of *Poria cocos*: a narrative update. *Frontiers in Nutrition*. 2026;13:1774161. https://doi.org/10.3389/fnut.2026.1774161
18. Peng X., Jia C., Chi H., Wang P., Fu H. Li Y., Wang Q. Efficacy and Pharmacological Mechanism of *Poria cocos*-Based Formulas Combined With Chemotherapy for Ovarian Cancer: A Integrated Systems Pharmacology Study. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:788810. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.788810
19. Nie A., Chao Y., Zhang X., Jia W., Zhou Z., Zhu C. Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Wolfiporia cocos* (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:505249. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.505249
20. Kim H., Choi H., Park B.-G., Ju H.-J., Kim Y.-I. Efficacy of Poria Cocos Extract on Sleep Quality Enhancement: A Clinical Perspective with Implications for Functional Foods. *Nutrients*. 2023;15(19):4242. https://doi.org/10.3390/nu15194242
21. Турченков С. С., Хлебцова Е. Б., Пучков М. Ю. Ситуационный анализ современного рынка биологически активных пищевых добавок. *Современные проблемы науки и образования*. 2013;5.
22. Гаммель И. В., Суворова О. В., Запорожская Л. И. Анализ тенденций российского рынка биологически активных добавок к пище. *Медицинский альманах*. 2017;6(51):154–158.
23. Афанасьева Т. Г. Потребительские предпочтения и позиционирование биологически активных добавок растительного происхождения. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2006;2:204–205.
24. Айрапетова А. Ю., Ивченко О. Г., Коновалов Д. А., Манукян К. А., Андреева Н. А. Изучение ассортимента лекарственных средств и биологически активных добавок к пище на основе грибов на региональном рынке Кавказских Минеральных Вод. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2013;15(3–6):1719–1721.
25. Семёнова Е. В., Тюменцева В. Р., Козубенко А. А., Чеботок В. В., Борисовская И. В. Биологически активные соединения грибов – источник инноваций в медицине. *Современные проблемы науки и образования*. 2020;1:96.
26. Егорова Е. Ю., Школьникова М. Н. Продукты функционального назначения и БАД к пище на основе дикорастущего сырья. *Пищевая промышленность*. 2007;11:12–14.
27. Wadhwa K., Kapoor N., Kaur H., Abu-Seer E. A., Tariq M., Siddiqui S., Yadav V. K., Niazi P., Kumar P., Alghamdi S. A Comprehensive Review of the Diversity of Fungal Secondary Metabolites and Their Emerging Applications in Healthcare and Environment. *Mycobiology*. 2024;52(6):335–387. https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2416736
28. Уэйли А. К., Уэйли А. О., Новикова В. В., Васильев В. О., Клемпер А. В., Лукашов Р. И., Мандрик Н. И., Гурина Н. С., Яковлев Г. П., Лужанин В. Г. Скрининг противомикробной и антиоксидантной активности шляпочных грибов, произрастающих в Ленинградской области. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):111–125. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1576
29. Сакович В. В., Жерносеков Д. Д. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ. *Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук*. 2018;1:3–13.
30. Aly A. H., Debbab A., Proksch P. Fifty years of drug discovery from fungi. *Fungal Diversity*. 2011;50:3–19. https://doi.org/10.1007/s13225-011-0116-y
31. Bhambri A., Srivastava M., Mahale V. G., Mahale S., Karn S. K. Mushrooms as Potential Sources of Active Metabolites and Medicines. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:837266. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.837266
32. Фахртдинова А. Ф., Багаева Н. З., Коваленко С. А. Оценка перспективности использования биомассы гриба *Inonotus obliquus* для выделения биологически активных веществ. *Флагман науки*. 2023;4(4):872–878.
33. Tuli H. S., Sandhu S. S., Sharma A. K. Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to Cordycepin. *3 Biotech*. 2014;4(1):1–12. https://doi.org/10.1007/s13205-013-0121-9
34. Wang L., Sun H., Yang M., Xu Y., Hou L., Yu H., Wang X., Zhang Z., Han J. Bidirectional regulatory effects of Cordyceps on arrhythmia: Clinical evaluations and network pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:948173. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.948173
35. Huo X., Liu C., Bai X., Li W., Li J., Hu X., Cao L. Aqueous extract of *Cordyceps sinensis* potentiates the antitumor effect of DDP and attenuates therapy-associated toxicity in non-small cell lung cancer via IκBα/NFκB and AKT/MMP2/MMP9 pathways. *RSC Advances*. 2017;7(60):37743–37754. https://doi.org/10.1039/C7RA04716A
36. Шеркулова Ж. П., Мустафаев И. М., Узаков З. З. Распространение и инновационный потенциал лекарственного гриба *Trametes versicolor* (L.) Lioyd в Узбекистане. *Научное обозрение. Биологические науки*. 2025;4:46–51. https://doi.org/10.17513/srbs.1434

37. Садыкова В. С., Ковалева Г. К., Чижмотря Н., Гаврилова А. Г., Громовых Т. И., Новицкий И. А. Антимикробная активность грибов рода *Trichoderma* и *Trametes* в отношении условно-патогенных микроорганизмов рода *Staphylococcus*. Сибирский медицинский журнал. 2006;(8):18–20.
38. Yu Z.-T., Liu B., Mukherjee P., Newburg D. S. *Trametes versicolor* extract modifies human fecal microbiota composition *in vitro*. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2013;68(2):107–112. https://doi.org/10.1007/s11130-013-0342-4
39. Criscuolo A. A., Sesti F., Piccione E., Mancino P., Belloni E., Gullo C., Ciotti M. Therapeutic Efficacy of a *Coriolus versicolor* – Based Vaginal Gel in Women with Cervical Uterine High-Risk HPV Infection: A Retrospective Observational Study. *Advances in Therapy*. 2021;38:1202–1211. https://doi.org/10.1007/s12325-020-01594-6
40. Cicha-Jeleń M., Muszynska B., Kala K., Sulkowska-Ziaja K. Medicinal Potential of the Giant Puffball Mushroom *Calvatia gigantea* (*Agaricomycetes*): A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2024;26(8):13–25. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2024054161
41. Eroğlu C., Seçme M., Atmaca P., Kaygusuz O., Gezer K., Bağcı G., Dodurga Y. Extract of *Calvatia gigantea* inhibits proliferation of A549 human lung cancer cells. *Cytotechnology*. 2016;68(5):2075–2081. https://doi.org/10.1007/s10616-016-9947-4
42. Meng X., Zhao W., Zhao Y., Guo J., Ding X., Gai Y., Lv H., Wang Y., Chen J. Isolation and structural identification of the homogeneous polysaccharide CGPA1 from *Calvatia gigantea* with wound healing effects. *Carbohydrate Polymers*. 2025;363:123727. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123727
43. Ogbole O. O., Nkumah A. O., Linus A. U., Falade M. O. Molecular identification, *in vivo* and *in vitro* activities of *Calvatia gigantea* (macro-fungus) as an antidiabetic agent. *Mycology*. 2019;10(3):166–173. https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1595204
44. Jiang Y., Chang Y., Liu Y., Zhang M., Luo H., Hao C., Zeng P., Sun Y., Wang H., Zhang L. Overview of *Ganoderma sinense* polysaccharide–an adjunctive drug used during concurrent Chemo/Radiation therapy for cancer treatment in China. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2017;96:865–870. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.060
45. Loyd A. L., Richter B. S., Jusino M. A., Truong C., Smith M. E., Blanchette R. A., Smith J. A. Identifying the "Mushroom of Immortality": Assessing the *Ganoderma* Species Composition in Commercial Reishi Products. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:1557. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01557
46. Степаненко Р. Н., Львов В. Л., Андреев И. В., Новикова Е. М., Козырева О. В., Разваляева Н. А., Мартынов А. И. β (1→6)-D-глюкан из плодового тела гриба *Lentinus edodes*: структура и иммунобиологические свойства. *Иммунология*. 2019;40(4):13–22. 10.24411/0206-4952-2019-14002
47. Bhambri A., Srivastava M., Mahale V. G., Mahale S., Karn S. K. Mushrooms as Potential Sources of Active Metabolites and Medicines. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:837266. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.837266
48. Иконникова Н. В., Лобай М. В. Биологические свойства и иммунотропные эффекты грибов рода *Cordyceps*. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2019;2:68–76.
49. Цаканян А. В., Андреасян Н. А., Николян С. А., Мартиросян С. Т. Прикладное значение грибов в жизни человека как источников природных биологически активных соединений. *Биологический журнал Армении*. 2023;2(75):88–95. https://doi.org/10.54503/0366-5119-2023.75.2-3-88
50. Разумов И. А., Косогова Т. А., Казачинская Е. И., Пучкова Л. И., Щербакова Н. С., Горбунова И. А., Михайловская И. Н., Локтев В. Б., Теплякова Т. В. Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2010;55(9–10):14–18.

REFERENCES

1. Kostromina E. O., Chkhenkeli V. A. Preparations based on wood-decay fungi. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014;(6):48–51. (In Russ.)
2. Nikolaeva M. A., Bakaitis V. I., Ryazanova O. A. Chemical Composition Influence on the Nutritional Value of Fresh Mushrooms. *Food Industry*. 2021;6(3):84–92. (In Russ.) https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-3-10
3. Ilnitski A. N. Fungotherapy in Medicine and Healthcare. *Gerontology*. 2021;9(3). (In Russ.)
4. Wasser S. P. Medicinal mushroom science: current prospects, advances, evidences, and challenges. *Biosfera*. 2015;7(2):238–248. (In Russ.)
5. Wormer E. J. Mit Pilzen heilen – Immunaktivierung durch Vital pilze. *Die Naturheilkunde*. 2022;5:31–34. (In Germ.)
6. Zmitrovich I. V., Denisova N. P., Balandaikin M. E., Belova N. V., Bondartseva M. A., Perevedentseva L. G., Perelygin V. V., Yakovlev G. P. Chaga and its bioactive complexes: history and perspectives. *Pharmacy formulas*. 2020;2(2):84–93. (In Russ.)
7. Osmolovskiy A. A., Kreyer V. G., Baranova N. A., Egorov N. S. Proteolytic enzymes of mycelial fungi with plasmin-like and plasminogen-activator activity. *Advances in Current Biology*. 2021;141(5):467–482. (In Russ.) https://doi.org/10.31857/S0042132421050069
8. Mukhammadiyev B. Q., Muminova R. D. Fungi strain of the Trichoderma harzianum-25/P producer of cellulolitic enzymes. *The Eurasian Union of Scientists*. 2020;5(74):26–31. (In Russ.) https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2020.9.74.794
9. Tsed E. A., Vasilenko Z. V., Koroleva L. M., Volkova S. V., Astapenko S. V., Selemina N. M. Rice mushroom as a producer of organic acids in the production of fermented soft drinks. *Beer and beverages*. 2012;4;26–29. (In Russ.)
10. Ogarkov B. N., Ogarkova G. R., Samusenok L. V. Micro- and macromycetes as the basis of biotechnological preparations. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series «Biology. Ecology»*. 2010;3(2):75–86. (In Russ.)
11. Petrovskaya I. F. Bioactive compounds of higher fungi and the most promising of them for the development of antiviral drugs. *Modern science: actual problems of theory and practice. Series: Natural and Technical Sciences*. 2024;6:21–25. (In Russ.)
12. Dorofeev V. L. Pharmacopoeias of different countries: an overview of the quality standards of medicines. *Remedium*. 2011;3:48–54. (In Russ.)
13. Shipovalov A. V., Kudrov G. A., Kartashov M. Yu., Drachkova I. A., Pyankov O. V., Omigov V. V., Taranov O. S., Teplyakova T. V. Antiviral activity of basidial fungus *Inonotus obliquus* aqueous extract against SARS-CoV-2 virus

(Coronaviridae: Betacoronavirus: Sarbecovirus) *in vivo* in BALB/c mice model. *Problems of Virology*. 2023;68(2):152–160. (In Russ.) https://doi.org/10.36233/0507-4088-168
14. Abgomaa A., Elbadawy M., Ishihara Y., Yamamoto H., Kaneda M., Yamawaki H., Shinohara Y., Usui T., Sasaki K. Anti-cancer activity of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) against dog bladder cancer organoids. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1159516 https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1159516
15. Kuznetsova O. Yu. Review of modern advanced medicinal products containing the biologically active components of chaga mushroom birch. *Drug development & registration*. 2016;(1):128–141. (In Russ.)
16. Deng L., Huang G. The medicinal value of natural and modified *Poria cocos* polysaccharides. *Polymer Bulletin*. 2024;81(18):16355–16372. https://doi.org/10.1007/s00289-024-05499-0
17. Guo Y., Liu T., Li D. Research progress on the pharmacological effects of *Poria cocos*: a narrative update. *Frontiers in Nutrition*. 2026;13:1774161. https://doi.org/10.3389/fnut.2026.1774161
18. Peng X., Jia C., Chi H., Wang P., Fu H. Li Y., Wang Q. Efficacy and Pharmacological Mechanism of *Poria cocos*-Based Formulas Combined With Chemotherapy for Ovarian Cancer: A Integrated Systems Pharmacology Study. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:788810. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.788810
19. Nie A., Chao Y., Zhang X., Jia W., Zhou Z., Zhu C. Phytochemistry and Pharmacological Activities of *Wolfiporia cocos* (F.A. Wolf) Ryvarden & Gilb. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:505249. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.505249
20. Kim H., Choi H., Park B.-G., Ju H.-J., Kim Y.-I. Efficacy of Poria Cocos Extract on Sleep Quality Enhancement: A Clinical Perspective with Implications for Functional Foods. *Nutrients*. 2023;15(19):4242. https://doi.org/10.3390/nu15194242
21. Turchenkov S. S., Khlebtsova E. B., Puchkov M. Y. The situational analyses of the modern market of biologically active food additives. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013;5. (In Russ.)
22. Gammel I. V., Suvorova O. V., Zaporozhskaya L. I. Analysis of trends in the Russian market of biologically active food additives. *Medical almanac*. 2017;6(51):154–158. (In Russ.)
23. Afanasyeva T. G. Consumer preferences and positioning of biologically active additives of plant origin. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2006;2:204–205. (In Russ.)
24. Ayrapetova A. Yu., Ivchenko O. G., Konovalov D. A., Manukyan K. A., Andreeva N. A. Study of the range of medicines and biologically active food additives based on mushrooms on the regional market of Caucasian Mineral Waters. *Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2013;15(3–6):1719–1721. (In Russ.)
25. Semenova E. V., Tyumentseva V. R., Kozubenko A. A., Chebotok V. V., Borisovskaya I. V. Biologically active compounds of mushrooms – a source of innovations in medicine. *Modern problems of science and education*. 2020;1:96. (In Russ.)
26. Egorova E. Yu., Shkolnikova M. N. Functional products and dietary supplements based on wild-growing raw materials. *Pishchevaya Promyshlennost*. 2007;11:12–14. (In Russ.)
27. Wadhwa K., Kapoor N., Kaur H., Abu-Seer E. A., Tariq M., Siddiqui S., Yadav V. K., Niazi P., Kumar P., Alghamdi S. A Comprehensive Review of the Diversity of Fungal Secondary Metabolites and Their Emerging Applications in Healthcare and Environment. *Mycobiology*. 2024;52(6):335–387. https://doi.org/10.1080/12298093.2024.2416736
28. Whaley A. K., Whaley A. O., Novikova V. V., Vasiliev V. O., Klemper A. V., Lukashov R. I., Mandrik N. I., Gurina N. S., Yakovlev G. P., Luzhanin V. G. Antimicrobial and Antioxidant Activity Screening of Mushrooms Growing in the Leningrad Region. *Drug development & registration*. 2023;12(4):111–125. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1576
29. Sakovich V. V., Zhernosekov D. D. Basidiomycetes as sources of biologically active substances. *Bulletin of Polessky State University. Series in Natural Sciences*. 2018;1:3–13. (In Russ.)
30. Aly A. H., Debbab A., Proksch P. Fifty years of drug discovery from fungi. *Fungal Diversity*. 2011;50:3–19. https://doi.org/10.1007/s13225-011-0116-y
31. Bhambri A., Srivastava M., Mahale V. G., Mahale S., Karn S. K. Mushrooms as Potential Sources of Active Metabolites and Medicines. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:837266. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.837266
32. Fakhrtdinova A. F., Bagaeva N. Z., Kovalenko S. A. Evaluation of the prospects of using *Inonotus obliquus* fungus biomass for the isolation of biologically active substances. *Flagman nauki*. 2023;4(4):872–878. (In Russ.)
33. Tuli H. S., Sandhu S. S., Sharma A. K. Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to Cordycepin. *3 Biotech*. 2014;4(1):1–12. https://doi.org/10.1007/s13205-013-0121-9
34. Wang L., Sun H., Yang M., Xu Y., Hou L., Yu H., Wang X., Zhang Z., Han J. Bidirectional regulatory effects of Cordyceps on arrhythmia: Clinical evaluations and network pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:948173. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.948173
35. Huo X., Liu C., Bai X., Li W., Li J., Hu X., Cao L. Aqueous extract of *Cordyceps sinensis* potentiates the antitumor effect of DDP and attenuates therapy-associated toxicity in non-small cell lung cancer via IκBα/NFκB and AKT/MMP2/MMP9 pathways. *RSC Advances*. 2017;7(60):37743–37754. https://doi.org/10.1039/C7RA04716A
36. Sherkulova Zh. P., Mustafaev I. M., Uzakov Z. Z. Distribution and innovative potential of the medicinal mushroom of *Trametes versicolor* (L.) Lioyd in Uzbekistan. *Scientific review. Biological sciences*. 2025;4:46–51. (In Russ.) https://doi.org/10.17513/srbs.1434
37. Sadykova V. S., Kovaleva G. K., Chizhmotry N., Gavrilova A. G., Gromovykh T. I., Novitsky I. A. Antimicrobial activity of *Trichoderma* and Trametes fungi towards microorganisms from genus *Staphylococcus*. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2006;(8):18–20. (In Russ.)
38. Yu Z.-T., Liu B., Mukherjee P., Newburg D. S. *Trametes versicolor* extract modifies human fecal microbiota composition *in vitro*. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2013;68(2):107–112. https://doi.org/10.1007/s11130-013-0342-4
39. Criscuolo A. A., Sesti F., Piccione E., Mancino P., Belloni E., Gullo C., Ciotti M. Therapeutic Efficacy of a *Coriolus versicolor* – Based Vaginal Gel in Women with Cervical Uterine High-Risk HPV Infection: A Retrospective Observational Study. *Advances in Therapy*. 2021;38:1202–1211. https://doi.org/10.1007/s12325-020-01594-6

40. Cicha-Jeleń M., Muszynska B., Kala K., Sulkowska-Ziaja K. Medicinal Potential of the Giant Puffball Mushroom *Calvatia gigantea* (*Agaricomycetes*): A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 2024;26(8):13–25. https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2024054161
41. Eroğlu C., Seçme M., Atmaca P., Kaygusuz O., Gezer K., Bağcı G., Dodurga Y. Extract of *Calvatia gigantea* inhibits proliferation of A549 human lung cancer cells. *Cytotechnology*. 2016;68(5):2075–2081. https://doi.org/10.1007/s10616-016-9947-4
42. Meng X., Zhao W., Zhao Y., Guo J., Ding X., Gai Y., Lv H., Wang Y., Chen J. Isolation and structural identification of the homogeneous polysaccharide CGPA1 from *Calvatia gigantea* with wound healing effects. *Carbohydrate Polymers*. 2025;363:123727. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123727
43. Ogbole O. O., Nkumah A. O., Linus A. U., Falade M. O. Molecular identification, *in vivo* and *in vitro* activities of *Calvatia gigantea* (macro-fungus) as an antidiabetic agent. *Mycology*. 2019;10(3):166–173. https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1595204
44. Jiang Y., Chang Y., Liu Y., Zhang M., Luo H., Hao C., Zeng P., Sun Y., Wang H., Zhang L. Overview of *Ganoderma sinense* polysaccharide–an adjunctive drug used during concurrent Chemo/Radiation therapy for cancer treatment in China. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2017;96:865–870. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.060
45. Loyd A. L., Richter B. S., Jusino M. A., Truong C., Smith M. E., Blanchette R. A., Smith J. A. Identifying the "Mushroom of Immortality": Assessing the *Ganoderma* Species Composition in Commercial Reishi Products. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:1557. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01557
46. Stepanenko R. N., Lvov V. L., Andreev I. V., Novikova E. M., Kozyreva O. V., Razvalyaeva N. A., Martynov A. I. β (1→6)-D-glucan from the fruit body of mushroom *Lentinus edodes*: structure and immunobiological properties. *Immunologiya*. 2019;40(4):13–22. (In Russ.) 10.24411/0206-4952-2019-14002
47. Bhambri A., Srivastava M., Mahale V. G., Mahale S., Karn S. K. Mushrooms as Potential Sources of Active Metabolites and Medicines. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:837266. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.837266
48. Ikonnikova N. V., Lobai M. V. Biological properties and immunotropic effects of fungi of the genus *Cordyceps* fungi. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2019;2:68–76. (In Russ.)
49. Tsakanyan A. V., Andreasyan N. A., Nikolyan S. A., Martirosyan S. T. The applied importance of mushrooms in human life as sources of natural biologically active compounds. *Biological Journal of Armenia*. 2023;2(75):88–95. (In Russ.) https://doi.org/10.54503/0366-5119-2023.75.2-3-88
50. Razumov I. A., Kosogova T. A., Kazachinskaya E. I., Puchkova L. I., Shcherbakova N. S., Gorbunova I. A., Mikhailovskaya I. N., Loktev V. B., Teplyakova T. V. Antiviral activity of aqueous extracts and polysaccharide fractions from mycelium and fruit bodies of higher fungi. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2010;55(9–10):14–18 (In Russ.)

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.074

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2371

Check for updates

CC BY 4.0

Фитохимический профиль биомассы борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) как основа для рационального использования

Т. В. Бомбела[1]✉, Е. С. Сурбеева[1]✉✉, К. Е. Якушина[2], Е. В. Вишняков[1], И. И. Тернинко[1], С. В. Кривощеков[3], М. В. Белоусов[3], В. Г. Лужанин[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

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

[3] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России). 634050, Россия, Томская область, г. Томск, Московский тракт, д. 2

✉ **Контактное лицо:** Бомбела Татьяна Владимировна. **E-mail:** tatyana.bombela@yandex.ru

✉✉ **Контактное лицо:** Сурбеева Елизавета Сергеевна. **E-mail:** bazanova.elizaveta@pharminnotech.com

Резюме

Введение. Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) – опасный инвазивный вид-трансформер, широко распространенный на территории европейской части России. Включение растения с 2026 года в перечень опасных инвазивных видов и реализуемые региональные программы борьбы с ним обусловливают необходимость рационального вовлечения биомассы в хозяйственный оборот. Ключевым условием является детальное изучение фитохимического профиля для обоснования перспектив переработки.

Цель. Изучение фитохимического профиля биомассы *H. sosnowskyi*, включая выделение фуранокумаринов, полисахаридов и эфирных масел, представляющих фармацевтическую ценность, для научного обоснования рационального использования данного инвазивного вида.

Материалы и методы. Объекты исследования – трава и плоды *H. sosnowskyi*, заготовленные в Пермском крае и Ленинградской области в 2024 г. Фуранокумарины экстрагировали *н*-гексаном (аппарат Сокслета), очищали препаративной ВЭЖХ; структуру подтверждали УФ-, ЯМР- и масс-спектроскопией. Полисахаридные фракции (водорастворимые – ВРПС, пектиновые вещества – ПВ, гемицеллюлозы) получали последовательной экстракцией водой, оксалатом аммония и щелочью, очищали методом Севага. Выход оценивали гравиметрически, мономерный состав – ВЭТСХ, структурные особенности – ИК-спектроскопией, молекулярные массы – эксклюзионной хроматографией. Эфирное масло из плодов получали гидродистилляцией (аппарат Клевенджера), компонентный состав анализировали хромато-масс-спектрометрией.

Результаты и обсуждение. Из надземной части *H. sosnowskyi* выделены и идентифицированы пять фуранокумаринов: ксантотоксин, псорален, ангелицин, изопимпинеллин и бергаптен. Суммарное содержание полисахаридов в траве составило 4,1 %, выход фракции ПВ – 2,3 ± 0,2 %, ВРПС – 1,8 ± 0,1 %. Доминирующий моносахар в обеих фракциях – арабиноза. Среднемассовая молекулярная масса ВРПС составила ~160 кДа, ПВ – ~193 кДа. Выход эфирного масла из плодов – 1,01 ± 0,03 %; основной компонент – октилацетат (61,8 %), также идентифицированы гексиловый эфир масляной кислоты (6,4 %), 2-метилгексиловый эфир масляной кислоты (6,0 %) и гексилизобутират (5,5 %).

Заключение. Биомасса *H. sosnowskyi* – перспективный многокомпонентный источник БАВ. Предложенный подход к комплексной переработке позволяет последовательно выделять из травы фуранокумарины (5 соединений) и полисахариды (4,1 %), а плоды использовать для получения эфирного масла с высоким содержанием октилацетата. Результаты создают научную основу для рационального использования данного инвазивного вида в фармацевтических целях.

© Бомбела Т. В., Сурбеева Е. С., Якушина К. Е., Вишняков Е. В., Тернинко И. И., Кривощеков С. В., Белоусов М. В., Лужанин В. Г., 2026

© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026

© Bombela T. V., Surbeeva E. S., Yakushina K. E., Vishnyakov E. V., Terninko I. I., Krivoshchekov S. V., Belousov M. V., Luzhanin V. G., 2026

© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Ключевые слова: *Heracleum sosnowskyi*, фуранокумарины, полисахариды, пектины, эфирное масло, октилацетат, комплексная переработка

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

Вклад авторов. Т. В. Бомбела, Е. С. Сурбеева, К. Е. Якушина, Е. В. Вишняков, И. И. Тернинко, С. В. Кривощеков, М. В. Белоусов выполняли экспериментальную часть и интерпретировали результаты. В. Г. Лужанин осуществлял руководство научным исследованием. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании статьи.

Финансирование. Исследование выполнено при финансировании Автономной некоммерческой организации «Пермский научно-образовательный центр» (АНО «Пермский НОЦ»).

Для цитирования: Бомбела Т. В., Сурбеева Е. С., Якушина К. Е., Вишняков Е. В., Тернинко И. И., Кривощеков С. В., Белоусов М. В., Лужанин В. Г. Фитохимический профиль биомассы борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) как основа для рационального использования. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):51–63. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2371

Поступила в редакцию: 13.05.2026
Поступила после рецензирования: 15.06.2026
Принята к публикации: 21.08.2026

Phytochemical profile of *Heracleum sosnowskyi* Manden. biomass as a basis for rational use

Tatyana V. Bombela[1]✉, Elizaveta S. Surbeeva[1]✉✉, Karolina E. Yakushina[2], Evgeniy V. Vishnyakov[1], Inna I. Terninko[1], Sergei V. Krivoshchekov[3], Mikhail V. Belousov[3], Vladimir G. Luzhanin[2]

[1] Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia
[2] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Polevaya str., Perm, Perm Krai, 614990, Russia
[3] Siberian State Medical University (SSMU). 2, Moskovsky trakt, Tomsk, Tomsk Region, 634050, Russia

✉ **Corresponding author:** Tatyana V. Bombela. **E-mail:** tatyana.bombela@yandex.ru
✉✉ **Corresponding author:** Elizaveta S. Surbeeva. **E-mail:** bazanova.elizaveta@pharminnotech.com

Abstract

Introduction. Sosnowsky's hogweed (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) is a dangerous invasive transformer species widespread in the European part of Russia. The inclusion of the plant in the list of hazardous invasive species from 2026 and the ongoing regional control programs necessitate the rational utilization of its biomass. A detailed study of the phytochemical profile is a key prerequisite for justifying processing prospects.

Aim. To study the phytochemical profile of *H. sosnowskyi* biomass, including the isolation of furanocoumarins, polysaccharides, and essential oils of pharmaceutical value, to provide a scientific basis for the rational use of this invasive species.

Materials and methods. The objects of the study were the herb and fruits of *H. sosnowskyi* collected in Perm Krai and Leningrad Oblast in 2024. Furanocoumarins were extracted with *n*-hexane (Soxhlet apparatus), purified by preparative HPLC; structures were confirmed by UV, NMR, and high-resolution mass spectrometry. Polysaccharide fractions (water-soluble polysaccharides – WSP, pectic substances – PS, hemicelluloses) were obtained by sequential extraction with water, ammonium oxalate, and alkali, then purified using the Sevag method. Yield was assessed gravimetrically, monosaccharide composition by HPTLC, structural features by IR spectroscopy, and molecular weights by size-exclusion chromatography. Essential oil from the fruits was obtained by hydrodistillation (Clevenger apparatus), and its component composition was analyzed by GC-MS.

Results and discussion. Five furanocoumarins – xanthotoxin, psoralen, angelicin, isopimpinellin, and bergapten – were isolated from the aerial part of H. sosnowskyi and identified. The total polysaccharide content in the herb was 4.1 %, with the yield of the PS fraction at 2.3 ± 0.2 % and the WSP fraction at 1.8 ± 0.1 %. The dominant monosaccharide in both fractions was arabinose. The average molecular weight of WSP was ~160 kDa, and PS was ~193 kDa. The yield of essential oil from the fruits was 1.01 ± 0.03 %; the main component was octyl acetate (61.8 %), along with hexyl butyrate (6.4 %), 2-methylhexyl butyrate (6.0 %), and hexyl isobutyrate (5.5 %).

Conclusion. *H. sosnowskyi* biomass is a promising multicomponent source of biologically active compounds. The proposed integrated processing approach allows the sequential isolation of furanocoumarins (5 compounds) and polysaccharides (4.1 %) from the herb, while the fruits serve as a source of essential oil with high octyl acetate content. These results provide a scientific basis for the rational use of this invasive species for pharmaceutical purposes.

Keywords: *Heracleum sosnowskyi*, furanocoumarins, polysaccharides, pectins, essential oil, octyl acetate, integrated processing

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

Contribution of the authors. Tatyana V. Bombela, Elizaveta S. Surbeeva, Karolina Ye. Yakushina, Evgeniy V. Vishnyakov, Inna I. Terninko, Sergei V. Krivoshchekov, Mikhail V. Belousov performed the experimental work and interpreted the results. Vladimir G. Luzhanin supervised the research. All authors participated in discussing the results and writing the article.

Funding. The study was funded by the Autonomous Non-Profit Organization "Perm Research and Educational Center".

For citation: Bombela T. V., Surbeeva E. S., Yakushina K. E., Vishnyakov E. V., Terninko I. I., Krivoshchekov S. V., Belousov M. V., Luzhanin V. G. Phytochemical profile of *Heracleum sosnowskyi* Manden. biomass as a basis for rational use. *Drug development & registration*. 2026;15(3):51–63. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2371

Received: 13.05.2026
Revised: 15.06.2026
Accepted: 21.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) относится к семейству сельдерейных (*Apiaceae* Lindl.). На территории европейской части России этот вид был преднамеренно интродуцирован в середине XX века в качестве силосной культуры [1]. В настоящее время он превратился в злостный сорняк, относящийся к видам-трансформерам, способным существенно изменять структуру естественных экосистем [2]. Высокая семенная продуктивность является одной из ключевых причин его неконтролируемого распространения [3]. Правовой статус растения в настоящее время претерпел изменения: с декабря 2015 года *H. sosnowskyi* включен в Отраслевой классификатор сорных растений РФ [4], с 1 марта 2026 года законодательство относит его к опасным инвазивным видам[1], наносящим значительный экологический и экономический ущерб и представляющим угрозу для здоровья человека.

В последние годы многие регионы России разработали и осуществляют системные меры по борьбе с *H. sosnowskyi* [5, 6]. Ряд регионов, включая Пермский край, реализует комплексную стратегию, сочетая три направления: научно-исследовательские разработки по переработке сырья, внедрение инновационных методов биоремедиации и системные меры на муниципальном уровне [7].

Важным направлением является научно обоснованное вовлечение биомассы *H. sosnowskyi* в хозяйственный оборот. Однако для рационального использования данного сырья необходимо детальное изучение его фитохимического профиля, в первую очередь таких групп биологически активных соединений, которые определяют потенциальную ценность растения для фармацевтической промышленности, а также его токсические свойства.

Основной группой БАВ, провоцирующей развитие фитофотодерматита при контакте с соком борщевика, являются фуранокумарины: псорален, изопсорален и их производные [8]. При этом, согласно научной литературе, данные соединения обладают противоопухолевой активностью в отношении клеток линии KB, KBv200, K562, K562/ADM [9], противовоспалительным и эстрогеноподобным действием [10]. В связи с высоким накоплением производных кумарина в сырье борщевика (от 3 до 11 % в зависимости от органа растения [11]) и наличием цитостатического эффекта у его извлечений [12] перспективной является разработка оптимальной технологии экстракции данной группы БАВ из сырья.

Растительные полисахариды – перспективные лекарственные кандидаты для терапии и профилактики различных заболеваний, в том числе инфекций и нарушений метаболизма [13], – также являются одной из мажоритарных групп БАВ сырья борщевика. Согласно литературным данным, выход пектиновых веществ из надземной части *H. sosnowskyi* составил порядка 17 % [14]; также получен патент на способ получения суммы пектиновых полисахаридов из сухого растительного сырья [15], однако описанная технология позволяет выделить только порядка 7 % целевого БАВ, характеризуется весьма длительным временем экстракции (несколько суток) и позволяет получить только одну фракцию полисахаридов.

В настоящее время со стороны научного сообщества наблюдается интерес к изучению эфирного масла *H. sosnowskyi*. Так, учеными из Москвы [9] проведен сравнительный анализ количественного содержания эфирного масла в разных частях борщевика (стебли – 0,57–0,67 %, плоды – 0,98–1,38 %, листья – 0,87–0,93 %), а научная группа из Перми [17] получила

[1] Федеральный закон от 31.07.2025 № 294-ФЗ «О внесении изменений в Земельный кодекс Российской Федерации и отдельные законодательные акты Российской Федерации». Доступно по: http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202507310026?index=2 Ссылка активна на 13.05.2026.

патент на способ получения эфирного масла плодов борщевика Сосновского, обладающего противогрибковой активностью (выход эфирного масла составил порядка 4 %). Согласно литературным данным, эфиромасличный состав борщевика представлен монотерпенами, сесквитерпенами и сложными эфирами (алкилалканоатами) [18].

Таким образом, сырье *H. sosnowskyi* характеризуется сложным многокомпонентным составом биологически активных соединений различных классов, отличающихся по механизмам биосинтеза, физико-химическим свойствам и спектру биологического действия. Высокая инвазивность и значительные площади распространения данного вида на территории РФ определяют актуальность его переработки как с экологической, так и с практической точки зрения.

Целью работы является изучение фитохимического профиля биомассы *H. sosnowskyi*, включая выделение ключевых групп биологически активных соединений (фуранокумарины, полисахариды, эфирные масла), представляющих фармацевтическую ценность, для научного обоснования его рационального использования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве исследуемого материала выступали трава и плоды борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi*). Траву заготавливали в период цветения (июнь – август 2024 г.) на территории питомника ПГФА (г. Пермь, Свердловский район, 57.953007°, 56.332927°); собирали прикорневые листья и верхушки стеблей. Плоды убирали при 70 % побурении зонтиков в сентябре 2024 г. в питомнике СПХФУ (Ленинградская область, Всеволожский район, пос. Лемболово, 60.389368°, 30.275313°). Сушили сырье под навесами воздушно-теневым способом. Высушенную надземную часть измельчали до прохождения через сито 5 мм.

Гербарные образцы хранятся на кафедре ботаники и фармацевтической биологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, где также была проведена идентификация сырья (родовая и видовая принадлежность).

Методика выделения фуранокумаринов: навеску воздушно-сухой измельченной надземной части *H. Sosnowskyi* (300 г) загружали в аппарат Сокслета и непрерывно экстрагировали 1,2 л *н*-гексана в течение 48 ч. Полученный экстракт концентрировали (упаривали) досуха и соединяли со щелочным раствором, приготовленным растворением 5,0 г NaOH в 150 мл дистиллированной воды. Реакционную смесь кипятили в колбе с обратным холодильником 6 ч. Водно-щелочную фазу отделяли от органической, затем доводили pH до 2–3 добавлением 20%-й серной кислоты. Подкисленный раствор подвергали экстракции н-гексаном. Органический слой упаривали, сухой остаток растворяли в 96%-м этаноле и помещали в холодильник. Образовавшийся осадок и надосадочную жидкость использовали для последующего препаративного выделения индивидуальных компонентов.

Аналитические хроматограммы и УФ-спектры регистрировали на системе Prominence LC-20, оснащенной диодно-матричным детектором SPD-M20A (Shimadzu Corporation, Япония). Использовали колонку Supelcosil LC-18 (250 × 4,6 мм, 5 мкм). Препаративное разделение выполняли на хроматографе Knauer Smartline с УФ-детектором и колонкой Kromasil C18 (250 × 30 мм, 5 мкм). Все растворители и реактивы квалификации «х.ч.» приобретали у АО «Вектон».

Условия препаративной ВЭЖХ: элюент А – 0,1%-я трифторуксусная кислота (ТФУ) в воде (хроматографическая чистота); элюент В – 0,1%-я ТФУ в ацетонитриле; скорость потока – 40 мл/мин; градиентная программа: 0–5 мин – 5 % В, 5–35 мин – линейно до 100 % В, 35–40 мин – 100 % В, 40–41 мин – возврат к 5 % В, 41–45 мин – изократически 5 % В.

Установление строения выделенных соединений проводили методами ЯМР-спектроскопии (Bruker Avance III 400 NMR Spectrometer, США; обработка данных – программный пакет MestReNova 14.1.2) и масс-спектрометрии высокого разрешения (Bruker Micromass Q-TOF spectrometer, США).

Методика выделения, очистка и анализ полисахаридных фракций: измельченное сырье *H. sosnowskyi* обезжиривали хлороформом (1 : 4) в экстракторе Сокслета. Низкомолекулярные примеси удаляли кипячением с 80%-м этанолом (1 : 10, водяная баня, 1 ч). Высушенный остаток последовательно экстрагировали водой и смесью 0,5%-го оксалата аммония с щавелевой кислотой (1 : 1) при гидромодуле 1 : 10, 85–95 °C и перемешивании при 300 об/мин (Heidolph Instruments GmbH & Co KG, Германия); каждый растворитель брали дважды. Объединенные вытяжки упаривали, осаждали трехкратным объемом 96%-го этанола, фильтровали и сушили, получая фракции ВРПС и ПВ. Для выделения гемицеллюлоз (ГЦ) остаток шрота настаивали с 1%-м NaOH (24 ч). Очистку проводили методом Севага [19] с последующей лиофилизацией (Labconco, США).

Количественное содержание полисахаридных фракций в траве борщевика Сосновского определяли методом гравиметрии [20].

Гидролиз проводили 1%-й H_2SO_4. Моносахариды идентифицировали методом ВЭТСХ на системе CAMAG HPTLC visionCATS (Швейцария) по методике [21]. Пластины Merck (силикагель 60 F_{254}) активировали смесью «метанол – вода» (6 : 1) и обрабатывали фосфатным буфером (pH 6,8). Элюенты: 1) ацетонитрил – пентанол – вода (4 : 4 : 1), 2) ацетонитрил – бутанол – вода (4 : 3,5 : 1,5). Детекция – дифениламиновый реагент, визуализация – CAMAG TLC Visualizer 2. Идентификацию выполняли в сравнении со стандартами (глюкоза, галактоза, манноза, арабиноза, рамноза, ксилоза, фруктоза; 1 мг/мл).

Спектры регистрировали на Spectrum 3 (PerkinElmer, США), интерпретацию – по литературным данным [22–26].

Молекулярные массы определяли методом эксклюзионной хроматографии (ЖХ-301, рефрактометрический детектор). Колонка Ultrahydrogel 250 (7,8 × × 300 мм, 250 Å), подвижная фаза – 0,01 М $NaNO_3$ + + 0,1%-й NaN_3, 0,5 мл/мин. Калибровка по пуллуланам (342–200 000 Да).

Получение и анализ эфирного масла: из плодов *H. sosnowskyi* по ОФС.1.5.3.0010 «Определение содержания эфирного масла в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 2, аппарат Клевенджера).

Компонентный состав эфирного масла анализировали методом хромато-масс-спектрометрии (газовый хроматограф Clarus 600T с квадрупольным масс-детектором, PerkinElmer, США). Условия разделения: капиллярная колонка Elite-5ms (30 м × × 0,25 мм × 0,25 мкм), газ-носитель – гелий (1 мл/мин), режим программирования температуры: термостат колонки 0 мин – 50–130 °С, 2 °С/мин; 15 мин – 280 °С, 10 °С/мин. Ионизация – электронная (70 эВ), диапазон сканирования m/z: 50–500. Идентификацию компонентов проводили с использованием библиотеки масс-спектров NIST-20 (совпадение не менее 900). Количественное содержание выражали в процентах от суммы идентифицированных компонентов методом внутренней нормализации.

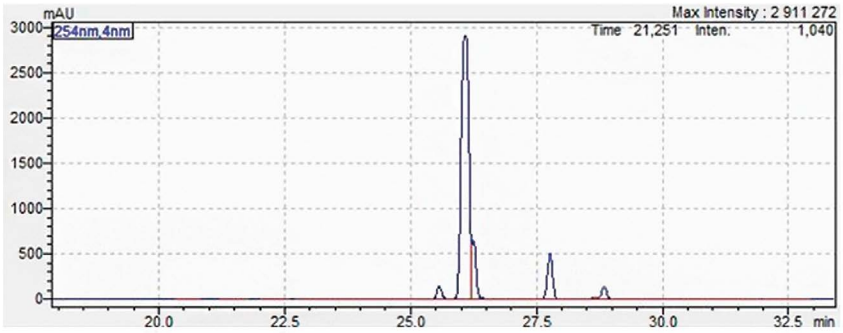
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование фуранокумаринов

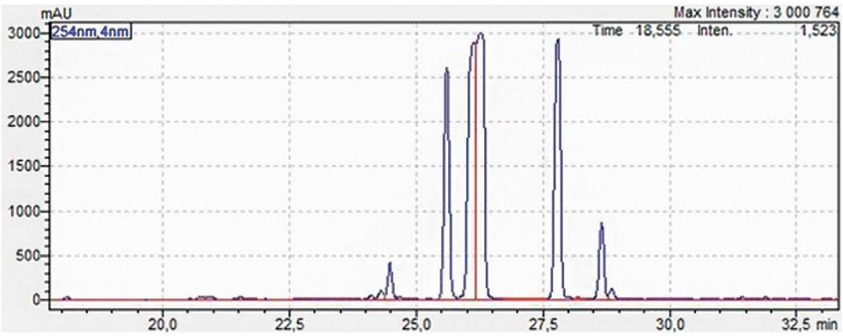
В результате ВЭЖХ-анализа установлено, что осадок и надосадочная жидкость представляют собой сумму фуранокумаринов с разным соотношением компонентов. В осадке доминирует один компонент, тогда как надосадочная жидкость содержит четыре мажорных пика (рисунок 1), вследствие этого оба продукта выбраны для выделения индивидуальных веществ.

В результате препаративной ВЭЖХ были выделены ксантотоксин **(1)**, псорален **(2)**; ангелицин **(3)**, изопимпинеллин **(4)**, бергаптен **(5)** (рисунок 2).

Для всех выделенных соединений (1–5) характерна принадлежность к классу производных фуранокумаринов, что подтверждается наличием двух максимумов поглощения в УФ-спектре (EtOH), а также характерными сигналами ароматических протонов в ^{1}H-ЯМР-спектрах (таблица 1).



А
A



Б
B

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Хроматограмма осадка (А) и надосадочной жидкости (Б) из суммы фуранокумаринов *H. sosnowskyi*

Figure 1. Chromatogram of the precipitate (A) and supernatant (B) from the total furanocoumarins of *H. sosnowskyi*

Таблица 1. **Спектральные характеристики соединений 1–5**

Table 1. **Spectral characteristics of compounds 1–5**

Соединение Compound	Внешний вид Appearance	УФ-спектры (EtOH), нм UV spectra (EtOH), nm	Характерные сигналы ^{1}H-ЯМР (ароматическая область) Characteristic ^{1}H NMR signals (aromatic region)	Дополнительные сигналы (δH, м.д.) Additional signals (δH, ppm)	Идентификация Identification
1	Бесцветные кристаллы Colorless crystals	248, 301	6,45 (1H, д, J=9,6, H-3); 8,15 (1H, д, J=9,6, H-4); 7,69 (1H, с, H-5); 8,14 (1H, д, J=2,4, H-2′); 7,12 (1H, д, J=2,4, H-3′) 6,45 (1H, d, J=9,6, H-3); 8,15 (1H, d, J=9,6, H-4); 7,69 (1H, s, H-5); 8,14 (1H, d, J=2,4, H-2′); 7,12 (1H, d, J=2,4, H-3′)	H-3 (6,45, д, J=9,6); H-4 (8,15, д, J=9,6); H-5 (7,69, с); H-2′ (8,14, д, J=2,4); H-3′ (7,12, д, J=2,4) H-3 (6,45, d, J=9,6); H-4 (8,15, d, J=9,6); H-5 (7,69, s); H-2′ (8,14, d, J=2,4); H-3′ (7,12, d, J=2,4)	Ксантотоксин Xanthotoxin
2	Белые кристаллы White crystals	245, 293	6,45 (1H, д, J=9,6, H-3); 8,15 (1H, д, J=9,6, H-4); 7,69 (1H, с, H-5); 8,14 (1H, д, J=2,4, H-2′); 7,12 (1H, д, J=2,4, H-3′) 6,45 (1H, d, J=9,6, H-3); 8,15 (1H, d, J=9,6, H-4); 7,69 (1H, s, H-5); 8,14 (1H, d, J=2,4, H-2′); 7,12 (1H, d, J=2,4, H-3′)	4,19 (3H, с, 8-OCH_3) 4,19 (3H, s, 8-OCH_3)	Псорален Psoralen
3	Белые кристаллы White crystals	247, 299	6,47 (1H, д, J=9,6, H-3); 8,19 (1H, д, J=9,6, H-4); 7,66 (2H, м, H-4/H-5); 8,18 (1H, м, H-2′); 7,30 (1H, д, J=2,4, H-3′) 6,47 (1H, d, J=9,6, H-3); 8,19 (1H, d, J=9,6, H-4); 7,66 (2H, m, H-4/H-5); 8,18 (1H, m, H-2′); 7,30 (1H, d, J=2,4, H-3′)	–	Ангелицин Angelicin
4	Белые кристаллы White crystals	251, 306	6,35 (1H, д, J=9,6, H-3); 8,13 (1H, д, J=9,6, H-4); 8,09 (1H, м, H-2′); 7,40 (1H, д, J=2,4, H-3′) 6,35 (1H, d, J=9,6, H-3); 8,13 (1H, d, J=9,6, H-4); 8,09 (1H, m, H-2′); 7,40 (1H, d, J=2,4, H-3′)	4,18 (3H, с, OCH_3); 4,04 (3H, с, OCH_3) 4,18 (3H, s, OCH_3); 4,04 (3H, s, OCH_3)	Изопимпинеллин Isopimpinellin
5	Белые кристаллы White crystals	248, 268, 312	6,33 (1H, д, J=9,8, H-3); 8,22 (1H, д, J=9,6, H-4); 7,37 (1H, с, H-8); 8,05 (1H, д, J=2,4, H-2′); 7,42 (1H, д, J=2,4, H-3′) 6,33 (1H, d, J=9,8, H-3); 8,22 (1H, d, J=9,6, H-4); 7,37 (1H, s, H-8); 8,05 (1H, d, J=2,4, H-2′); 7,42 (1H, d, J=2,4, H-3′)	4,28 (3H, с, 5-OCH_3) 4,28 (3H, s, 5-OCH_3)	Бергаптен Bergapten

Таблица предоставлена авторами

The table was provided by the authors

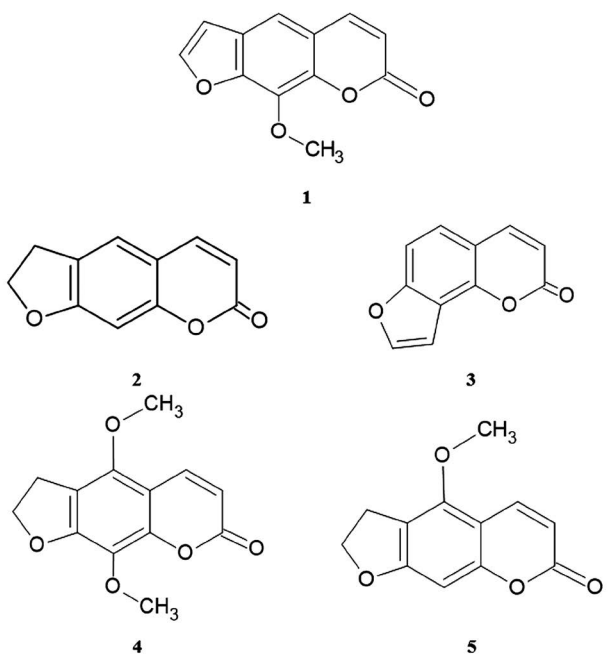


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Структурные формулы соединений 1–5

Figure 2. Structural formulas of compounds 1–5

Исследование полисахаридов

Количественная оценка полученных полисахаридных фракций из травы борщевика и их органолептические характеристики приведены в таблице 2.

Как следует из полученных данных, в исследуемом сырье *H. sosnowskyi* преобладают фракции ПВ и ВРПС. Выход ГЦ был незначителен и составил менее 0,5 %, в связи с чем было принято решение отказаться от дальнейшего изучения данной фракции. Используемый способ очистки фракций по методу Севага привел к существенному улучшению как органолептических, так и технологических характеристик фракций.

Хроматографический анализ гидролизатов ВРПС и ПВ показал, что мономерный профиль полисахаридных фракций борщевика существенно отличается (рисунок 3).

Пектиновые вещества представлены тремя моносахарами: преимущественно арабинозой, тогда как ксилоза и галактоза содержатся в следовых количествах. ВРПС включают достаточно широкий состав мономеров: галактозу, глюкозу, арабинозу, ксилозу и рамнозу. Важно отметить, что исходя из интенсивности пятен преобладающим компонентом исследованных фракций является арабиноза.

Таблица 2. Характеристика полисахаридных фракций *H. sosnowskyi*

Table 2. Characteristics of polysaccharide fractions of *H. sosnowskyi*

Показатель **Parameter**	**Фракция** **Fraction**	**Этап** **Stage**	**Характеристика** **Description**
Внешний вид и запах Appearance and odor	Водорастворимые полисахариды (ВРПС) Water-soluble polysaccharides (WSP)	До очистки Before purification	Светло-серый порошок с мелкими кристаллами, едва уловимый сладкий запах Light-gray powder with fine crystals, barely perceptible sweet odor
		После очистки After purification	Порошок аморфной структуры, коричневато-светлый, запах слабый Amorphous powder of light-brownish color, faint odor
	Пектиновые вещества (ПВ) Pectic substances (PS)	До очистки Before purification	Кристаллический порошок коричневого цвета (+ серые кристаллы), запах сладковатый Crystalline powder of brown color (with gray crystals), sweetish odor
		После очистки After purification	Беловато-бежевый аморфный порошок, отчетливый сладкий аромат Amorphous powder of white-beige color, distinct sweet odor
Выход (%) Yield (%)	ВРПС WSP	До/После Before/After	3,8 ± 0,2 / 1,8 ± 0,1
	ПВ PS	До/После Before/After	4,4 ± 0,3 / 2,3 ± 0,2

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

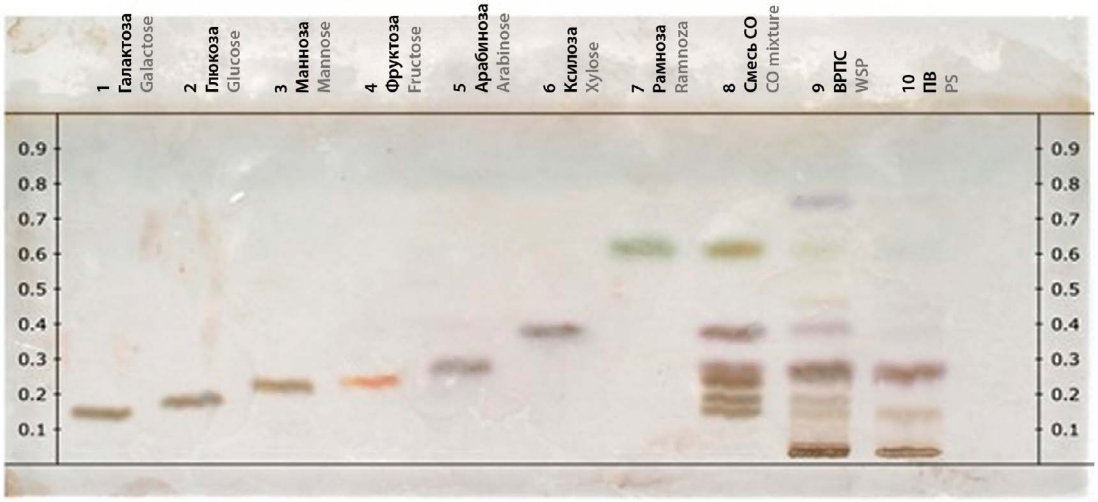


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Хроматограмма СО моносахаров (треки 1–7), смеси СО (трек 8) и мономерного состава гидролизатов ВРПС и ПВ *H. sosnowskyi* (треки 9–10)

Figure 3. Chromatogram of monosaccharide reference standards (tracks 1–7), reference standard mixture (track 8), and monosaccharide composition of hydrolysates of WSP and PS of *H. sosnowskyi* (tracks 9–10)

Установлено, что молекулы ВРПС и ПВ являются полидисперсными, среднемассовая молекулярная масса фракции ВРПС составляет около 160 кДА, а фракция ПВ – около 193 кДА (таблица 3, рисунок 4).

Таблица 3. Молекулярно-массовые характеристики полисахаридных фракций *H. sosnowskyi*

Table 3. Molecular weight characteristics of polysaccharide fractions of *H. sosnowskyi*

Образец Sample	**M_w, кДа** M_w, kDa	**M_n, кДа** M_n, kDa	**P** PDI
ВРПС WSP	160,3 ± 7,7	54,5 ± 2,4	2,94
ПВ PS	193,3 ± 8,3	68,3 ± 3,0	2,83

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Наблюдается бимодальное распределение фракций. Отсутствие пиков с временем удерживания более 18 мин говорит об отсутствии во фракциях примесей моносахаров.

Анализ ИК-спектров очищенных полисахаридных фракций *H. sosnowskyi* показал наличие колебаний, характерных для связанных и свободных гидроксильных групп (3210 $см^{-1}$ и 3272 $см^{-1}$), карбоксильной группы (1595 $см^{-1}$), а также альфа-конфигурации гликозидной связи, что позволяет сделать выводы относительно структуры выделенных веществ (таблица 4, рисунок 5). В области «отпечатков пальцев» наблюдаются характерные полосы колебания С1-α-конформации галактуроновой кислоты (~760 $см^{-1}$) во фракциях ВРПС и ПВ.

Таблица 4. Характеристики ИК-спектров полисахаридных фракций (ВРПС и ПВ) *H. sosnowskyi*

Table 4. Characteristics of IR spectra for WSP and PS fractions from *H. sosnowskyi*

Фракция Fraction	**ν(OH) (3650–3200)**	**ν(C–H) (2962–2926 / 2872–2853)**	**ν(C=O) COOH (1730–1690)**	**ν(COO^-) (1610–1550)**	**ν(C–O–C) (1200–1000)**
ВРПС, $см^{-1}$ WSP, $см^{-1}$	3272	2937	1733	1595	1011
ПВ, $см^{-1}$ PS, $см^{-1}$	3210	–	1722	1595	1013

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Исследование эфирного масла

Количественное содержание эфирного масла в плодах *H. sosnowskyi* определяли в трех параллельных отгонах; полученные данные представлены в таблице 5. Типичные хроматограммы эфирного масла приведены на рисунке 6.

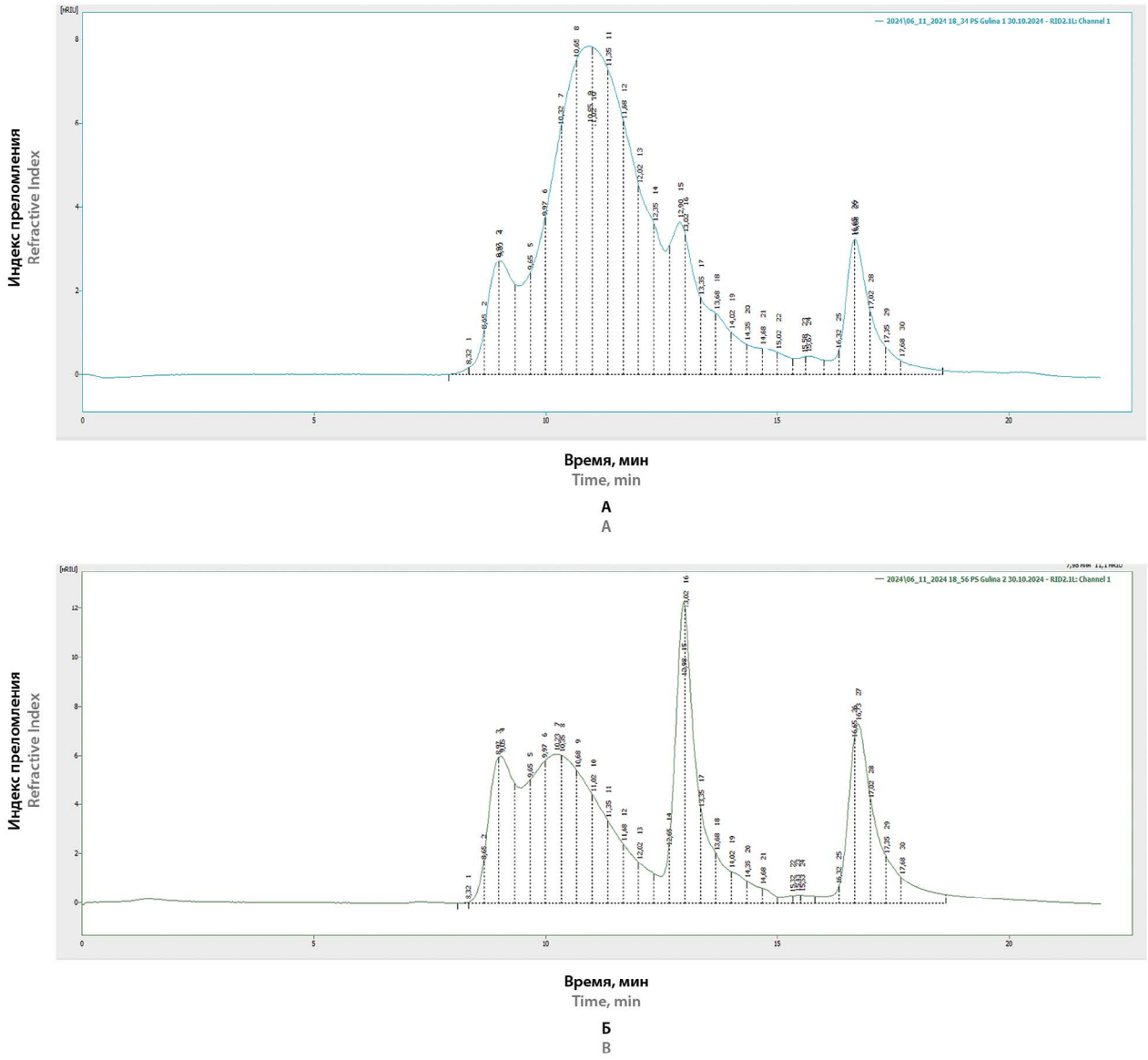


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Репрезентативная хроматограмма фракций ВРПС (А) и ПВ (Б) *H. sosnowskyi*

Figure 4. Representative chromatogram of WSP (A) and PS (B) fractions of *H. sosnowskyi*

Таблица 5. Содержание (выход) эфирного масла в плодах *H. sosnowskyi*

Table 5. Content (yield) of essential oil in the fruits of *H. sosnowskyi*

№ отгона Distillation No.	*V*, мл *V*, mL	*a*, г *a*, g	*W*, % *W*, %	*X*, % *X*, %	Среднее, % Mean, %
1	0,30	30,00	1,2	1,01	1,01 ± 0,03
2	0,30	29,66	1,2	1,02	
3	0,30	30,96	1,2	0,98	

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Анализ компонентного состава показал, что эфирное масло характеризуется специфическим профилем, основу которого составляют органические сложные эфиры, что согласуется с литературными данными [27, 28]. Доминирующими компонентами являются октилацетат (61,8 %), гексиловый эфир масляной кислоты (6,4 %), 2-метилгексиловый эфир масляной кислоты (6,0 %) и гексилизобутират (5,5 %). Таким образом, эфиромасличная фракция исследуемого сырья отличается высоким содержанием алифатических сложных эфиров, что определяет ее потенциальную биологическую активность и перспективность дальнейшего изучения.

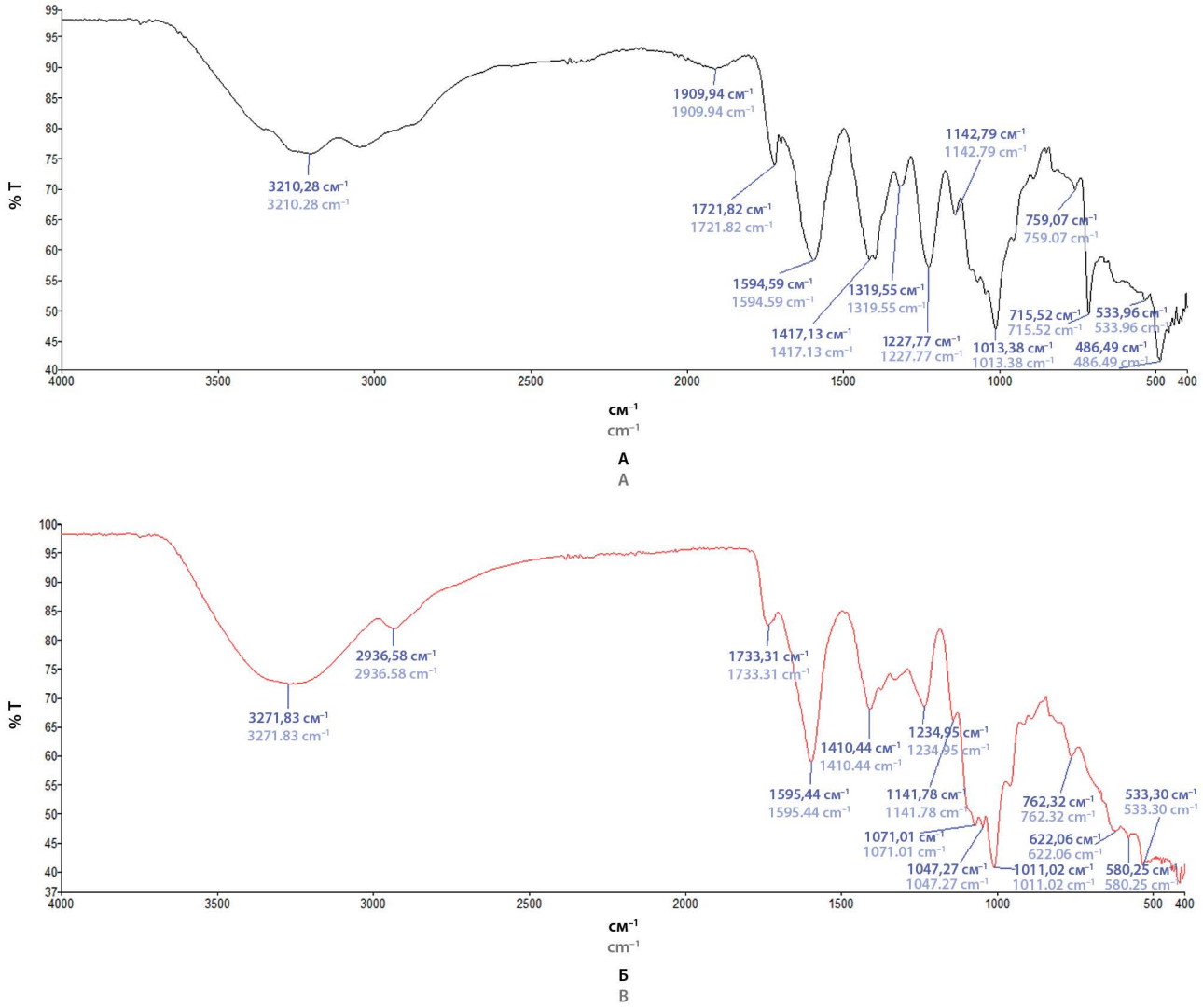


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. ИК-спектры фракций ВРПС (А) и ПВ (Б) *H. sosnowskyi*

Figure 5. IR spectra of WSP (A) and PS (B) fractions of *H. sosnowskyi*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) является одним из наиболее агрессивных инвазивных видов на территории Российской Федерации. Его широкое распространение, включение в перечень опасных инвазивных растений на законодательном уровне, а также реализуемые в ряде регионов программы по сдерживанию численности делают актуальным не только уничтожение, но и рациональное вовлечение биомассы этого растения в хозяйственный оборот. Ключевым условием для этого выступает детальное изучение фитохимического профиля *H. sosnowskyi*, позволяющее обосновать перспективные направления его переработки.

В ходе данной работы реализован подход к комплексной переработке борщевика Сосновского, предполагающий ступенчатое выделение различных групп биологически активных веществ из разных частей растения. Надземная часть *H. sosnowskyi* является эффективным источником фуранокумаринов: из нее выделены ксантотоксин, псорален, ангелицин, изопимпинеллин и бергаптен.

Сырье после удаления фуранокумаринов использовано для выделения полисахаридных фракций. Гравиметрическая оценка показала, что суммарное содержание полисахаридов достигает 4,1 %, при этом наибольший выход (2,3 ± 0,2 %) характерен для фракции пектиновых веществ. Методом ВЭТСХ установлено, что во всех фракциях доминирующим мономером

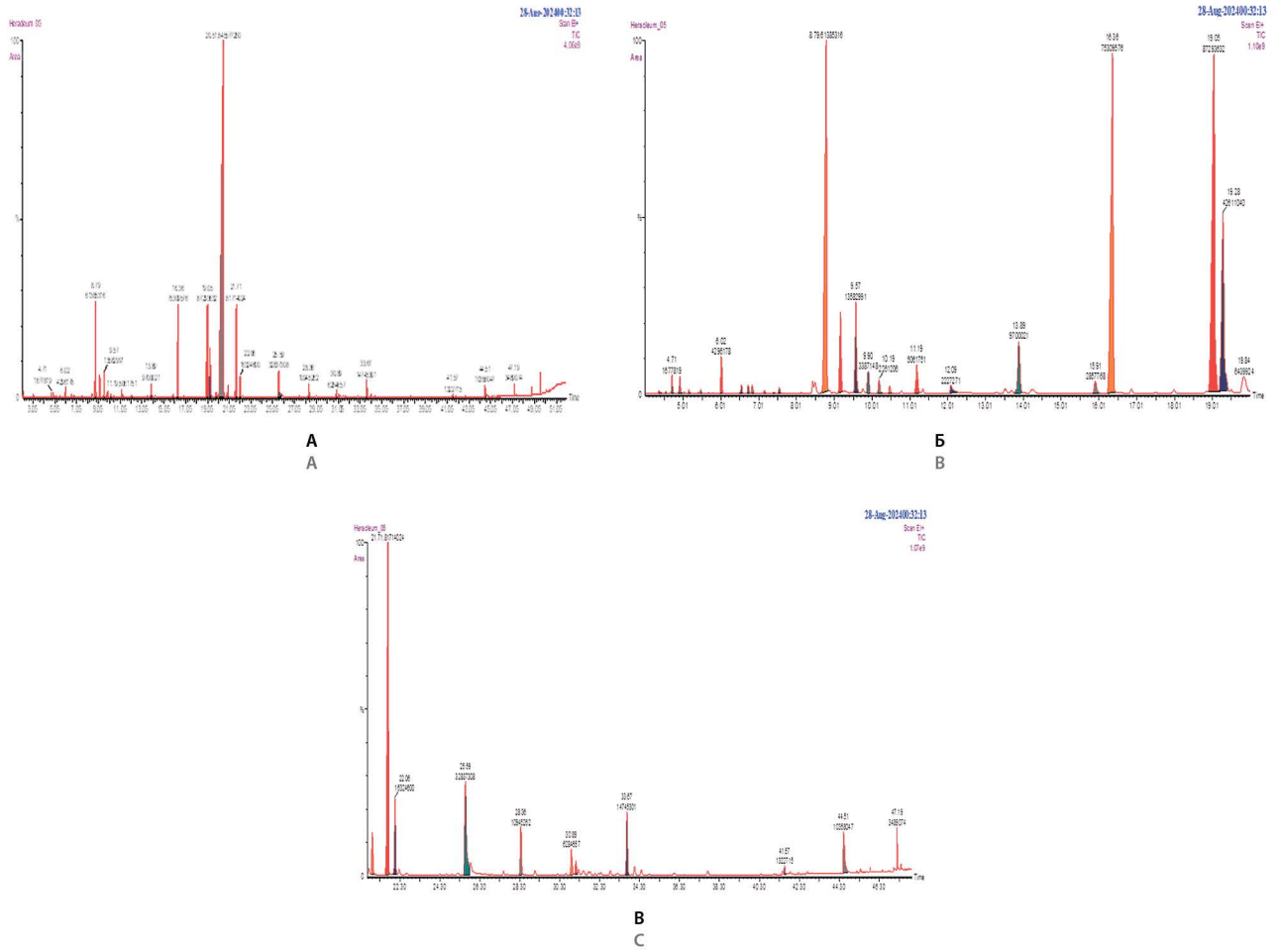


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 6. Хроматограммы эфирного масла плодов борщевика:
А – 3–52 мин; Б – 3–20 мин; В – 21–52 мин

Figure 6. Chromatograms of essential oil from *H. sosnowskyi* fruits:
A – 3–52 min; B – 3–20 min; C – 21–52 min

является арабиноза. Данные ИК-спектроскопии подтвердили наличие структурных фрагментов, характерных для полисахаридов, что позволяет рассматривать эти фракции как потенциальные компоненты для разработки лекарственных средств.

Использование плодов для получения эфирного масла приобретает дополнительное значение, их сбор препятствует семенному размножению и снижает инвазивный потенциал вида. Выход эфирного масла из плодов борщевика, определенный методом дистилляции, составил в среднем 1 %. Компонентный анализ эфирного масла показал, что его основу составляют сложные эфиры органических кислот (преимущественно уксусной и масляной); преобладающим компонентом является октилацетат (61,8 % от суммы идентифицированных соединений).

Таким образом, результаты работы подтверждают, что биомасса борщевика Сосновского является перспективным многокомпонентным источником биологически активных веществ различных классов. Продемонстрированный подход к комплексной переработке позволяет последовательно выделять из травы растения фуранокумарины и полисахариды, а плоды служат источником эфирномасличных соединений, что создает основу для рационального использования данного инвазивного вида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сацыперова И. Ф. Борщевики флоры СССР – новые кормовые растения. М: Наука; 1984. 223 с.
2. Виноградова Ю. К. Черная книга флоры Тверской области. М.: Товарищество научных изданий КМК; 2011. 292 с.

3. Черняк Д. М. Изучение семенной продуктивности *Heracleum sosnowskyi* Manden в условиях юга Приморского края. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2018;8(74):92–95. https://doi.org/10.23670/IRJ.2018.74.8.019
4. Отраслевой классификатор сорных растений. М.: ФГБНУ «Росинформагротех»; 2018. 52 с.
5. Бообеков Д. Р. Разработка интелектуальной информационной системы по выявлению пораженных участков Борщевиком Сосновского. *Парадигма*. 2025;6(1):3–15.
6. Кузнецов Т. А. Разработка предложений по совершенствованию государственного регулирования в сфере сельского хозяйства (на примере Краснодарского края). *Вестник Академии знаний*. 2024;6(65):930–934.
7. Подкина Е. М. Программы государственной поддержки АПК. Этапы развития. *Трибуна ученого*. 2020;12:312–318.
8. Климкина Е. А., Околелова М. С., Смирнова Е. С. Анализ данных о фитофотодерматите, вызванном контактом с соком растений рода Борщевик (*Heracleum* L.). *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2024;43(2):183–192. https://doi.org/10.17816/rmmar624470
9. Wang Y., Hong C., Zhou C., Xu D., Qu H.-B. Screening Antitumor Compounds Psoralen and Isopsoralen from *Psoralea corylifolia* L. Seeds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011;2011:363052. https://doi.org/10.1093/ecam/nen087
10. Li H., Xu J., Li X., Hu Y., Liao Y., Zhou W., Song Z. Anti-inflammatory activity of psoralen in human periodontal ligament cells via estrogen receptor signaling pathway. *Scientific Reports*. 2021;11:8754. https://doi.org/10.1038/s41598-021-85145-1
11. Andreeva L. V. Content of Coumarins in Various Organs of Sosnovsky's Hogweed (*Heracleum Sosnowskyi* Manden.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;852(1):012006. https://doi.org/10.1088/1755-1315/852/1/012006
12. Лукашов Р. И., Гурина Н. С., Терлецкая В. А., Лавровский А. В., Дорошенко Т. М., Портянко А. С., Клемпер А. В., Повыдыш М. Н. Цитостатический эффект извлечений из борщевика Сосновского. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(1):39–53. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1978
13. Durairajan M. B., Thangaraj P. Exploring the immunomodulatory effects of polysaccharides in the management of inflammatory bowel disease: a review. *Journal of Herbal Medicine*. 2024;48:100932. https://doi.org/10.1016/j.hermed.2024.100932
14. Шахматов Е. Г., Михайлова Е. А., Макарова Е. Н. Структурно-химическая характеристика и биологическая активность полисахаридов *Heracleum sosnowskyi* Manden. *Химия растительного сырья*. 2015;(4):15–22. https://doi.org/10.14258/jcprm.201504878
15. Головченко В. В., Патова О. А., Оводова Р. Г., Витязев Ф. В. Способ получения суммы пектиновых полисахаридов из сухого растительного сырья. Патент РФ на изобретение № RU2636764C2. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2636764C2/ru Ссылка активна на 19.04.2026.
16. Нестерова Н. В., Жильков Ю. А., Ермакова В. Ю. Оценка количественного содержания эфирного масла в разных частях растения борщевик Сосновского. *Фармацевтическое дело и технология лекарств*. 2020;(3):52–57. https://doi.org/10.33920/med-13-2003-04
17. Лисовенко Н. Ю., Баландина С. Ю., Касьянов З. В., Мащенко П. С., Фомин Д. С. Способ получения эфирного масла плодов борщевика Сосновского, обладающего противогрибковой активностью. Патент РФ на изобретение № 2835487C1. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2835487C1/ru Ссылка активна на 19.04.2026.
18. Кушакова А. С., Ткаченко К. Г., Зенкевич И. Г. Определение компонентного состава эфирных масел борщевиков *Heracleum* с использованием хроматораспределительного метода. *Химия растительного сырья*. 2010;(4):111–114.
19. Thuy H. L. T., Bao C. H. Phuong T. V. T., Lap D. B., Hai N. T. V., Minh H. D., Tien T. N. Deproteinization in purification of exopolysaccharide from *Ophiocordyceps sinensis* olive oil – stimulated culture. *International Journal of Agricultural Technology*. 2018;14(7):2151–2162.
20. Бубенчикова В. Н., Степнова И. В., Шкабунова М. В. Разработка методики количественного определения полисахаридов в траве горлюхи ястребинковой. *Фармация*. 2018;67(5):19–23. https://doi.org/10.29296/25419218-2018-05-04
21. Oberlerchner J. T., Böhmdorfer S., Rosenau T., Potthast A. A matrix-resistant HPTLC method to quantify monosaccharides in wood-based lignocellulose biorefinery streams. *Holzforschung*. 2018;72(8):645–652. https://doi.org/10.1515/hf-2017-0170
22. Тюкавкина Н. А., Белобородов В. Л., Зурабян С. Э., Селиванова И. А., Лузин А. П., Артемьева Н. Н. Органическая химия. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015. 640 с.
23. Купцов А. Х., Жижин Г. Н. Фурье-КР и Фурье-ИК спектры полимеров. М.: Техносфера; 2013. 696 с.
24. Казицына Л. А., Куплетская Н. Б. Применение УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: Высшая школа; 1968. 829 с.
25. Hong T., Yin J.-Y., Nie S.-P., Xie M.-Y. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. *Food Chemistry: X*. 2021;12:100168. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100168
26. Mohanta B., Sen D. J., Mahanti B., Nayak A. K. Antioxidant potential of herbal polysaccharides: An overview on recent researches. *Sensors International*. 2022;3:100158. https://doi.org/10.1016/j.sintl.2022.100158
27. Ткаченко К. Г. Эфирные масла плодов *Heracleum ponticum* (Lipsky) Schischk. и *H. sosnowskyi* Manden. *Научные ведомости БелГУ*. 2010;3(74):23–27.
28. Mishyna M., Laman N., Prokhorov V., Maninang J. S., Fujii Y. Identification of Octanal as Plant Growth Inhibitory Volatile Compound Released from *Heracleum sosnowskyi* Fruit. *Natural Product Communications*. 2015;10(5):771–774. https://doi.org/10.1177/1934578x1501000518

REFERENCES

1. Satsyperova I. F. Hogweeds of the USSR flora – new forage plants. Moscow: Nauka; 1984. 223 p. (In Russ.)
2. Vinogradova Yu. K. Black Data Book of Tver Oblast Flora. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK; 2011. 292 p. (In Russ.)
3. Chernyak D. M. Study of Seed Productivity of *Heracleum sosnowskyi* Manden in the conditions of the south of the Primorsky Krai. *International Research Journal*. 2018;8(74):92–95. (In Russ.) https://doi.org/10.23670/IRJ.2018.74.8.019

4. Industry classifier of weed plants: information publication. M.: FGBNU «Rosinformagrotekh»; 2018. 52 p. (In Russ.)
5. Boobekov D. R. Development of an intelligent information system for the identification of affected areas by Sosnowsky's hogweed. *Paradigma*. 2025;6(1):3–15. (In Russ.)
6. Kuznetsov T. A. Development of proposals for improving state regulation in the field of agriculture (on the example of the Krasnodar territory). *Bulletin of the Academy of Knowledge*. 2024;6(65):930–934. (In Russ.)
7. Podkina E. M. Programs of state support of AIC: stages of development. *Tribune of scientists*. 2020;12:312–318. (In Russ.)
8. Klimkina E. A., Okolelova M. S., Smirnova E. S. Analysis of data on phytophotodermatitis caused by contact with the sap of plants of the genus Hogweed (*Heracleum* L.). *Russian Military Medical Academy Reports*. 2024;43(2):183–192. (In Russ.) https://doi.org/10.17816/rmmar624470
9. Wang Y., Hong C., Zhou C., Xu D., Qu H.-B. Screening Antitumor Compounds Psoralen and Isopsoralen from *Psoralea corylifolia* L. Seeds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011;2011:363052. https://doi.org/10.1093/ecam/nen087
10. Li H., Xu J., Li X., Hu Y., Liao Y., Zhou W., Song Z. Anti-inflammatory activity of psoralen in human periodontal ligament cells via estrogen receptor signaling pathway. *Scientific Reports*. 2021;11:8754. https://doi.org/10.1038/s41598-021-85145-1
11. Andreeva L. V. Content of Coumarins in Various Organs of Sosnovsky's Hogweed (*Heracleum Sosnowskyi* Manden.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2021;852(1):012006. https://doi.org/10.1088/1755-1315/852/1/012006
12. Lukashou R. I., Gurina N. S., Terletskaya V. A., Laurouski A. V., Doroshenko T. M., Portyanko A. S., Klemper A. V., Povydysh M. N. Cytostatic effect of extracts from *Heracleum Sosnowskyi*. *Drug development & registration*. 2025;14(1):39–53. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1978
13. Durairajan M. B., Thangaraj P. Exploring the immunomodulatory effects of polysaccharides in the management of inflammatory bowel disease: a review. *Journal of Herbal Medicine*. 2024;48:100932. https://doi.org/10.1016/j.hermed.2024.100932
14. Shakhmatov E. G., Mihajlova E. A., Makarova E. N. Structural-chemical characteristics and biological activity of polysaccharides from *Heracleum sosnowskyi* Manden. *Chemistry of plant raw material*. 2015;(4):15–22. (In Russ.) https://doi.org/10.14258/jcprm.201504878
15. Golovchenko V. V., Patova O. A., Ovodova R. G., Vityazev F. V. Method for producing a sum of pectic polysaccharides from dry plant material. Patent RUS № RU2636764C2. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2636764C2/ru Accessed: 19.04.2026. (In Russ.)
16. Nesterova N. V., Zhilkov Yu. A., Ermakova V. Yu. Assessment of the quantitative content of essential oil in different parts of the plant Heracléum sosnówski. *Pharmaceutical Business and Drug Technology*. 2020;(3):52–57. (In Russ.) https://doi.org/10.33920/med-13-2003-04
17. Lisovenko N. Yu., Balandina S. Yu., Kas'yanov Z. V., Mashchenko P. S., Fomin D. S. Method for obtaining essential oil from Sosnowsky's hogweed fruits with antifungal activity. Patent RUS № 2835487C1. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2835487C1/ru Accessed: 19.04.2026. (In Russ.)
18. Kushakova A. S., Tkachenko K. G., Zenkevich I. G. Determination of the component composition of essential oils of hogweeds Heracleum using chromatographic distribution method. *Chemistry of plant raw material*. 2010;(4):111–114. (In Russ.)
19. Thuy H. L. T., Bao C. H. Phuong T. V. T., Lap D. B., Hai N. T. V., Minh H. D., Tien T. N. Deproteinization in purification of exopolysaccharide from *Ophiocordyceps sinensis* olive oil – stimulated culture. *International Journal of Agricultural Technology*. 2018;14(7):2151–2162.
20. Bubenchikova V. N., Stepnova I. V., Shkabunova M. V. Development of a procedure for quantification of polysaccharides in Hawkweed oxtongue (Picris hieracioides) herb. *Pharmacy*. 2018;67(5):19–23. (In Russ.) https://doi.org/10.29296/25419218-2018-05-04
21. Oberlerchner J. T., Böhmdorfer S., Rosenau T., Potthast A. A matrix-resistant HPTLC method to quantify monosaccharides in wood-based lignocellulose biorefinery streams. *Holzforschung*. 2018;72(8):645–652. https://doi.org/10.1515/hf-2017-0170
22. Tyukavkina N. A., Beloborodov V. L., Zurabyan S. E., Selivanova I. A., Luzin A. P., Artemyeva N. N. Organic chemistry. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. 640 p. (In Russ.)
23. Kuptsov A. Kh.,Zhizhin G. N. FTRaman and FTIR spectra of polymers. Moscow: Tekhnosfera; 2013. 696 p. (In Russ.)
24. Kazitsyna L. A., Kupletskaya N. B. Application of UV, IR, and NMR spectroscopy in organic chemistry. Moscow: Vysshaya shkola; 1971. 829 p. (In Russ.)
25. Hong T., Yin J.-Y., Nie S.-P., Xie M.-Y. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. *Food Chemistry: X*. 2021;12:100168. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100168
26. Mohanta B., Sen D. J., Mahanti B., Nayak A. K. Antioxidant potential of herbal polysaccharides: An overview on recent researches. *Sensors International*. 2022;3:100158. https://doi.org/10.1016/j.sintl.2022.100158
27. Tkachenko K. G. Essential oils of fruits of *Heracleum ponticum* (Lipsky) Schischk. and *H. sosnowskyi* Manden. *Nauchnye Vedomosti BelGU*. 2010;3(74):23–27. (In Russ.)
28. Mishyna M., Laman N., Prokhorov V., Maninang J. S., Fujii Y. Identification of Octanal as Plant Growth Inhibitory Volatile Compound Released from *Heracleum sosnowskyi* Fruit. *Natural Product Communications*. 2015;10(5):771–774. https://doi.org/10.1177/1934578x1501000518

Обзорная статья / Review article

УДК 615.1

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2365

Check for updates

CC BY 4.0

Вопросы изучения кинетики высвобождения лекарственных средств из имплантатов, формируемых *in situ* (обзор)

П. С. Сахарова, Н. О. Белявский, Е. О. Бахрушина✉

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

✉ **Контактное лицо:** Бахрушина Елена Олеговна. **E-mail:** bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru

Резюме

Введение. Имплантаты, формируемые *in situ* (*in situ* forming implants, ISFI), представляют собой жидкие лекарственные формы (ЛФ), образующие твердую полимерную матрицу непосредственно в месте введения в ответ на физиологические стимулы. Данные системы обеспечивают длительное локализованное высвобождение активных фармацевтических субстанций (АФС), что делает их перспективными для терапии различных заболеваний. Ключевой проблемой их фармацевтической разработки является отсутствие надежных прогностических моделей, связывающих *in-vitro*-кинетику с поведением in vivo.

Текст. В данном обзоре представлен систематический и критический анализ существующих методов *in vitro* для оценки высвобождения лекарственных средств из ISFI, подходов к выбору биорелевантных сред, математического моделирования, а также обоснованы основные направления для установления корреляции *in vitro – in vivo* (IVIVC). Были рассмотрены основные группы методов изучения высвобождения, такие как тест «Растворение» с использованием различных аппаратов, диализные методы и метод проб и разделения, а также более современные подходы, включая метод замены среды и диффузию в агарозной матрице. Показано, что выбор биорелевантной среды растворения, учитывающей специфику микроокружения в месте имплантации (синовиальная, гингивальная, интерстициальная, слезная жидкость, опухолевое микроокружение), является критически важным фактором для получения прогностически ценных данных. Проанализированы возможности классических (нулевого и первого порядка, Хигучи, Корсмайера – Пеппаса) и механистических математических моделей для описания сложной кинетики высвобождения, определяемой взаимосвязанными процессами диффузии, набухания и деградации полимерной матрицы. Центральное место занимает анализ прецедентов установления IVIVC для ISFI, от первой линейной корреляции до впервые в мире успешно разработанной и валидированной корреляции уровня А.

Заключение. Установление IVIVC для ISFI не является принципиально невозможным, но требует системного инжиниринга методов *in vitro* с акцентом на биомиметическую настройку геометрических параметров и состава среды. Ключевыми направлениями будущих исследований являются создание интегрированных тест-систем, включение в протоколы биологических факторов и применение методов неинвазивного мониторинга.

Ключевые слова: *in-situ*-имплантаты, PLGA, кинетика высвобождения, тест «Растворение», биорелевантные среды, корреляция *in vitro – in vivo*, IVIVC, математическое моделирование

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

Вклад авторов. П. С. Сахарова и Е. О. Бахрушина разработали концепцию и дизайн обзора. П. С. Сахарова и Н. О. Белявский провели анализ литературы и подготовили текст рукописи. Е. О. Бахрушина осуществила критическое научное редактирование и утвердила окончательную версию. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и несут ответственность за целостность всех частей статьи.

Для цитирования: Сахарова П. С., Белявский Н. О., Бахрушина Е. О. Вопросы изучения кинетики высвобождения лекарственных средств из имплантатов, формируемых *in situ*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):64–84. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2365

Поступила в редакцию: 06.05.2026
Поступила после рецензирования: 18.05.2026
Принята к публикации: 26.06.2026

© Сахарова П. С., Белявский Н. О., Бахрушина Е. О., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Sakharova P. S., Belyavskiy N. O., Bakhrushina E. O., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Issues of studying drug release kinetics from *in situ* forming implants (review)

Polina S. Sakharova, Nikita O. Belyavskiy, Elena O. Bakhrushina✉

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

✉ **Corresponding author:** Elena O. Bakhrushina. **E-mail:** bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru

Abstract

Introduction. *In situ* forming implants (ISFIs) are liquid drug delivery systems that form a solid polymer matrix directly at the injection site in response to physiological stimuli. These systems provide prolonged localized release of active pharmaceutical ingredients (APIs), making them promising for the treatment of various diseases. A key challenge in their pharmaceutical development is the lack of reliable predictive models linking *in vitro* release kinetics with *in vivo* performance.

Text. This review provides a systematic and critical analysis of existing *in vitro* methods for assessing drug release from ISFIs, approaches to selecting biorelevant media, mathematical modeling, and substantiates the main directions for establishing *in vitro – in vivo* correlation (IVIVC). The main groups of release testing methods, such as the Dissolution test using various apparatuses, dialysis methods, and the sample-and-separate method, as well as more modern approaches including the medium replacement method and diffusion in an agarose matrix, are considered. It is shown that the choice of a biorelevant dissolution medium, considering the specifics of the microenvironment at the implantation site (synovial, gingival, interstitial, tear fluid, tumor microenvironment), is a critically important factor for obtaining prognostically valuable data. The capabilities of classical (zero-order, first-order, Higuchi, Korsmeyer – Peppas) and mechanistic mathematical models for describing the complex release kinetics, determined by the interrelated processes of diffusion, swelling, and degradation of the polymer matrix, are analyzed. Special attention is paid to the analysis of precedents for establishing IVIVC for ISFIs, from the first linear correlation to the world's first successfully developed and validated Level A correlation.

Conclusion. Establishing IVIVC for ISFIs is not fundamentally impossible but requires systematic engineering of *in vitro* methods with an emphasis on biomimetic adjustment of geometric parameters and medium composition. The key directions for future research are the creation of integrated test systems, the incorporation of biological factors into protocols, and the application of non-invasive monitoring techniques.

Keywords: *in situ* forming implants, PLGA, drug release kinetics, dissolution test, biorelevant media, *in vitro – in vivo* correlation, IVIVC, mathematical modeling

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

Contribution of the authors. Polina S. Sakharova and Elena O. Bakhrushina developed the concept and design of the review. Polina S. Sakharova and Nikita O. Belyavskiy analyzed the literature and prepared the manuscript. Elena O. Bakhrushina performed critical scientific editing and approved the final version. All authors participated in the discussion of the results and are responsible for the integrity of all parts of the article.

For citation: Sakharova P. S., Belyavskiy N. O., Bakhrushina E. O. Issues of studying drug release kinetics from *in situ* forming implants. *Drug development & registration*. 2026;15(3):64–84. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2365

Received: 06.05.2026
Revised: 18.05.2026
Accepted: 26.06.2026

ВВЕДЕНИЕ

Пролонгированные лекарственные формы (ЛФ) обеспечивают длительное высвобождение активной фармацевтической субстанции (АФС) и поддержание необходимой терапевтической концентрации в течение времени, что позволяет снизить частоту введения и решить проблему несоблюдения пациентами режима дозирования ЛП [1].

Особое место среди пролонгированных ЛФ занимают *in-situ*-имплантаты (*ISFI*) – системы из матрицеобразующего полимера и растворителя, которые принимают конечную форму непосредственно на месте введения.

ISFI – твердая ЛФ, образующаяся непосредственно в месте введения. В основе формирования большинства *ISFI* лежит принцип фазовой инверсии. Система представляет собой раствор матрицеобразующего полимера и АФС в растворителе. Смена растворителя на биологическую жидкость приводит к формированию твердой полимерной матрицы с АФС.

Распространенным матрицеобразующим полимером для создания биодеградируемых *ISFI* является полимолочная-со-гликолевая кислота (PLGA). Со-

полимеры обладают хорошей биосовместимостью, низкой токсичностью и способны к полной биодеградации в ходе гидролиза до молочной и гликолевой кислот, которые удаляются из организма через цикл трикарбоновых кислот. Реже в качестве матрицеобразующего полимера выбирают полимеры молочной кислоты, производные акриловой и метакриловой кислот, шеллак [2, 3]. В составы небиодеградируемых имплантатов входят поливиниловый спирт, полибутилметиакрилат, этилвинилацетат, силикон и др. [2]. Распространенный растворитель с низкой токсичностью и высокой биосовместимостью, используемый для создания *in-situ*-систем с PLGA, – N-метилпирролидон (NMP) [2, 3].

Механизм высвобождения АФС из таких систем, как правило, носит многостадийный характер и включает начальную фазу «взрывного высвобождения» (burst-release), связанную с процессами фазовой инверсии и диффузией растворителя, после которой следует пролонгированная стадия диффузионного транспорта через сформированную полимерную матрицу и/или ее эрозионную деградацию [4]. Параметры высвобождения могут быть целенаправленно модифицированы изменением молекулярной массы полимера, соотношения мономеров и свойств растворителя [5, 6].

Таким образом, *ISFI* как системы доставки лекарственных средств обеспечивают таргетное, локализованное действие, минимизируют системное воздействие на организм, тем самым снижая возможность возникновения побочных эффектов. Свойства имплантатов как лекарственной формы, безусловно, повышают приверженность пациентов к ней.

Несмотря на многочисленные описанные преимущества, внедрение подобных систем доставки в клиническую практику и регистрация их в качестве лекарственных препаратов по всему миру все еще затруднительны. Во многом это связано с отсутствием единой гармонизированной методологии оценки наиболее важного критического показателя для пролонгированных лекарственных форм – кинетики высвобождения АФС и ее корреляции с результатами *in vivo*. Решение этой задачи лежит в области разработки прогностических моделей, учитывающих особенности образования и деградации *ISFI*, а также место их применения.

Таким образом, целью настоящего обзора были систематизация и критический анализ существующих *in-vitro*-методов оценки кинетики высвобождения АФС из *ISFI*, подходов к выбору биорелевантных сред, математического моделирования и обоснование основных направлений для установления корреляции *in vitro – in vivo* (IVIVC).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Методы изучения кинетики высвобождения АФС из ISFI

При изучении кинетики высвобождения АФС из полимерных матриц в условиях *in vitro* распространены следующие методы: тест «Растворение», диализные методы и метод проб и разделения (таблица 1).

Таблица 1. Способы изучения кинетики высвобождения АФС из полимерных PLGA-матриц в условиях *in vitro*

Table 1. Methods for studying API release kinetics from polymeric PLGA matrices under *in vitro* conditions

Способ изучения Method	**ЛФ/АФС** Dosage Form / API	**Объединенная методика** Consolidated procedure	**Ссылки** References
Тест «Растворение» (Аппараты 1, 2, 4, статические условия) Dissolution Test (Apparatus 1, 2, 4, static conditions)	Имплантат (доксорубицин) Implant (doxorubicin)	Метод вращающейся корзинки. Среда: 200 мл буфера Tris-HCl (pH = 4,0), 37 °C. Отбор проб: по 5 мл с заменой. Анализ: ВЭЖХ Rotating basket method. Medium: 200 mL Tris-HCl buffer (pH = 4.0), 37 °C. Sampling: 5 mL with replacement. Analysis: HPLC	[9]
	Микросферы (аналог соматостатина) Microspheres (somatostatin analog)	USP 4 (Sotax CE7). Ячейка 22,6 мм, стеклянные шарики 1 мм (9 г). Среда: 500 мл фосфатного буфера (pH 2), поток 16 мл/мин. Анализ: ВЭЖХ USP 4 (Sotax CE7). 22.6 mm cell, glass beads 1 mm (9 g). Medium: 500 mL phosphate buffer (pH 2), flow rate 16 mL/min. Analysis: HPLC	[10]
	Микросферы (аналог соматостатина) Microspheres (somatostatin analog)	USP 2 (Sotax AT7). Среда: 1000 мл PBS (pH 2), скорость вращения 50 об/мин, температура 45 °C. Отбор проб: фильтрация через стекловолоконный фильтр (1 мм) USP 2 (Sotax AT7). Medium: 1000 mL PBS (pH 2), rotation speed 50 rpm, temperature 45 °C. Sampling: filtration through glass fiber filter (1 mm)	[10]

Продолжение таблицы 1

Способ изучения **Method**	**ЛФ/АФС** **Dosage Form / API**	**Объединенная методика** **Consolidated procedure**	**Ссылки** **References**
Диализный метод Dialysis method	Имплантат (налтрексон) Implant (naltrexone)	Метод вращающейся корзинки. Среда: 20 мл фосфатного буфера, 25 об/мин Rotating basket method. Medium: 20 mL phosphate buffer, 25 rpm	[11]
	Наночастицы (реин) Nanoparticles (rhein)	Суспензию помещали в диализный мешок, погружали в 50 мл среды (0,5 % ГПМЦ), 37 °С, перемешивание 60 об/мин. Отбор: 2 мл с заменой. Анализ: ВЭЖХ A suspension was placed in dialysis bag, immersed in 50 mL medium (0.5 % HPMC), 37 °C, stirring 60 rpm. Sampling: 2 mL with replacement. Analysis: HPLC	[13]
	Наночастицы (диазепам) Nanoparticles (diazepam)	Диализный мешок в 100 мл PBS (pH 7,4), 37 ± 1 °С, магнитная мешалка 100 об/мин. Отбор: 2 мл с заменой. Анализ: УФ-спектрофотометрия (325 нм) Dialysis bag in 100 mL PBS (pH 7.4), 37 ± 1 °C, magnetic stirrer 100 rpm. Sampling: 2 mL with replacement. Analysis: UV spectrophotometry (325 nm)	[14]
	Наночастицы (лансопразол) Nanoparticles (lansoprazole)	Суспензия в 5 мл PBS (pH 7,4) в диализном мешке, погружена в 100 мл среды, шейкер 75 об/мин, 37 °С. Отбор: 1 мл с заменой. Анализ: ВЭЖХ Suspension in 5 mL PBS (pH 7.4) in dialysis bag, immersed in 100 mL medium, shaker 75 rpm, 37 °C. Sampling: 1 mL with replacement. Analysis: HPLC	[15]
	Наночастицы (атенолол) Nanoparticles (atenolol)	Пакет с 2 мл образца в 100 мл PBS (pH 7,4), 100 об/мин, 37 °С. Отбор: 5 мл с заменой. Анализ: УФ-спектрофотометрия (278,6 нм) Bag with 2 mL sample in 100 mL PBS (pH 7.4), 100 rpm, 37 °C. Sampling: 5 mL with replacement. Analysis: UV spectrophotometry (278.6 nm)	[16]
	Наночастицы (церебролизин) Nanoparticles (cerebrolysin)	Диализный мешок с суспензией (60 мг в 1 мл воды) в 25 мл PBS (pH 7,4), 100 об/мин, 37 °С. Отбор: 2,5 мл с заменой. Анализ: УФ-спектрофотометрия (273 нм) Dialysis bag with suspension (60 mg in 1 mL water) in 25 mL PBS (pH 7.4), 100 rpm, 37 °C. Sampling: 2.5 mL with replacement. Analysis: UV spectrophotometry (273 nm)	[26]
	Имплантаты (нифедипин, никардипин) Implants (nifedipine, nicardipine)	20 мг имплантата в диализном мешке, 4 мешка в 250 мл PBS (pH 7,4, 0,02%-й азид натрия). Смена среды каждые 2 дня, 21 день, водяная баня, 40 об/мин. Дополнительно: взвешивание имплантатов после высушивания 20 mg implant in dialysis bag, 4 bags in 250 mL PBS (pH 7.4, 0.02 % sodium azide). Medium replacement every 2 days, 21 days, water bath, 40 rpm. Additional: implant weighing after drying	[27]
	Микросферы (аналог соматостатина) Microspheres (somatostatin analog)	Float-A-Lyzer: 4 мг микросфер в 1 мл буфера (pH 2) в диализаторе, погруженном в 50 мл буфера, шейкер 80 об/мин, 45 °С Float-A-Lyzer: 4 mg microspheres in 1 mL buffer (pH 2) in dialyzer, immersed in 50 mL buffer, shaker 80 rpm, 45 °C	[10]

Продолжение таблицы 1

Способ изучения **Method**	**ЛФ/АФС** **Dosage Form / API**	**Объединенная методика** **Consolidated procedure**	**Ссылки** **References**
Диализный метод Dialysis method	Имплантат (налтрексон) Implant (naltrexone)	Диализная трубка для разделения препарата и среды, перемешивание 300 об/мин Dialysis tube for separating drug and medium, stirring 300 rpm	[11]
Метод проб и разделений Sample-and-separate method	Микрочастицы (лейпролид) Microparticles (leuprolide)	10 мг образца во флаконе с 10 мл PBS (pH 7,4, 0,02%-й азид натрия), 37 °C, перемешивание. Отбор: 1 мл надосадочной жидкости (после осаждения). Анализ: RP-ВЭЖХ 10 mg sample in vial with 10 mL PBS (pH 7.4, 0.02 % sodium azide), 37 °C, stirring. Sampling: 1 mL supernatant (after sedimentation). Analysis: RP-HPLC	[28]
	Микросферы (дексаметазон) Microspheres (dexamethasone)	5 мг в 5 мл PBS (pH 7,4, 0,1%-й NaN_3), 37 °C, постоянное перемешивание. Полная замена среды в каждой точке. Фильтрация 0,45 мкм. Анализ: ВЭЖХ 5 mg in 5 mL PBS (pH 7.4, 0.1 % NaN_3), 37 °C, continuous stirring. Complete medium replacement at each time point. Filtration 0.45 μm. Analysis: HPLC	[22]
	Наночастицы (паклитаксел) Nanoparticles (paclitaxel)	Дисперсия в 10 мл PBS (pH 7,4), 37 °C, магнитное перемешивание. Разделение: ультрацентрифугирование (22000g, 1 ч, 4 °C). Анализ: ВЭЖХ (надосадочная жидкость + ацетонитрил) Dispersion in 10 mL PBS (pH 7.4), 37 °C, magnetic stirring. Separation: ultracentrifugation (22000g, 1 h, 4 °C). Analysis: HPLC (supernatant + acetonitrile)	[23]
	Наночастицы (доксициклин) Nanoparticles (doxycycline)	10 мг в 3 мл PBS (pH 7,4), распределение по 1 мл, шейкер 150 об/мин, 37 °C. Разделение: центрифугирование (13 800 об/мин, 10 мин, 4 °C). Отбор надосадочной жидкости с заменой 10 mg in 3 mL PBS (pH 7.4), distributed into 1 mL, shaker 150 rpm, 37 °C. Separation: centrifugation (13 800 rpm, 10 min, 4 °C). Supernatant sampling with replacement	[24]
	Наночастицы (лоперамид) Nanoparticles (loperamide)	5 мл PBS (pH 7,4), водяная баня 100 об/мин, 37 °C. Разделение: центрифугирование. Отбор надосадочной жидкости с заменой. Анализ: УФ-спектроскопия (220 нм) 5 mL PBS (pH 7.4), water bath 100 rpm, 37 °C. Separation: centrifugation. Supernatant sampling with replacement. Analysis: UV spectroscopy (220 nm)	[25]
	Микросферы (донепезил) Microspheres (donepezil)	4 мг в 8 мл PBS (pH 7,4, 0,1%-й NaN_3), пробирка «эппендорф», встряхивание 100 об/мин, 37 °C. Разделение: центрифугирование (4000 об/мин, 5 мин). Отбор 5 мл надосадочной жидкости с заменой. Анализ: ВЭЖХ 4 mg in 8 mL PBS (pH 7.4, 0.1 % NaN_3), Eppendorf tube, shaking 100 rpm, 37 °C. Separation: centrifugation (4000 rpm, 5 min). Sampling 5 mL supernatant with replacement. Analysis: HPLC	[31]

Окончание таблицы 1

Способ изучения **Method**	**ЛФ/АФС** **Dosage Form / API**	**Объединенная методика** **Consolidated procedure**	**Ссылки** **References**
Метод проб и разделений Sample-and-separate method	Имплантат (налтрексон) Implant (naltrexone)	Гелевый диск или инъекция в стеклянный флакон с 20 мл PBS. Полная замена среды в каждой точке Gel disc or injection into glass vial with 20 mL PBS. Complete medium replacement at each time point	[11]
Метод замены среды Medium replacement method	Имплантат (метронидазол, доксициклин) Implant (metronidazole, doxycycline)	Формирование имплантата на дне флакона «эппендорф», добавление 1,5 мл PBS (pH 7,4), горизонтальное встряхивание 80 об/мин, 37 °C. Полная замена жидкости в каждой точке. Анализ: УФ-спектрофотометрия Implant formation at the bottom of Eppendorf tube, addition of 1.5 mL PBS (pH 7.4), horizontal shaking 80 rpm, 37 °C. Complete liquid replacement at each time point. Analysis: UV spectrophotometry	[30]
	Имплантат (дексаметазон) Implant (dexamethasone)	1 мг препарата во флаконе 1,5 мл с 1 мл PBS, шейкер на водяной бане, 37 °C. Ежедневный полный отбор раствора. Анализ: ВЭЖХ 1 mg drug in 1.5 mL vial with 1 mL PBS, shaker in water bath, 37 °C. Daily complete solution sampling. Analysis: HPLC	[32]
	Микросферы (гентамицин) Microspheres (gentamicin)	0,2 г микросфер в 10 мл PBS (pH 7,4) или физрастворе, водяная баня, 37 °C. Отбор 3 мл с заменой. Анализ: спектрометрия 0.2 g microspheres in 10 mL PBS (pH 7.4) or saline, water bath, 37 °C. Sampling 3 mL with replacement. Analysis: spectrometry	[29]
Метод диффузии в агарозной матрице Diffusion in agarose matrix method	Имплантат (кеторолак) Implant (ketorolac)	Имплантат извлекали из агарозной матрицы и растворяли в N-метилпирролидоне. Высвобождение рассчитывали как разницу между начальной концентрацией и остаточной в имплантате Implant was extracted from agarose matrix and dissolved in N-methylpyrrolidone. Release was calculated as the difference between initial concentration and residual concentration in implant	[33]
	Имплантат (лейпролида ацетат) Implant (leuprolide acetate)	Анализ: УФ-видимая визуализация при длине волны 280 нм, ActiPix D200 Analysis: UV-vis imaging at 280 nm, ActiPix D200	[34, 35]
	Имплантат (флуоресцеин) Implant (fluorescein)	Анализ: флуоресцентный планшетный ридер Analysis: Fluorescent plate reader	[36, 37, 40]
	Имплантат (пироксикам или α-лактальбумин) Implant (piroxicam or α-lactalbumin)	Анализ: УФ-видимая визуализация Analysis: UV-vis imaging	[38]
	Имплантат (цАМФ) Implant (cAMP)	Анализ: УФ-видимая визуализация Analysis: UV-vis imaging	[39]

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

При проведении ***теста «Растворение»*** с использованием аппарата «Проточная ячейка» образец ЛФ помещают в вертикальную камеру, оснащенную системой фильтров. Через ячейку непрерывно прокачивается среда с помощью насоса, после чего она проходит через фильтр и анализируется для определения концентрации высвобожденного АФС. Такой подход позволяет получать кинетические кривые высвобождения препарата во времени. В исследованиях [8, 9] профиль высвобождения АФС из *ISFI* определяли с использованием метода проточной ячейки с последующим анализом образцов методами спектрофотометрии (СФМ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В работе [10] кинетику высвобождения исследовали с применением ускоренного теста «Растворение», позволяющего достичь полного высвобождения аналога соматостатина из микросфер PLGA в течение нескольких суток. Ускорение процесса достигалось использованием фосфатного буферного раствора (PBS) с pH 2 при температуре 45 °C, что существенно повышало скорость высвобождения АФС. Преимуществами данного метода являются автоматизированный процесс, разнообразие видов проточных ячеек, возможность регулировать объем и скорость подачи среды. Однако при изучении кинетики ЛФ с пролонгированным высвобождением возможно засорение фильтров и возникновение трудностей с их заменой.

Диализные методы основаны на диффузии АФС через полупроницаемую мембрану. В зависимости от условий эксперимента различают прямой диализ, обратный диализ и параллельный диализ. При проведении прямого диализа микрочастицы диффундируют через диализную мембрану из внутренней среды во внешнюю. В случае обратного диализа высвобождение АФС происходит во внутреннюю среду системы. В статье [18] диализные пробирки помещали в емкость, содержащую раствор с липосомами, и отбор пробы осуществляли из внутреннего пространства пробирки. При параллельном диализе донорный и акцепторный отсеки имеют одинаковый объем и разделены диализной мембраной. Количество высвобожденного вещества может быть определено либо по уменьшению его концентрации в донорном отсеке, либо по увеличению в акцепторном [17].

В ряде исследований [13–16] использовали диализные мешки, которые помещали в буферный раствор с последующим отбором проб и определением концентрации АФС с помощью физико-химических методов. Существенным недостатком диализных методов является наличие двух диффузионных барьеров – полимерной матрицы и диализной мембраны, что не полностью отражает условия *in vivo*, где высвобождение происходит только из матрицы ЛФ [17].

В диализном методе важную роль играют характеристики мембраны. Она не должна взаимодействовать с АФС, а ее предельный молекулярный вес должен быть примерно в 100 раз больше размера молекулы ЛВ [18]. Размеры пор мембраны должны не только обеспечивать свободное прохождение частиц, но и задерживать наночастицы. Недостаточная проницаемость мембраны может приводить к накоплению АФС в донорном отсеке и искажению результатов эксперимента. Для создания достаточной движущей силы диффузии рекомендуется, чтобы внутренний объем диализного мешка был как минимум в 6–10 раз меньше объема внешней среды [19].

В ходе ***метода проб и разделения*** матрицу, содержащую АФС, суспендируют и через определенные интервалы времени образцы для анализа отделяют от частиц матрицы путем фильтрации или центрифугирования. После центрифугирования анализируют концентрацию препарата в надосадочной жидкости либо определяют остаточное содержание АФС в фильтрате. Существенное значение при использовании данного метода имеют условия перемешивания и способ разделения. Интенсивное механическое воздействие может приводить к разрушению частиц матрицы и изменению механизма высвобождения АФС. Так, в *in-vitro*-исследовании [28] высвобождение лейпролида из микрочастиц PLGA проводили в 10 мл 0,1 М фосфатного буферного раствора, содержащего 0,02%-й азида натрия, при температуре 37 °C. Перемешивание осуществляли либо непрерывно с помощью магнитной мешалки, либо периодически – один раз в неделю в течение одной минуты. Образцы надосадочной жидкости анализировали методом ВЭЖХ. Было показано, что при непрерывном перемешивании наблюдалось более интенсивное высвобождение препарата по сравнению с периодическим перемешиванием. В процессе разделения может продолжаться высвобождение лекарственного средства, что также способно привести к неточным результатам.

На практике широко применяют шприцевые методы разделения [18], а для систем на основе наночастиц – ультрафильтрацию, включая центробежную ультрафильтрацию и ультрафильтрацию под давлением [19–21]. В случае шприцевого метода образец отбирают с помощью шприца и пропускают через мембранный фильтр. Фильтр задерживает частицы полимерной матрицы, тогда как растворенный АФС проходит через мембрану и затем анализируется с использованием физико-химических методов [18]. При использовании центробежной ультрафильтрации образец помещают в специальный фильтрационный картридж и подвергают центрифугированию. Под действием центробежной силы раствор проходит через мембрану и собирается в нижнем отсеке устройства, тогда как наночастицы остаются в верхней камере [19, 20]. Ультрафильтрация под давлением позволяет обрабатывать большие объемы образцов и обеспечивает более контролируемую скорость фильтрации [21].

В аспекте выбора оптимального метода для оценки кинетики высвобождения АФС из *ISFI* особый интерес представляют сравнительные исследования. Про-

филь высвобождения АФС из матрицы в работах [10, 11] изучали тремя перечисленными выше методами. Было установлено, что значительные различия во времени высвобождения налтрексона наблюдаются при применении методов проб и разделения и мембранной диффузии [11]. Наименьшая вариабельность результатов была получена при использовании метода «вращающаяся корзинка», что, вероятно, связано с равномерным контактом всей поверхности имплантата с растворяющей средой и минимальным влиянием гидродинамических факторов. Для ускоренного исследования высвобождения соматостатина из микросфер наиболее подходящим оказался метод «проточная ячейка» [11], поскольку он обеспечивает непрерывную подачу среды и позволяет минимизировать испарение растворителя даже при повышенных температурах, тем самым более точно моделируя условия *in vivo*.

Традиционные *in-vitro*-методы изучения кинетики высвобождения АФС из *ISFI* основаны на инкубации сформированного имплантата в среде фосфатного буфера с последующим периодическим отбором проб и количественным определением концентрации АФС физико-химическими методами. Однако подобные системы не учитывают диффузионные ограничения, характерные для биологических тканей, что может приводить к недостоверным результатам. Использование, например, ***агаровой модели*** обеспечивает более приближенные к физиологическим условия. Данный подход позволяет визуализировать процесс диффузии вещества в пространстве модели, что представляет дополнительную ценность при исследовании механизмов высвобождения [33–39]. В работе [35] было показано, что наличие агарозного геля снижает начальный выброс и замедляет последующую диффузию АФС за счет механического ограничения набухания имплантата и замедления транспорта растворителя.

Особый интерес представляют работы, использующие методы оптической визуализации. В работах [34, 35, 39] количественную оценку первоначального высвобождения лейпролида ацетата из имплантата изучали с использованием УФ-видимой визуализации. Данный метод позволяет регистрировать концентрацию АФС и распределение растворителя в режиме реального времени в агарозной матрице. Регистрация осуществляется в двух спектральных диапазонах: при 280 нм – количественное определение концентрации АФС, а при 520–535 нм – визуализация структуры имплантата и окружающей его среды [34, 35, 39]. Полученные карты поглощения УФ-излучения с пространственным и временным разрешением были преобразованы в соответствующие карты концентрации с помощью калибровочных кривых.

В статье [36] в качестве модельного АФС в систему вводили флуоресцеин. Концентрацию препарата определяли с помощью флуоресцентного планшетного ридера с последующим сравнением со стандартной кривой. Кумулятивное высвобождение препарата рассчитывали с помощью соотношения массы препарата, оставшегося в каждом имплантате, с начальной массой препарата в имплантате. В работе [37] общую массу флуоресцеина определяли путем измерения флуоресценции исходного раствора и раствора, в котором растворен имплантат, затем концентрацию определяли по стандартной кривой. Динамическая ультразвуковая визуализация позволила одновременно оценивать процесс формирования имплантата и его структурные изменения [37]. Ультразвуковые изображения представляли собой визуализацию сигнала обратного рассеяния, возникающего вследствие различий в механическом сопротивлении между компонентами системы – полимерной матрицей, растворителем, агаровой средой. Такой подход позволяет неинвазивно отслеживать формирование плотной оболочки, развитие внутренней пористости и изменение морфологии системы во времени.

Количество высвобожденного АФС может быть также определено методом электронного парамагнитного резонанса. В таких исследованиях в систему вводят спиновые зонды, спектральные характеристики которых изменяются в зависимости от полярности среды и подвижности молекул. В работе [30] в качестве спинового зонда использовали 4-гидроксибензоат – нитроксильный радикал, для которого характерно изменение расщепления линий спектра при изменении микросреды. Диффузия АФС из имплантата приводит к изменению спектральных параметров, при этом количественной характеристикой состава системы может служить константа сверхтонкого взаимодействия.

Выбор биорелевантных сред для изучения кинетики высвобождения из ISFI

Для проведения фармацевтической разработки такой лекарственной формы с модифицированным высвобождением, как имплантаты, критически важным моментом является оценка кинетики высвобождения в процессе составления формуляций и скрининга составов – *in vitro*. При этом вопросы корреляции *in vitro*/*in vivo* (IVIVC) для этих лекарственных форм в мировой практике изучены слабо. Имплементированный из практики оценки традиционных пероральных лекарственных форм (таблеток, капсул) подход использования в качестве биорелевантной среды для тестов «Растворение» и др. PBS с pH около 7,0 не всегда является биорелевантным для имплантатов ввиду различной локализации их введения и разного, как следствие, состава окружающей среды и биологической жидкости в области имплантации.

Также необходимо отметить, что критичность соблюдения биорелевантности среды растворения возрастает с переходом от имплантатов как твердых

лекарственных форм к *ISFI*, формируемым на месте введения в ответ на специфичность стимулов, среди которых есть и параметры окружающей место имплантации среды. В таблице 2 представлены составы биорелевантных сред для различных локализаций имплантации, описанные в мировой научной литературе.

Имплантаты в коленный сустав (синовиальная жидкость)

Синовиальная жидкость представляет собой высоковязкий ультрафильтрат плазмы, содержащий гиалуроновую кислоту (1–4 мг/мл), протеогликан 4 (PRG4/lubricin, 0,05–0,35 мг/мл) и фосфолипиды (около 0,1 мг/мл) [41, 42]. Гиалуроновая кислота обеспечивает уникальные вязкоэластичные и тиксотропные свойства синовиальной жидкости, которые необходимы для нормального функционирования сустава. При разработке биорелевантной среды для суставных имплантатов критически важно воспроизвести эти реологические характеристики, поскольку они напрямую влияют на диффузию АФС и деструкцию полимерной матрицы.

Mazzucco и соавт. [43] установили, что здоровая синовиальная жидкость содержит гиалуроновую кислоту в концентрации 2–4 мг/мл, тогда как при ревматоидном артрите ее концентрация может снижаться до 0,1–0,5 мг/мл. Для моделирования воспалительных условий в среду дополнительно вводят перекись водорода (H_2O_2) в концентрации 3–30 мМ, что имитирует продукцию активных форм кислорода активированными фагоцитами [44, 45].

Cooke и соавт. [41] в классическом исследовании описали неньютоновское поведение синовиальной жидкости с выраженным эффектом утоньшения сдвига.

Имплантаты в пародонтальный карман и альвеолярную лунку

Гингивальная жидкость является ультрафильтратом плазмы, который поступает в пародонтальный карман через эпителий десны. По данным FTIR-исследований, проведенных с использованием синхротронного излучения, десневая жидкость содержит широкий спектр белков, включая альбумин, иммуноглобулины, цитокины и продукты тканевого метаболизма [47, 48]. При развитии воспалительного процесса pH десневой жидкости может снижаться с 7,4 до 6,5–6,8, а концентрация провоспалительных цитокинов значительно возрастает.

Для моделирования здорового пародонта рекомендуется использовать искусственную слюну с добавлением муцина (3–5 г/л), который имитирует вязкоэластичные свойства оральной жидкости. В случае воспалительных заболеваний пародонта целесообразно использовать среду с pH 6,5–6,8 и добавлением 2–4 % бычьего сывороточного альбумина [49].

Имплантаты в стекловидное тело глаза

Стекловидное тело представляет собой гидрогель, состоящий на 98–99 % из воды, гиалуроновой кислоты (0,1–1 %) и коллагена II типа. Вязкость стекловидного тела значительно выше, чем у водных растворов, а конвекция в нем сильно ограничена [50]. Эти особенности необходимо учитывать при моделировании высвобождения из внутриглазных имплантатов. В некоторых работах для имитации стекловидного тела по его физико-механическим параметрам использовали полиакрилатный гель.

Del Amo и Urtti [51] в комплексном обзоре методов оценки внутриглазных имплантатов показали, что использование агарозных гелей (1–2 %) позволяет адекватно воспроизвести диффузионные ограничения стекловидного тела. Альтернативным подходом является использование растворов гиалуроновой кислоты высокой молекулярной массы, которые создают сходную вязкопластичную среду. Bock и соавт. [39] успешно применили УФ-визуализацию для изучения диффузии цАМФ из имплантатов в агарозных гелях, имитирующих внутриглазную среду.

Подкожные имплантаты (интерстициальная жидкость)

Интерстициальная жидкость по своему составу близка к плазме крови, но содержит меньшую концентрацию белка (примерно 50 % от плазменной). Стандартным подходом для моделирования подкожной имплантации является использование фосфатного буфера pH 7,4 с добавлением 4%-го бычьего сывороточного альбумина или 10%-й сыворотки крови [52].

Важно отметить, что выбор концентрации белка в среде может существенно влиять на профиль высвобождения. Zlomke и соавт. [27] показали, что добавление бычьего сывороточного альбумина ускоряет высвобождение нифедипина из PLGA-имплантатов по сравнению с чистым PBS. В работе Mittapelly и соавт. [53] предложена механистическая модель высвобождения из PLGA-имплантатов, учитывающая влияние белка на диффузию АФС.

Имплантаты в слезный канал

Слезная жидкость является сложной биологической средой, содержащей липиды (0,1–1 %), муцины (0,5–1 %), белки (лизоцим, лактоферрин, альбумин) и электролиты [54]. При разработке имплантатов для лечения синдрома сухого глаза или глаукомы необходимо учитывать постоянное обновление слезной жидкости (скорость продукции около 1–2 мкл/мин) и наличие липидного слоя на поверхности.

Для моделирования слезной жидкости могут использовать PBS pH 7,4 с добавлением 0,5–1 % полисорбата-80 (для имитации липидного компонента) и 0,5–1 % муцина (для вязкости) [55].

Таблица 2. Биорелевантные среды для изучения кинетики высвобождения АФС из *in-situ*-имплантатов

Table 2. Biorelevant media for studying API release kinetics from *in situ* forming implants

Локализация имплантата Implant Location	**Моделируемая жидкость** Simulated Fluid	**Состав среды** Medium Composition	**Обоснование выбора** Rationale	**Ссылки** References
Коленный сустав Knee Joint	Синовиальная жидкость Synovial fluid	PBS pH 7,4 + гиалуроновая кислота (1–4 мг/мл) + + бычий сывороточный альбумин (4 %) PBS pH 7.4 + hyaluronic acid (1–4 mg/mL) + bovine serum albumin (4 %)	Гиалуроновая кислота обеспечивает вязкоэластичность и тиксотропные свойства. Альбумин имитирует связывание с белками. Воспаление моделируется добавлением H_2O_2 (3–30 мМ) Hyaluronic acid provides viscoelasticity and thixotropic properties. Albumin mimics protein binding. Inflammation is modeled by adding H_2O_2 (3–30 mM)	[41–46]
Пародонтальный карман / Альвеолярная лунка Periodontal Pocket / Alveolar Socket	Гингивальная жидкость / искусственная слюна Gingival fluid / artificial saliva	Для воспаления: PBS pH 6,5–7,0 + 2–4 % бычий сывороточный альбумин. Для нормы: искусственная слюна + муцин (3–10 г/л) до pH 7,0–7,4 For inflammation: PBS pH 6.5–7.0 + 2–4 % bovine serum albumin. For normal: artificial saliva + mucin (3–10 g/L) to pH 7.0–7.4	Гингивальная жидкость является ультрафильтратом плазмы. При воспалении pH снижается до 6,5. Муцин имитирует реологию слюны Gingival fluid is an ultrafiltrate of plasma. During inflammation, pH decreases to 6.5. Mucin mimics saliva rheology	[47–49]
Стекловидное тело глаза Vitreous Body of the Eye	Стекловидное тело Vitreous body	PBS pH 7,4 + гиалуроновая кислота (0,1–1 %) или агароза (1–2 %) для создания гелевой структуры PBS pH 7.4 + hyaluronic acid (0.1–1 %) or agarose (1–2 %) to create gel structure	Стекловидное тело – гидрогель с высокой вязкостью и ограниченной конвекцией. Гиалуроновая кислота и коллаген II типа создают диффузионный барьер Vitreous body is a hydrogel with high viscosity and limited convection. Hyaluronic acid and collagen type II create a diffusion barrier	[50–52]
Подкожная клетчатка Subcutaneous Tissue	Интерстициальная жидкость Interstitial fluid	PBS pH 7,4 + 4 % бычий сывороточный альбумин или 10 % сыворотки крови PBS pH 7.4 + 4 % bovine serum albumin or 10 % blood serum	Интерстициальная жидкость близка к плазме крови с более низкой концентрацией белка. Добавление альбумина улучшает солюбилизацию гидрофобных АФС и корреляцию *in vitro – in vivo* Interstitial fluid is close to blood plasma with lower protein concentration. Albumin addition improves solubilization of hydrophobic APIs and *in vitro – in vivo* correlation	[52–53]
Слезный канал Lacrimal Duct	Слезная жидкость Tear fluid	PBS pH 7,4 + 0,5–1 % полисорбат-80 + 0,5–1 % муцин PBS pH 7.4 + 0.5–1 % polysorbate 80 + 0.5–1 % mucin	Слезная жидкость содержит липиды, муцины и белки (лизоцим, лактоферрин). Полисорбат имитирует липидный компонент и улучшает смачиваемость Tear fluid contains lipids, mucins and proteins (lysozyme, lactoferrin). Polysorbate mimics the lipid component and improves wettability	[54–56]

Окончание таблицы 2

Локализация имплантата Implant Location	Моделируемая жидкость Simulated Fluid	Состав среды Medium Composition	Обоснование выбора Rationale	Ссылки References
Внутритканевая (опухоль) Intratissue (Tumor)	Интерстициальная жидкость опухоли Tumor interstitial fluid	PBS pH 6,5–6,8 + 4 % бычий сывороточный альбумин + 10 мМ лактата PBS pH 6.5–6.8 + 4 % bovine serum albumin + + 10 mM lactate	Опухолевое микроокружение характеризуется пониженным pH (6,5–6,8), повышенным содержанием лактата и гипоксией. Учет этих факторов критичен для противоопухолевых имплантатов Tumor microenvironment is characterized by decreased pH (6.5–6.8), increased lactate content and hypoxia. Consideration of these factors is critical for antitumor implants	[57]

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Внутритканевые имплантаты (опухолевое микроокружение)

Опухолевое микроокружение характеризуется несколькими уникальными особенностями: пониженным pH (6,5–6,8), гипоксией, повышенным содержанием лактата (до 10–20 мМ) и активных форм кислорода [57]. Эти факторы могут существенно влиять как на кинетику высвобождения АФС, так и на скорость деградации полимерной матрицы.

Математические модели для описания кинетики высвобождения из ISFI

Кинетика высвобождения АФС из имплантата, образуемого *in situ*, характеризуется многостадийным процессом и может быть разделена на три основные фазы. При введении имплантата в организм наблюдается резкий выброс АФС, а затем фаза замедленного высвобождения, контролируемая диффузией АФС через полимерную матрицу (рисунок 1). На заключительном этапе начинается эрозия и деградация имплантата, что сопровождается увеличением скорости высвобождения АФС [58, 6, 7].

Первоначальное бурное высвобождение АФС из матрицы связывают с несколькими факторами. Во-первых, в момент фазовой инверсии происходит быстрый обмен растворителя системы на биологическую жидкость, что может приводить к интенсивной диффузии растворенного АФС [6]. Во-вторых, часть АФС может быть локализована на поверхности или в поверхностных слоях формирующейся матрицы, что также способствует его ускоренному высвобождению [6].

Основным механизмом высвобождения АФС является диффузия. Молекулы АФС могут мигрировать в окружающую среду через полимерную матрицу либо через поры полимера, заполненные биологической жидкостью. По мере проникновения биологической жидкости в матрицу происходит постепенная деградация полимера. Для полимеров на основе PLGA характерно гидролитическое расщепление сложноэфирных связей, сопровождающееся уменьшением молекулярной массы и разрушением структуры матрицы [6, 7]. Как правило, деградация протекает неоднородно и происходит быстрее в сердцевине матрицы. Это объясняется накоплением кислых продуктов гидролиза, диффузия которых затруднена за пределы матрицы, в результате начинается автокаталитическая реакция. В зависимости от соотношения скоростей диффузии воды и гидролитического разрушения полимера возможны различные механизмы эрозии. Если вода быстро проникает в толщу матрицы, происходит объемная эрозия, при которой разрушение материала происходит по всему объему. Поверхностная эрозия характеризуется высокой скоростью гидролиза по сравнению со скоростью поглощения воды. Во время эрозии имплантата увеличивается пористость матрицы, что приводит к увеличению высвобождения АФС [7].

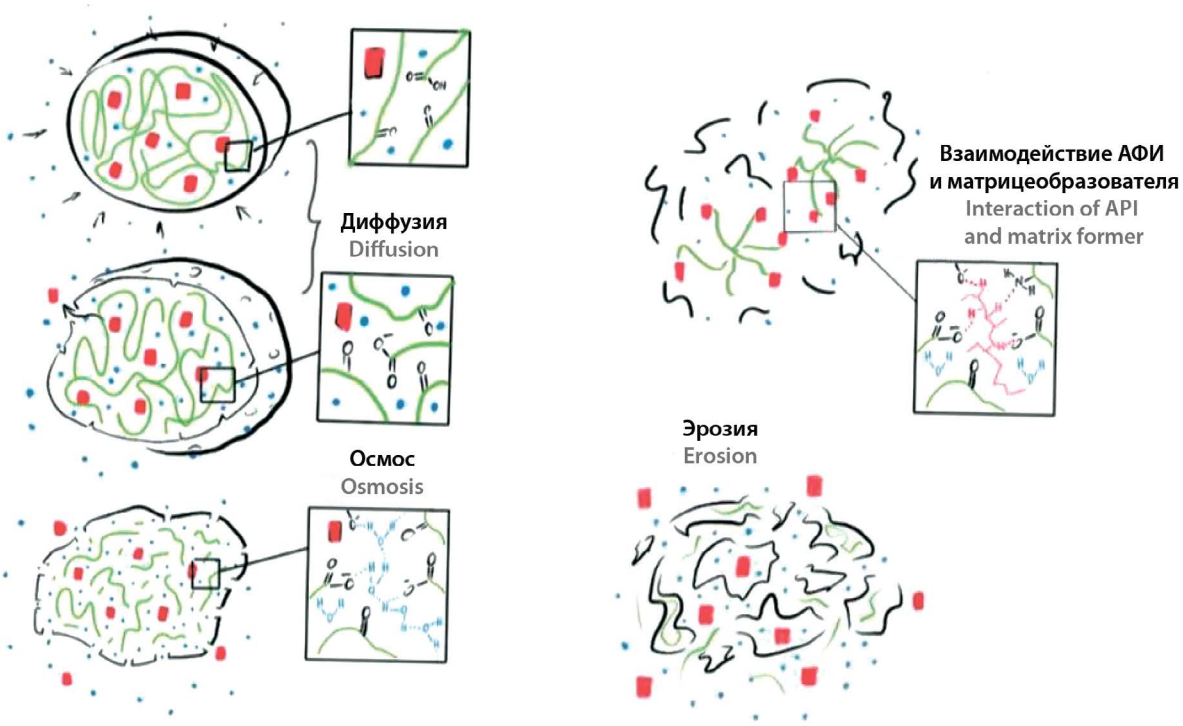


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Механизм высвобождения АФС из *ISFI* на основе PLGA [66]

Figure 1. Mechanism of API release from PLGA-based ISFIs [66]

На характер высвобождения АФС из *ISFI* значительную роль оказывает их микроструктура. Она определяется рядом факторов, включая тип полимера, свойства растворителя и ЛВ, степень смешиваемости полимера с растворителем, скорость фазовой инверсии, место введения и скорость биодеградации имплантата [6, 7, 30]. В статьях [6, 59] высвобождение АФС изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии. В установленные сроки имплантат извлекался из фосфатного буфера, подвергался лиофилизации, после чего изучали его микроструктуру. На третий день имплантат представлял собой центральную пору, образованную остатками N-метилпирролидона, и пористую оболочку PLGA. В ходе деградации имплантата в период с 3 по 30-й день произошло уменьшение толщины внешней оболочки с 500–600 мкм до 200–300 мкм, при этом размеры некоторых пор на 30-й день увеличились в 10 раз [7].

Для количественного описания профиля высвобождения АФС из полимерных систем широко применяются различные математические модели кинетики [60–64]. Наиболее распространенными являются модели нулевого и первого порядка, Хигучи, Корсмайера – Пеппаса и Хиксона – Кроуэлла.

Для моделирования высвобождения лекарственных средств из PLGA-матриц следует учитывать изменение молекулярной массы полимера в процессе гидролиза, развитие пористой структуры и изменение коэффициента диффузии АФС по мере деградации матрицы [63]. Классические кинетические модели не учитывают всех факторов, влияющих на профиль высвобождения АФС.

В связи с этим в последние годы разрабатываются более сложные механистические модели, позволяющие описывать совокупность процессов, происходящих в имплантатах на основе PLGA. В частности, в работе [63] предложена система уравнений, описывающая одновременно процессы деградации полимера, эрозии матрицы и высвобождения АФС. Модель продемонстрировала хорошее соответствие экспериментальным данным при исследовании высвобождения сиролимуса. В исследовании [5] была разработана интегрированная модель контролируемого высвобождения, основанная на модифицированном подходе Галлахера – Корригана. В данной модели учитываются различные механизмы высвобождения, включая первоначальный всплеск, диффузионно-контролируемую фазу, деградацию полимера и последующую диффузию из деградированной матрицы. Еще один подход представлен в работе [53], где предложена прогностическая механистическая модель «снизу вверх», описывающая ключевые процессы, определяющие высвобождение АФС из твер-

дых имплантатов на основе PLGA. В данной модели особое внимание уделяется процессу проникновения воды в структуру имплантата. В ходе экспериментов было показано, что внутри матрицы формируется фронт смачивания, который постепенно распространяется от поверхности цилиндрического имплантата к его центральной части. Этот фронт разделяет имплантат на увлажненную и сухую области и определяет дальнейшие процессы растворения АФС и деградации полимера [53].

Таким образом, кинетика высвобождения АФС из полимерных имплантатов определяется совокупностью взаимосвязанных процессов, включающих проникновение воды в структуру матрицы, гидролитическую деградацию полимера, формирование и развитие пористой структуры, а также диффузию лекарственного вещества через полимерную сеть [53].

Корреляция для ISFI in vivo – in vitro

В последние годы с все большим развитием методов оценки высвобождения из систем доставки лекарств и смещением научного фокуса с исследований на животных актуальной темой для изучения становится корреляция профилей высвобождения *in vitro – in vivo* (IVIVC). Наличие такой корреляции позволяет оценить биодоступность ЛП на основе результатов *in-vitro*-исследований и может в дальнейшем привести к снижению числа исследований на биологических объектах, что, безусловно, повысит этичность фармацевтической науки [65–67]. Традиционно для оценки IVIVC используется градация по уровням от «A» до «D», где «A» говорит о наличии прямой зависимости между профилем растворения или высвобождения *in vitro* и скоростью абсорбции препарата *in vivo* во времени; а «D» представляет качественную ранговую зависимость между данными *in vitro* и *in vivo*.

Концепция IVIVC, позволяющая использовать лабораторный тест растворения в качестве инструмента для прогнозирования поведения лекарственной формы в организме, является основой современных биофармацевтических методов. Однако для *ISFI* эта задача долгое время оставалась принципиально не решенной.

До 2024 года в литературе отсутствовали сообщения об успешной разработке IVIVC уровня A для данного класса систем, что признавалось мировым научным сообществом на всех уровнях – как исследователями, так и регуляторными органами [68]. Фундаментальная причина этого заключается в том, что механизмы высвобождения лекарственного вещества из *ISFI* характеризуются высокой сложностью: формирование полимерного депо, диффузия растворителя в окружающие ткани, встречный транспорт воды, фазовое разделение, набухание и гетерогенная деградация матрицы происходят одновременно и взаимосвязанно. Отмечается высокая зависимость от целого ряда факторов: от полимеров, составляющих матрицу имплантата, до способа и места имплантации и вида АФС [66].

Воспроизвести эту динамику в условиях теста *in vitro* – задача, требующая не эмпирического подбора условий, а системного переосмысления самой методологии тестирования [6]. Анализ литературы позволил выделить три исследования, представляющих различные методологические стратегии установления связи между результатами исследований *in vitro* и *in vivo* – от прямой линейной корреляции до полноценной IVIVC уровня A.

Liu с соавторами разработали *ISFI* на основе PLGA/NMP/триацетина для контролируемого высвобождения тимозина альфа-1 [69]. Ключевым отличием данной работы стало конструирование специального устройства для *in-vitro*-тестирования, имитирующего условия подкожного введения у крыс линии Sprague-Dawley. Авторы сообщили о достижении хорошей линейной корреляции между профилями высвобождения *in vitro* и *in vivo* с коэффициентом корреляции $r = 0.9899$. Важно отметить, что данная работа не претендовала на установление IVIVC уровня A в регуляторном понимании, однако она стала первым задокументированным свидетельством того, что при адекватном дизайне *in-vitro*-теста корреляция с поведением *in vivo* для *ISFI* принципиально достижима [69].

Наиболее системное и методологически выверенное исследование было проведено группой Wang и Burgess на модели *ISFI* с рисперидоном (коммерческий препарат Perseris®) [68, 59]. В предшествующей работе 2023 года авторы изучили влияние параметров PLGA (молекулярной массы, соотношения L/G, блок-структуры, концевых групп) на поведение имплантатов *in vitro* и *in vivo*. Было показано, что стандартный адаптерный метод USP 2 дает профили высвобождения, значительно отличающиеся от *in vivo* (кроличья модель) из-за различий в скорости фазового разделения и динамике набухания, что не позволило построить IVIVC [59].

В работе 2024 года та же группа провела системную идентификацию критических параметров *in-vitro*-метода. Исследователи сравнивали три подхода: адаптер на основе тефлона с водонерастворимой мембраной из стекловолокна, адаптер с водорастворимой ПВА-пленкой и собственноручно изготовленный адаптер на основе стеклянных пластин. Изучалось влияние четырех факторов: соотношения площади поверхности к объему, степени водопоглощения, скорости фазового разделения (измеряемой по высвобождению NMP за 24 часа) и механического давления на профили высвобождения [68]. Ключевым результатом стало доказательство того, что отношение площади поверхности к объему и водопоглощение являются наиболее критическими параметрами метода, в то время как скорость фазового разделения и механическое давление играют второстепенную подчиненную роль.

Адаптер на основе стеклянных пластин, позволявший формировать депо с биомиметическим соотношением поверхности к объему и адекватным водопоглощением, обеспечил получение биорелевантных профилей деградации и высвобождения. На его основе впервые в мире была разработана и валидирована IVIVC уровня А для *ISFI*. Модель строилась на данных по составам с варьированием молекулярной массы PLGA и прошла внешнюю валидацию на препарате сравнения Perseris®. Принципиальным ограничением стала невозможность включения в модель составов с разным соотношением L/G, что указывает на сохраняющиеся пробелы в понимании механизмов деградации *in vivo* [68].

Отдельного упоминания заслуживает работа Kempe с соавторами, которые применили неинвазивный метод спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) для мониторинга процесса формирования имплантата *in vitro* и *in vivo* в реальном времени [70]. Исследование показало, что динамика формирования депо существенно различается в условиях *in vitro* и *in vivo*: в живом организме процессы фазового разделения, диффузии растворителя и водопоглощения протекают иначе, что напрямую обусловливает расхождение профилей высвобождения. Эта работа не ставила целью построение количественной IVIVC, но внесла фундаментальный вклад в понимание того, почему такая корреляция трудно достижима.

Не менее информативны для понимания ограничений моделирования оказываются случаи, когда целенаправленная попытка достижения IVIVC завершалась неудачей.

В работе Wang с соавторами 2023 года было показано, что даже при использовании валидированного адаптерного метода USP 2, адекватно дискриминирующего составы по молекулярной массе и L/G в условиях *in vitro*, профили высвобождения *in vivo* (кроличья модель) значимо отличались по форме и длительности [59]. Причиной названы различия в скоростях фазового разделения и степени набухания имплантата *in vitro* и *in vivo*, что привело к несопоставимости кривых высвобождения и, как следствие, невозможности построения IVIVC [59]. Признаваемый авторами отрицательный результат исследования ценен тем, что он предшествовал успеху 2024 года и непосредственно указывает на направление оптимизации метода – необходимость биомиметической настройки ключевых параметров теста.

Таким образом, согласно проведенному анализу, можно выделить три группы факторов, препятствующих рутинной разработке IVIVC для *ISFI* (таблица 3).

Обсуждение

Проведенный анализ современного состояния исследований в области *in-situ*-формирующихся имплантатов (*ISFI*) позволяет заключить, что данная лекарственная форма переживает этап интенсивного методологического переосмысления. С одной стороны, накоплен значительный объем эмпирических данных о влиянии состава полимерной матрицы, природы растворителя и технологических параметров на кинетику высвобождения активных фармацевтических субстанций. С другой – именно переход от накопления разрозненных сведений к построению прогностических моделей, связывающих *in-vitro*- и *in-vivo*-данные, составляет центральную нерешенную задачу.

Установление корреляции *in vitro – in vivo* (IVIVC) уровня А для *ISFI* не является принципиально невозможным, но требует радикального пересмотра методологических подходов к тестированию *in vitro*. Как показано в пионерской работе Wang и соавт. (2024), успех достигается не путем эмпирического подбора какого-либо одного параметра, а через системную идентификацию и биомиметическую настройку критических параметров метода, прежде всего соотношения площади поверхности имплантата и объема среды и степени водопоглощения полимерной матрицы. Тот факт, что даже первая успешная IVIVC уровня А оказалась неспособна предсказать поведение систем с иным соотношением лактида и гликолида, убедительно свидетельствует о необходимости разработки не универсального, а группы методов, адаптированных к конкретным механизмам деградации полимера в биологической среде.

Анализ имеющегося арсенала методологических подходов демонстрирует, что ни один из существующих сегодня *in-vitro*-методов не является самодостаточным для полноценного прогнозирования *in-vivo*-поведения *ISFI*. Методы вращающейся корзинки и проточной ячейки обеспечивают хорошую воспроизводимость, но не учитывают диффузионные ограничения, характерные для биологических тканей. Диализные методы вносят дополнительный диффузионный барьер, искажающий реальную кинетику. Метод проб и разделения устраняет этот недостаток, однако интенсивное механическое воздействие, сопутствующее процедуре разделения, способно изменить микроструктуру матрицы и, как следствие, профиль высвобождения. Перспективным направлением, преодолевающим многие из перечисленных ограничений, представляется использование агарозных моделей, особенно в сочетании с методами оптической визуализации и ультразвукового мониторинга, которые позволяют в реальном времени отслеживать как формирование самого имплантата, так и пространственно-временное распределение активной фармацевтической субстанции.

Принципиально важным, хотя часто недооцениваемым фактором является выбор биорелевантной среды растворения. Состав и физико-химические свойства синовиальной, гингивальной, интерстициальной и других биологических жидкостей настолько различны, что попытка описать поведение *ISFI* в этих средах единой методологией представляется

Таблица 3. Факторы, препятствующие разработке IVIVC для ISFI

Table 3. Factors hindering the development of IVIVC for ISFIs

Факторы Factors	Комментарии Comments	Ссылки References
Сложность воспроизведения микроокружения Difficulty of Reproducing the Microenvironment	Данные ЭПР-спектроскопии убедительно демонстрируют, что процессы фазового разделения, диффузии растворителя и водопоглощения протекают в живых тканях принципиально иначе, чем в стандартных буферных средах. Биологическое микроокружение (интерстициальная жидкость ограниченного объема, механическое давление тканей, локальная воспалительная реакция) создает условия, которые невозможно имитировать простым погружением имплантата в большой объем среды EPR spectroscopy data convincingly demonstrate that the processes of phase separation, solvent diffusion and water absorption occur in living tissues fundamentally differently than in standard buffer media. The biological microenvironment (limited volume of interstitial fluid, tissue mechanical pressure, local inflammatory response) creates conditions that cannot be mimicked by simply immersing the implant in a large volume of medium	[70]
Критическая роль геометрических и массообменных параметров Critical Role of Geometric and Mass Transfer Parameters	Соотношение площади поверхности депо к объему среды и степень водопоглощения являются определяющими атрибутами *in-vitro*-метода, без биорелевантной настройки которых достижение корреляции невозможно. Традиционные методы (диализ, прямое впрыскивание, стандартные адаптеры) не обеспечивают физиологически релевантных значений этих параметров The ratio of the depot surface area to the medium volume and the degree of water absorption are the defining attributes of the *in vitro* method, without biorelevant adjustment of which achieving correlation is impossible. Traditional methods (dialysis, direct injection, standard adapters) do not provide physiologically relevant values of these parameters	[68]
Ограниченная применимость известных ранее моделей Limited Applicability of Previously Known Models	Биологическая среда оказывает дифференцированное влияние на различные механизмы деградации полимера, и универсальная модель требует учета более широкого спектра факторов. Даже успешная IVIVC уровня A не смогла предсказать поведение составов с другим соотношением L/G The biological environment has a differentiated effect on various polymer degradation mechanisms, and a universal model requires consideration of a wider range of factors. Even a successful Level A IVIVC could not predict the behavior of formulations with a different L/G ratio	[68]

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

заведомо несостоятельной. Добавление гиалуроновой кислоты, муцинов, альбумина и других биополимеров в среду растворения становится новым стандартом проведения тестов для подобных чувствительных систем доставки лекарств, без чего расхождение между *in-vitro*- и *in-vivo*-данными становится неизбежным.

Первый успех в достижении IVIVC уровня A, которого добилась американская группа ученых в 2024 году, знаменует переход от этапа признания проблемы к этапу ее системного решения. Он убедительно доказывает, что при определенной технической доработке метода лабораторный тест способен служить надежной моделью поведения *ISFI* в живом организме. Дальнейшее развитие этого направления будет способствовать не только углублению фундаментальных представлений о механизмах высвобождения лекарственных веществ из полимерных матриц, но и решению прикладных задач – сокращению числа исследований на животных, ускорению фармацевтической разработки и повышению качества и безопасности лекарственных препаратов на основе *ISFI*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ подтверждает, что *in-situ*-имплантаты (*ISFI*) являются клинически востребованной, но методологически сложной современной системой доставки лекарств. Главным препятствием для их рутинной фармацевтической разработки остается отсутствие стандартизированных прогностических моделей *in vitro*.

В ходе проведенного литературного обзора на основе систематизации данных сформулированы три требования к валидному *in-vitro*-тесту для ISFI: использование биорелевантной среды, имитирующей микроокружение места имплантации; обеспечение физиологического соотношения поверхности имплантата к объему среды; контроль степени водопоглощения полимерной матрицы как ключевого параметра, определяющего кинетику деградации. Выполнение этих требований, продемонстрированное в работе Wang и соавт. (2024), впервые позволило достичь IVIVC уровня A для данного класса систем.

С практической точки зрения наибольшей прогностической ценностью обладают комбинированные подходы, интегрирующие агарозные модели с методами оптической и ультразвуковой визуализации. Они позволяют не только количественно оценить высвобождение АФС, но и неинвазивно отслеживать структурную эволюцию имплантата. Однако даже эти методы остаются недостаточными для полной замены исследований *in vivo*, если не учитывать специфику биорелевантной среды, определяемую локализацией имплантации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сахарова П. С., Бахрушина Е. О., Краснюк И. И. In vitro моделирование для оценки биофармацевтических показателей фазозависимых стоматологических in situ имплантатов. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2022;24(8):31–35. https://doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-8-31-35
2. Бахрушина Е. О., Демина Н. Б. Имплантаты как таргетные системы доставки лекарственных веществ (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2022;56(3):42–49. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-3-42-49
3. Сахарова П. С., Пыжов В. С., Бахрушина Е. О. Поли(*l*-лактид-*со*-гликолид) и шеллак в разработке фазочувствительных *in situ* имплантатов. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):51–57. https://doi.org/10.55531/2072-2354.2022.22.4.51-57
4. Kamaly N., Yameen B., Wu J., Farokhzad O. C. Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: mechanisms of controlling drug release. *Chemical Reviews*. 2016;116(4):2602–2663. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00346
5. Shafiee K., Bazraei S., Mashak A., Mobedi H. The Impact of Temperature on the Formation, Release Mechanism, and Degradation of PLGA-based In-Situ Forming Implants. *Journal of Polymers and the Environment*. 2024;32(8):3591–3608. https://doi.org/10.1007/s10924-023-03173-6
6. Wang X., Burgess D. J. Drug release from in situ forming implants and advances in release testing. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;178:113912. https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113912
7. Parent M., Nouvel C., Koerber M., Sapin A., Maincent P., Boudier A. PLGA in situ implants formed by phase inversion: Critical physicochemical parameters to modulate drug release. *Journal of Controlled Release*. 2013;172(1):292–304. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.08.024
8. Browne D. C., Kieselmann S. Low-level drug release-rate testing of ocular implants using USP Apparatus 4 dissolution and HPLC end analysis. *Dissolution Technologies*. 2010;17(1):12–14.
9. He P., Xu S., Guo Z., Yuan P., Liu Y., Chen Y., Zhang T., Que Y., Hu Y. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of PLGA-based doxorubicin-loaded implants for tumor therapy. *Drug Delivery*. 2022;29(1):478–488. https://doi.org/10.1080/10717544.2022.2032878
10. Tomic I., Vidis-Millward A., Mueller-Zsigmondy M., Cardot J.-M. Setting accelerated dissolution test for PLGA microspheres containing peptide, investigation of critical parameters affecting drug release rate and mechanism. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016;505(1–2):42–51. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.03.048
11. Zhang Q., Fassihi R. Release rate determination from in situ gel forming PLGA implant: a novel 'shape-controlled basket in tube' method. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2020;72(8):1038–1048. https://doi.org/10.1111/jphp.13277
12. Modi S., Anderson B. D. Determination of drug release kinetics from nanoparticles: overcoming pitfalls of the dynamic dialysis method. *Molecular Pharmaceutics*. 2013;10(8):3076–3089. https://doi.org/10.1021/mp400154a
13. Yuan Z., Gu X. Preparation, characterization, and in vivo study of rhein-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for oral delivery. *Drug Design, Development and Therapy*. 2015;9:2301–2309. https://doi.org/10.2147/DDDT.S81320
14. Bohrey S., Chourasiya V., Pandey A. Polymeric nanoparticles containing diazepam: preparation, optimization, characterization, in-vitro drug release and release kinetic study. *Nano Convergence*. 2016;3(1):3. https://doi.org/10.1186/s40580-016-0061-2
15. Alai M., Lin W. J. Application of nanoparticles for oral delivery of acid-labile lansoprazole in the treatment of gastric ulcer: in vitro and in vivo evaluations. *International Journal of Nanomedicine*. 2015;10(1):4029–4041. https://doi.org/10.2147/IJN.S82366
16. Chourasiya V., Bohrey S., Pandey A. Formulation, optimization, characterization and in-vitro drug release kinetics of atenolol loaded PLGA nanoparticles using 3^3 factorial design for oral delivery. *Materials Discovery*. 2016;5:1–13. https://doi.org/10.1016/j.md.2016.12.002
17. Zhou Y., He C., Chen K., Ni J., Cai Y., Guo X., Wu X. Y. A new method for evaluating actual drug release kinetics of nanoparticles inside dialysis devices via numerical deconvolution. *Journal of Controlled Release*. 2016;243:11–20. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.031
18. Xu X., Khan M. A., Burgess D. J. A two-stage reverse dialysis in vitro dissolution testing method for passive targeted liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012;426(1–2):211–218. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.01.030
19. D'Souza S. S., DeLuca P. P. Methods to assess in vitro drug release from injectable polymeric particulate systems. *Pharmaceutical Research*. 2006;23(3):460–474. https://doi.org/10.1007/s11095-005-9397-8
20. Weng J., Tong H. H. Y., Chow S. F. In vitro release study of the polymeric drug nanoparticles: development and validation of a novel method. *Pharmaceutics*. 2020;12(8):732. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080732

21. Wallace S. J., Li J., Nation R. L., Boyd B. J. Drug release from nanomedicines: selection of appropriate encapsulation and release methodology. *Drug Delivery and Translational Research*. 2012;2:284–292. https://doi.org/10.1007/s13346-012-0064-4
22. Gu B., Papadimitrakopoulos F., Burgess D. J. PLGA microsphere/PVA hydrogel coatings suppress the foreign body reaction for 6 months. *Journal of Controlled Release*. 2018;289:35–43. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.09.021
23. Danhier F., Lecouturier N., Vroman B., Jérôme C., Marchand-Brynaert J., Feron O., Préat V. Paclitaxel-loaded PEGylated PLGA-based nanoparticles: in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Controlled Release*. 2009;133(1):11–17. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.09.086
24. Misra R., Acharya S., Dilnawaz F., Sahoo S. K. Sustained antibacterial activity of doxycycline-loaded poly(D,L-lactide-co-glycolide) and poly(ε-caprolactone) nanoparticles. *Nanomedicine*. 2009;4(5):519–530. https://doi.org/10.2217/nnm.09.28
25. O'Donnell A., Moollan A., Baneham S., Ozgul M., Pabari R. M., Cox D., Kirby B. P., Ramtoola Z. Intranasal and intravenous administration of octa-arginine modified poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles facilitates central nervous system delivery of loperamide. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015;67(4):525–536. https://doi.org/10.1111/jphp.12347
26. Ruozi B., Belletti D., Sharma H. S., Sharma A., Muresanu D. F., Mössler H., Forni F., Vandelli M. A., Tosi G. PLGA Nanoparticles Loaded Cerebrolysin: Studies on Their Preparation and Investigation of the Effect of Storage and Serum Stability with Reference to Traumatic Brain Injury. *Molecular Neurobiology*. 2015;52(2):899–912. https://doi.org/10.1007/s12035-015-9235-x
27. Zlomke C., Barth M., Mäder K. Polymer degradation induced drug precipitation in PLGA implants – Why less is sometimes more. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2019;139:142–152. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.03.016
28. Schoubben A., Blasi P., Deluca P. P. Effect of agitation regimen on the in vitro release of leuprolide from poly(lactic-co-glycolic) acid microparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;101(3):1212–1220. https://doi.org/10.1002/jps.23029
29. Trang T. T. T., Mariatti M., Badrul H. Y., Masakazu K., Nguyen X. T. T., Zuratul A. A. H. Drug release profile study of gentamicin encapsulated poly(lactic acid) microspheres for drug delivery. *Materials Today: Proceedings*. 2019;17:836–845. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.370
30. Do M. P., Neut C., Metz H., Delcourt E., Mäder K., Siepmann J., Siepmann F. In-situ forming composite implants for periodontitis treatment: How the formulation determines system performance. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;486(1–2):38–51. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.03.026
31. Fang Y., Zhang N., Li Q., Chen J., Xiong S., Pan W. Characterizing the release mechanism of donepezil-loaded PLGA microspheres in vitro and in vivo. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019;51:430–437. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.029
32. 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. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.107067
33. Bakhru S. H., Furtado S., Morello A. P., Mathiowitz E. Oral delivery of proteins by biodegradable nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(6):811–821. https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.04.006
34. Li Z., Mu H., Larsen S. W., Jensen H., Østergaard J. Initial Leuprolide Acetate Release from Poly(d,l-lactide-co-glycolide) in Situ Forming Implants as Studied by Ultraviolet-Visible Imaging. *Molecular Pharmaceutics*. 2020;17(12):4522–4532. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00625
35. Li Z., Mu H., Weng Larsen S., Jensen H., Østergaard J. An in vitro gel-based system for characterizing and predicting the long-term performance of PLGA in situ forming implants. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;609:121183. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121183
36. Patel R. B., Solorio L., Wu H., Krupka T., Exner A. A. Effect of injection site on in situ implant formation and drug release in vivo. *Journal of Controlled Release*. 2010;147(3):350–358. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.08.020
37. Solorio L., Babin B. M., Patel R. B., Mach J., Azar N., Exner A. A. Noninvasive characterization of in situ forming implants using diagnostic ultrasound. *Journal of Controlled Release*. 2010;143(2):183–190. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.01.001
38. Sun Y., Jensen H., Petersen N. J., Larsen S. W., Østergaard J. Concomitant monitoring of implant formation and drug release of in situ forming poly(lactide-co-glycolide acid) implants in a hydrogel matrix mimicking the subcutis using UV-vis imaging. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018;150:95–106. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.065
39. Bock F., Bøtker J. P., Larsen S. W., Lu X., Østergaard J. Methodological Considerations in Development of UV Imaging for Characterization of Intra-Tumoral Injectables Using cAMP as a Model Substance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(7):3599. https://doi.org/10.3390/ijms23073599
40. Manaspon C., Hernandez C., Nittayacharn P., Jeganathan S., Nasongkla N., Exner A. A. Increasing Distribution of Drugs Released from In Situ Forming PLGA Implants Using Therapeutic Ultrasound. *Annals of Biomedical Engineering*. 2017;45(12):2879–2887. https://doi.org/10.1007/s10439-017-1926-1
41. Cooke A. F., Dowson D., Wright V. The rheology of synovial fluid and some potential synthetic lubricants for degenerate synovial joints. *Engineering in Medicine*. 1978;7(2):66–72. https://doi.org/10.1243/EMED_JOUR_1978_007_021_02
42. Hlaváček M. The role of synovial fluid filtration by cartilage in lubrication of synovial joints – I. Mixture model of synovial fluid. *Journal of Biomechanics*. 1993;26(10):1145–1150. https://doi.org/10.1016/0021-9290(93)90062-J
43. Mazzucco D., McKinley G., Scott R. D., Spector M. Rheology of joint fluid in total knee arthroplasty patients. *Journal of Orthopaedic Research*. 2002;20(6):1157–1163. https://doi.org/10.1016/S0736-0266(02)00050-5
44. Radice S., Yao J., Babauta J., Laurent M. P., Wimmer M. A. The effect of hyaluronic acid on the corrosion of an orthopedic CoCrMo-alloy in simulated inflammatory conditions. *Materialia*. 2019;6:100348. https://doi.org/10.1016/j.mtla.2019.100348

45. Yan Y., Neville A., Dowson D. Tribo-corrosion properties of CoCrMo alloy in simulated body fluids. *Tribology International*. 2007;40(8):1246–1252.
46. Cooke A. F., Dowson D., Wright V. The influence of the composition of synovial fluid on the friction of artificial joints. *Engineering in Medicine*. 1978;7(2):73–77.
47. Seredin P., Goloshchapov D., Ippolitov Y., Vongsvivut (Pimm) J. Comparative analysis of dentine and gingival fluid molecular composition and protein conformations during development of dentine caries: A pilot study. *Vibrational Spectroscopy*. 2020;108:103058. https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103058
48. Subbarao K. C., Nattuthurai G. S., Sundararajan S. K., Sujith I., Joseph J., Syedshah Y. P. Gingival crevicular fluid: An overview. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2019;11(Suppl 2):S135–S139. https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_56_19
49. Brookes Z. L. S., Belfield L. A., Ashworth A., Casas-Agustench P., Gutteridge I., Needham I., Proudfoot A., Tee S. A. A systematic review of the use of gingival crevicular fluid for the diagnosis of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015;42(12):1075–1086.
50. Bishop P. N. Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2000;19(3):323–344. https://doi.org/10.1016/S1350-9462(99)00016-6
51. Del Amo E. M., Urtti A. Rabbit as an animal model for intravitreal pharmacokinetics: Clinical predictability and quality of the published data. *Experimental Eye Research*. 2015;137:111–124. https://doi.org/10.1016/j.exer.2015.05.003
52. Wiig H., Swartz M. A. Interstitial fluid and lymph formation and transport: physiological regulation and roles in inflammation and cancer. *Physiological Reviews*. 2012;92(3):1005–1060. https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2011
53. Mittapelly N., Djehizian A., Telaprolu K. C., McNally K., Puttrevu S. K., Arjmandi-Tash O., Polak S., Bois F. Y. Mechanistic model for drug release from PLGA-based biodegradable implants for *in vitro* release testing: development and validation. *ACS Applied Bio Materials*. 2024;7(11):7453–7465. https://doi.org/10.1021/acsabm.4c01054
54. Tiffany J. M. The normal tear film. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1994;350:1–9.
55. Van Haeringen N. J. Clinical biochemistry of tears. *Survey of Ophthalmology*. 1981;26(2):84–96. https://doi.org/10.1016/0039-6257(81)90145-4
56. Chen G., Hou R., Hao Y., Chen Y., Chen H. Recent advances in ophthalmic implants: a review of materials, fabrication methods, and drug delivery strategies. *Journal of Controlled Release*. 2021;333:202–221.
57. Helmlinger G., Yuan F., Dellian M., Jain R. K. Interstitial pH and pO_2 gradients in solid tumors *in vivo*: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nature Medicine*. 1997;3(2):177–182. https://doi.org/10.1038/nm0297-177
58. Ahmed T. A., Ibrahim H. M., Samy A. M., Kaseem A., Nutan M. T. H., Hussain M. D. Biodegradable injectable in situ implants and microparticles for sustained release of montelukast: in vitro release, pharmacokinetics, and stability. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15(3):772–780. https://doi.org/10.1208/s12249-014-0101-3
59. Wang X., Bao Q., Wang R., Kwok O., Maurus K., Wang Y., Qin B., Burgess D. J. In situ forming risperidone implants: Effect of PLGA attributes on product performance. *Journal of Controlled Release*. 2023;361:777–791. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.08.029
60. Mady O. Y., Donia A. A. A new mathematic method for calculation of peppas-sahlin model constants and interpret the results in relation to zero order, higuhi, korsmeyer-peppas models and microcapsule structure image. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2015;4:2199–2246.
61. Siepmann J., Peppas N. A. Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011;418(1):6–12. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.03.051
62. Ramteke K. H., Dighe P. A., Kharat A. R., Patil S. V. Mathematical models of drug dissolution: a review. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*. 2014;5(3):388–396.
63. Zhu X., Braatz R. D. A mechanistic model for drug release in PLGA biodegradable stent coatings coupled with polymer degradation and erosion. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2015;103(7):2269–2279. https://doi.org/10.1002/jbm.a.35357
64. Jafari M., Kaffashi B. Mathematical kinetic modeling on isoniazid release from Dex-HEMA-PNIPAAm nanogels. *Nanomedicine Research Journal*. 2016;1(2):90–96. https://doi.org/10.7508/nmrj.2016.02.005
65. Emami J. In vitro – in vivo correlation: from theory to applications. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2006;9(2):169–189.
66. Bakhrushina E. O., Sakharova P. S., Konogorova P. D., Pyzhov V. S., Kosenkova S. I., Bardakov A. I., Zubareva I. M., Krasnyuk I. I., Krasnyuk Jr. I. I. Burst Release from In Situ Forming PLGA-Based Implants: 12 Effectors and Ways of Correction. *Pharmaceutics*. 2024;16(1):115. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010115
67. Yang S., Hu M., Liu W., Hou N., Yin K., Shen C., Shang Q. Fabrication of PLGA *in situ* forming implants and study on their correlation of *in vitro* release profiles with *in vivo* performances. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2021;32(8):994–1008. https://doi.org/10.1080/09205063.2021.1889857
68. Wang X., Roy M., Wang R., Kwok O., Wang Y., Wang Y., Qin B., Burgess D. J. Towards in vitro – In vivo correlation models for in situ forming drug implants. *Journal of Controlled Release*. 2024;372:648–660. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.06.058
69. Liu Q., Zhang H., Zhou G., Xie S., Zou H., Yu Y., Li G., Sun D., Zhang G., Lu Y., Zhong Y. In vitro and in vivo study of thymosin alpha1 biodegradable in situ forming poly(lactide-co-glycolide) implants. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010;397(1–2):122–129. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.07.015
70. Kempe S., Metz H., Mäder K. Do in situ forming PLG/NMP implants behave similar in vitro and in vivo? A non-invasive and quantitative EPR investigation on the mechanisms of the implant formation process. *Journal of Controlled Release*. 2008;130(3):220–225. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.06.006

REFERENCES

1. Sakharova P. S., Bakhrushina E. O., Krasnyuk I. I. In vitro modeling for the evaluation of biopharmaceutical parameters of phase inversion-based dental in situ implants. *Medical & pharmaceutical journal "Pulse"*. 2022;24(8):31–35. (In Russ.) https://doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-8-31-35

2. Bakhrushina E. O., Demina N. B. Implants as targeted drug delivery systems (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(3):42–49. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-3-42-49
3. Sakharova P. S., Pyzhov V. S., Bakhrushina E. O. Poly(*l*-lactide-*co*-glycolide) and shellac in the development of phase-sensitive *in situ* implants. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2022;22(4):51–57. (In Russ.) https://doi.org/10.55531/2072-2354.2022.22.4.51-57
4. Kamaly N., Yameen B., Wu J., Farokhzad O. C. Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: mechanisms of controlling drug release. *Chemical Reviews*. 2016;116(4):2602–2663. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00346
5. Shafiee K., Bazraei S., Mashak A., Mobedi H. The Impact of Temperature on the Formation, Release Mechanism, and Degradation of PLGA-based In-Situ Forming Implants. *Journal of Polymers and the Environment*. 2024;32(8):3591–3608. https://doi.org/10.1007/s10924-023-03173-6
6. Wang X., Burgess D. J. Drug release from in situ forming implants and advances in release testing. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;178:113912. https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113912
7. Parent M., Nouvel C., Koerber M., Sapin A., Maincent P., Boudier A. PLGA in situ implants formed by phase inversion: Critical physicochemical parameters to modulate drug release. *Journal of Controlled Release*. 2013;172(1):292–304. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.08.024
8. Browne D. C., Kieselmann S. Low-level drug release-rate testing of ocular implants using USP Apparatus 4 dissolution and HPLC end analysis. *Dissolution Technologies*. 2010;17(1):12–14.
9. He P., Xu S., Guo Z., Yuan P., Liu Y., Chen Y., Zhang T., Que Y., Hu Y. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of PLGA-based doxorubicin-loaded implants for tumor therapy. *Drug Delivery*. 2022;29(1):478–488. https://doi.org/10.1080/10717544.2022.2032878
10. Tomic I., Vidis-Millward A., Mueller-Zsigmondy M., Cardot J.-M. Setting accelerated dissolution test for PLGA microspheres containing peptide, investigation of critical parameters affecting drug release rate and mechanism. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016;505(1–2):42–51. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.03.048
11. Zhang Q., Fassihi R. Release rate determination from in situ gel forming PLGA implant: a novel 'shape-controlled basket in tube' method. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2020;72(8):1038–1048. https://doi.org/10.1111/jphp.13277
12. Modi S., Anderson B. D. Determination of drug release kinetics from nanoparticles: overcoming pitfalls of the dynamic dialysis method. *Molecular Pharmaceutics*. 2013;10(8):3076–3089. https://doi.org/10.1021/mp400154a
13. Yuan Z., Gu X. Preparation, characterization, and in vivo study of rhein-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for oral delivery. *Drug Design, Development and Therapy*. 2015;9:2301–2309. https://doi.org/10.2147/DDDT.S81320
14. Bohrey S., Chourasiya V., Pandey A. Polymeric nanoparticles containing diazepam: preparation, optimization, characterization, in-vitro drug release and release kinetic study. *Nano Convergence*. 2016;3(1):3. https://doi.org/10.1186/s40580-016-0061-2
15. Alai M., Lin W. J. Application of nanoparticles for oral delivery of acid-labile lansoprazole in the treatment of gastric ulcer: in vitro and in vivo evaluations. *International Journal of Nanomedicine*. 2015;10(1):4029–4041. https://doi.org/10.2147/IJN.S82366
16. Chourasiya V., Bohrey S., Pandey A. Formulation, optimization, characterization and in-vitro drug release kinetics of atenolol loaded PLGA nanoparticles using 3^3 factorial design for oral delivery. *Materials Discovery*. 2016;5:1–13. https://doi.org/10.1016/j.md.2016.12.002
17. Zhou Y., He C., Chen K., Ni J., Cai Y., Guo X., Wu X. Y. A new method for evaluating actual drug release kinetics of nanoparticles inside dialysis devices via numerical deconvolution. *Journal of Controlled Release*. 2016;243:11–20. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.031
18. Xu X., Khan M. A., Burgess D. J. A two-stage reverse dialysis in vitro dissolution testing method for passive targeted liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012;426(1–2):211–218. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.01.030
19. D'Souza S. S., DeLuca P. P. Methods to assess in vitro drug release from injectable polymeric particulate systems. *Pharmaceutical Research*. 2006;23(3):460–474. https://doi.org/10.1007/s11095-005-9397-8
20. Weng J., Tong H. H. Y., Chow S. F. In vitro release study of the polymeric drug nanoparticles: development and validation of a novel method. *Pharmaceutics*. 2020;12(8):732. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080732
21. Wallace S. J., Li J., Nation R. L., Boyd B. J. Drug release from nanomedicines: selection of appropriate encapsulation and release methodology. *Drug Delivery and Translational Research*. 2012;2:284–292. https://doi.org/10.1007/s13346-012-0064-4
22. Gu B., Papadimitrakopoulos F., Burgess D. J. PLGA microsphere/PVA hydrogel coatings suppress the foreign body reaction for 6 months. *Journal of Controlled Release*. 2018;289:35–43. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.09.021
23. Danhier F., Lecouturier N., Vroman B., Jérôme C., Marchand-Brynaert J., Feron O., Préat V. Paclitaxel-loaded PEGylated PLGA-based nanoparticles: in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Controlled Release*. 2009;133(1):11–17. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.09.086
24. Misra R., Acharya S., Dilnawaz F., Sahoo S. K. Sustained antibacterial activity of doxycycline-loaded poly(D,L-lactide-co-glycolide) and poly(ε-caprolactone) nanoparticles. *Nanomedicine*. 2009;4(5):519–530. https://doi.org/10.2217/nnm.09.28
25. O'Donnell A., Moollan A., Baneham S., Ozgul M., Pabari R. M., Cox D., Kirby B. P., Ramtoola Z. Intranasal and intravenous administration of octa-arginine modified poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles facilitates central nervous system delivery of loperamide. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015;67(4):525–536. https://doi.org/10.1111/jphp.12347
26. Ruozi B., Belletti D., Sharma H. S., Sharma A., Muresanu D. F., Mössler H., Forni F., Vandelli M. A., Tosi G. PLGA Nanoparticles Loaded Cerebrolysin: Studies on Their Preparation and Investigation of the Effect of Storage and Serum Stability with Reference to Traumatic Brain Injury. *Molecular Neurobiology*. 2015;52(2):899–912. https://doi.org/10.1007/s12035-015-9235-x

27. Zlomke C., Barth M., Mäder K. Polymer degradation induced drug precipitation in PLGA implants – Why less is sometimes more. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2019;139:142–152. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.03.016
28. Schoubben A., Blasi P., Deluca P. P. Effect of agitation regimen on the in vitro release of leuprolide from poly(lactic-co-glycolic) acid microparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;101(3):1212–1220. https://doi.org/10.1002/jps.23029
29. Trang T. T. T., Mariatti M., Badrul H. Y., Masakazu K., Nguyen X. T. T., Zuratul A. A. H. Drug release profile study of gentamicin encapsulated poly(lactic acid) microspheres for drug delivery. *Materials Today: Proceedings*. 2019;17:836–845. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.370
30. Do M. P., Neut C., Metz H., Delcourt E., Mäder K., Siepmann J., Siepmann F. In-situ forming composite implants for periodontitis treatment: How the formulation determines system performance. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;486(1–2):38–51. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.03.026
31. Fang Y., Zhang N., Li Q., Chen J., Xiong S., Pan W. Characterizing the release mechanism of donepezil-loaded PLGA microspheres in vitro and in vivo. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019;51:430–437. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.029
32. 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. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.107067
33. Bakhru S. H., Furtado S., Morello A. P., Mathiowitz E. Oral delivery of proteins by biodegradable nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65(6):811–821. https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.04.006
34. Li Z., Mu H., Larsen S. W., Jensen H., Østergaard J. Initial Leuprolide Acetate Release from Poly(d,l-lactide-co-glycolide) in Situ Forming Implants as Studied by Ultraviolet-Visible Imaging. *Molecular Pharmaceutics*. 2020;17(12):4522–4532. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00625
35. Li Z., Mu H., Weng Larsen S., Jensen H., Østergaard J. An in vitro gel-based system for characterizing and predicting the long-term performance of PLGA in situ forming implants. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;609:121183. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121183
36. Patel R. B., Solorio L., Wu H., Krupka T., Exner A. A. Effect of injection site on in situ implant formation and drug release in vivo. *Journal of Controlled Release*. 2010;147(3):350–358. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.08.020
37. Solorio L., Babin B. M., Patel R. B., Mach J., Azar N., Exner A. A. Noninvasive characterization of in situ forming implants using diagnostic ultrasound. *Journal of Controlled Release*. 2010;143(2):183–190. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.01.001
38. Sun Y., Jensen H., Petersen N. J., Larsen S. W., Østergaard J. Concomitant monitoring of implant formation and drug release of in situ forming poly(lactide-co-glycolide acid) implants in a hydrogel matrix mimicking the subcutis using UV-vis imaging. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018;150:95–106. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.065
39. Bock F., Bøtker J. P., Larsen S. W., Lu X., Østergaard J. Methodological Considerations in Development of UV Imaging for Characterization of Intra-Tumoral Injectables Using cAMP as a Model Substance. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(7):3599. https://doi.org/10.3390/ijms23073599
40. Manaspon C., Hernandez C., Nittayacharn P., Jeganathan S., Nasongkla N., Exner A. A. Increasing Distribution of Drugs Released from In Situ Forming PLGA Implants Using Therapeutic Ultrasound. *Annals of Biomedical Engineering*. 2017;45(12):2879–2887. https://doi.org/10.1007/s10439-017-1926-1
41. Cooke A. F., Dowson D., Wright V. The rheology of synovial fluid and some potential synthetic lubricants for degenerate synovial joints. *Engineering in Medicine*. 1978;7(2):66–72. https://doi.org/10.1243/EMED_JOUR_1978_007_021_02
42. Hlaváček M. The role of synovial fluid filtration by cartilage in lubrication of synovial joints – I. Mixture model of synovial fluid. *Journal of Biomechanics*. 1993;26(10):1145–1150. https://doi.org/10.1016/0021-9290(93)90062-J
43. Mazzucco D., McKinley G., Scott R. D., Spector M. Rheology of joint fluid in total knee arthroplasty patients. *Journal of Orthopaedic Research*. 2002;20(6):1157–1163. https://doi.org/10.1016/S0736-0266(02)00050-5
44. Radice S., Yao J., Babauta J., Laurent M. P., Wimmer M. A. The effect of hyaluronic acid on the corrosion of an orthopedic CoCrMo-alloy in simulated inflammatory conditions. *Materialia*. 2019;6:100348. https://doi.org/10.1016/j.mtla.2019.100348
45. Yan Y., Neville A., Dowson D. Tribo-corrosion properties of CoCrMo alloy in simulated body fluids. *Tribology International*. 2007;40(8):1246–1252.
46. Cooke A. F., Dowson D., Wright V. The influence of the composition of synovial fluid on the friction of artificial joints. *Engineering in Medicine*. 1978;7(2):73–77.
47. Seredin P., Goloshchapov D., Ippolitov Y., Vongsvivut (Pimm) J. Comparative analysis of dentine and gingival fluid molecular composition and protein conformations during development of dentine caries: A pilot study. *Vibrational Spectroscopy*. 2020;108:103058. https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103058
48. Subbarao K. C., Nattuthurai G. S., Sundararajan S. K., Sujith I., Joseph J., Syedshah Y. P. Gingival crevicular fluid: An overview. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2019;11(Suppl 2):S135–S139. https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_56_19
49. Brookes Z. L. S., Belfield L. A., Ashworth A., Casas-Agustench P., Gutteridge I., Needham I., Proudfoot A., Tee S. A. A systematic review of the use of gingival crevicular fluid for the diagnosis of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015;42(12):1075–1086.
50. Bishop P. N. Structural macromolecules and supramolecular organisation of the vitreous gel. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2000;19(3):323–344. https://doi.org/10.1016/S1350-9462(99)00016-6
51. Del Amo E. M., Urtti A. Rabbit as an animal model for intravitreal pharmacokinetics: Clinical predictability and quality of the published data. *Experimental Eye Research*. 2015;137:111–124. https://doi.org/10.1016/j.exer.2015.05.003
52. Wiig H., Swartz M. A. Interstitial fluid and lymph formation and transport: physiological regulation and roles in inflammation and cancer. *Physiological Reviews*. 2012;92(3):1005–1060. https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2011

53. Mittapelly N., Djehizian A., Telaprolu K. C., McNally K., Puttrevu S. K., Arjmandi-Tash O., Polak S., Bois F. Y. Mechanistic model for drug release from PLGA-based biodegradable implants for *in vitro* release testing: development and validation. *ACS Applied Bio Materials*. 2024;7(11):7453–7465. https://doi.org/10.1021/acsabm.4c01054
54. Tiffany J. M. The normal tear film. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1994;350:1–9.
55. Van Haeringen N. J. Clinical biochemistry of tears. *Survey of Ophthalmology*. 1981;26(2):84–96. https://doi.org/10.1016/0039-6257(81)90145-4
56. Chen G., Hou R., Hao Y., Chen Y., Chen H. Recent advances in ophthalmic implants: a review of materials, fabrication methods, and drug delivery strategies. *Journal of Controlled Release*. 2021;333:202–221.
57. Helmlinger G., Yuan F., Dellian M., Jain R. K. Interstitial pH and pO_2 gradients in solid tumors *in vivo*: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nature Medicine*. 1997;3(2):177–182. https://doi.org/10.1038/nm0297-177
58. Ahmed T. A., Ibrahim H. M., Samy A. M., Kaseem A., Nutan M. T. H., Hussain M. D. Biodegradable injectable in situ implants and microparticles for sustained release of montelukast: in vitro release, pharmacokinetics, and stability. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15(3):772–780. https://doi.org/10.1208/s12249-014-0101-3
59. Wang X., Bao Q., Wang R., Kwok O., Maurus K., Wang Y., Qin B., Burgess D. J. In situ forming risperidone implants: Effect of PLGA attributes on product performance. *Journal of Controlled Release*. 2023;361:777–791. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.08.029
60. Mady O. Y., Donia A. A. A new mathematic method for calculation of peppas-sahlin model constants and interpret the results in relation to zero order, higuhi, korsmeyer-peppas models and microcapsule structure image. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2015;4:2199–2246.
61. Siepmann J., Peppas N. A. Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011;418(1):6–12. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.03.051
62. Ramteke K. H., Dighe P. A., Kharat A. R., Patil S. V. Mathematical models of drug dissolution: a review. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*. 2014;5(3):388–396.
63. Zhu X., Braatz R. D. A mechanistic model for drug release in PLGA biodegradable stent coatings coupled with polymer degradation and erosion. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2015;103(7):2269–2279. https://doi.org/10.1002/jbm.a.35357
64. Jafari M., Kaffashi B. Mathematical kinetic modeling on isoniazid release from Dex-HEMA-PNIPAAm nanogels. *Nanomedicine Research Journal*. 2016;1(2):90–96. https://doi.org/10.7508/nmrj.2016.02.005
65. Emami J. In vitro – in vivo correlation: from theory to applications. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2006;9(2):169–189.
66. Bakhrushina E. O., Sakharova P. S., Konogorova P. D., Pyzhov V. S., Kosenkova S. I., Bardakov A. I., Zubareva I. M., Krasnyuk I. I., Krasnyuk Jr. I. I. Burst Release from In Situ Forming PLGA-Based Implants: 12 Effectors and Ways of Correction. *Pharmaceutics*. 2024;16(1):115. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010115
67. Yang S., Hu M., Liu W., Hou N., Yin K., Shen C., Shang Q. Fabrication of PLGA *in situ* forming implants and study on their correlation of *in vitro* release profiles with *in vivo* performances. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2021;32(8):994–1008. https://doi.org/10.1080/09205063.2021.1889857
68. Wang X., Roy M., Wang R., Kwok O., Wang Y., Wang Y., Qin B., Burgess D. J. Towards in vitro – In vivo correlation models for in situ forming drug implants. *Journal of Controlled Release*. 2024;372:648–660. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.06.058
69. Liu Q., Zhang H., Zhou G., Xie S., Zou H., Yu Y., Li G., Sun D., Zhang G., Lu Y., Zhong Y. In vitro and in vivo study of thymosin alpha1 biodegradable in situ forming poly(lactide-co-glycolide) implants. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010;397(1–2):122–129. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.07.015
70. Kempe S., Metz H., Mäder K. Do in situ forming PLG/NMP implants behave similar in vitro and in vivo? A non-invasive and quantitative EPR investigation on the mechanisms of the implant formation process. *Journal of Controlled Release*. 2008;130(3):220–225. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.06.006

22-25 СЕНТЯБРЯ 2026

Наукоград Кольцово,
Новосибирская обл.

OPEN BIO

РОССИЙСКИЙ ФОРУМ БИОТЕХНОЛОГИЙ

OPENBIO

БИЗНЕС ФОРУМ | НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ | ОТРАСЛЕВАЯ ВЫСТАВКА

СЕКЦИИ КОНФЕРЕНЦИИ:

22 сентября
БИОМЕДИЦИА

24 сентября
БИОФИЗИКА

24 сентября
ВИРУСОЛОГИЯ

24 сентября
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

25 сентября
БИОТЕХНОЛОГИЯ

25 сентября
БИОИНФОРМАТИКА

Регистрация и программа на сайте

www.openbio.ru

Обзорная статья / Review article

УДК 615.12; 615.32

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2368

Check for updates

CC BY 4.0

Современные подходы к разработке лекарственных форм паклитаксела: проблемы и перспективы (обзор)

А. С. Баразова[1]✉, С. В. Овсиенко[1], Н. А. Беседина[2], А. Ю. Савченко[2], А. Я. Хайменов[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

[2] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ"». Инженерно-физический институт биомедицины. 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 31

✉ **Контактное лицо:** Баразова Анастасия Сергеевна. **E-mail:** Basbarazova@yandex.ru

Резюме

Введение. Паклитаксел – противоопухолевый препарат растительного происхождения, демонстрирующий высокий потенциал в лечении широкого спектра злокачественных новообразований. Однако свойства паклитаксела, такие как его низкая растворимость в воде, плохая пероральная биодоступность, а также высокая токсичность, создают значительные трудности в разработке стабильных препаратов, ограничивая его клиническое применение. В связи с этим в настоящее время активно ведется поиск новых технологий, которые позволят увеличить эффективность терапии препаратами паклитаксела и снизить влияние токсических эффектов на организм человека.

Текст. Паклитаксел считается одним из наиболее востребованных препаратов в современной онкологии. Механизм его противоопухолевого действия основан на способности воздействовать на тубулин, стимулируя сборку микротрубочек, стабилизировать их, таким образом мешая их диссоциации, что приводит к блокаде митоза и последующей гибели клеток. Паклитаксел обладает сложной химической структурой, которая включает различные функциональные группы: сложноэфирные связи, таксановое кольцо, ароматические фрагменты. Данные элементы молекулы определяют противоопухолевую активность паклитаксела и его физико-химические свойства. Согласно биофармацевтической классификационной системе (Biopharmaceutics Classification System, BCS) паклитаксел относится к IV классу и характеризуется низкой растворимостью и низкой проницаемостью через стенки кишечника. Лекарственные вещества этого класса считаются самыми сложными для разработки препаратов и обладают крайне низкой биодоступностью. Низкая растворимость, плохая биодоступность и высокая токсичность паклитаксела создают сложности в фармацевтической разработке. Склонность паклитаксела к полиморфизму также может оказывать влияние на стабильность и биофармацевтические свойства готовых лекарственных форм. Например, выбор полиморфной формы может иметь принципиальное значение для эффективности и безопасности не только противоопухолевых препаратов, но и медицинских изделий с покрытием паклитаксела, используемых в терапии сердечно-сосудистых заболеваний, в частности рестеноза после ангиопластики. Несмотря на наличие ряда препаратов, которые успешно применяются в клинической практике, разработка новых лекарственных форм активно продолжается. Перед современными исследователями стоят задачи повышения биодоступности паклитаксела и снижения его токсического влияния на организм человека.

Заключение. Сложности, связанные с разработкой препаратов паклитаксела, носят комплексный характер. Исследуются новые стратегии лечения злокачественных опухолей с применением паклитаксела, изучаются новые составы препаратов и их комбинации. Настоящий обзор посвящен анализу современных исследований в области разработки новых лекарственных форм паклитаксела.

Ключевые слова: биодоступность, лекарственные формы, нанопрепараты, онкология, паклитаксел

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

Вклад авторов. А. С. Баразова – сбор литературных данных, подготовка текста статьи. С. В. Овсиенко – консультационная помощь при написании данной статьи, руководство практической частью исследования. Н. А. Беседина и А. Я. Хайменов – критический анализ литературных источников, редактирование рукописи. А. Ю. Савченко – концепция и дизайн работы, редактирование рукописи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

© Баразова А. С., Овсиенко С. В., Беседина Н. А., Савченко А. Ю., Хайменов А. Я., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Barazova A. S., Ovsienko S. V., Besedina N. A., Savchenko A. Yu., Khaymenov A. Ya., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Баразова А. С., Овсиенко С. В., Беседина Н. А., Савченко А. Ю., Хайменов А. Я. Современные подходы к разработке лекарственных форм паклитаксела: проблемы и перспективы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):86–98. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2368

Поступила в редакцию: 09.05.2026
Поступила после рецензирования: 25.06.2026
Принята к публикации: 07.08.2026

Current approaches to paclitaxel formulation development: challenges and future perspectives (review)

Anastasiia S. Barazova[1]✉, Sergey V. Ovsienko[1], Nadezhda A. Besedina[2], Alla Yu. Savchenko[2], Alexander Ya. Khaymenov[2]

[1] Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia
[2] National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute). Institute of Engineering Physics for Biomedicine. 31, Kashirskoe shosse, Moscow, 115409, Russia

✉ **Corresponding author:** Anastasiia S. Barazova. **E-mail:** Basbarazova@yandex.ru

Abstract

Introduction. Paclitaxel is a plant-derived antineoplastic agent with high potential in the treatment a wide range of malignant neoplasms. However, the unique properties of paclitaxel – low aqueous solubility, poor oral bioavailability, and high toxicity – create considerable challenges in the development of stable formulations, substantially limiting its clinical application. Therefore, there is an active ongoing search for novel technologies capable of enhancing the therapeutic efficacy of paclitaxel while reducing the impact of toxic effects on the human body.

Text. Paclitaxel is one of the most widely used drugs for the treatment in modern oncology. Its antitumor mechanism of action is based on its ability to act on tubulin, stimulating the assembly of microtubules, stabilizing them, and thus preventing their dissociation, which leads to mitotic arrest and subsequent cell death. Paclitaxel possesses a complex structure comprising various functional groups, including ester linkages, a taxane ring, and aromatic moieties. These molecular elements determine paclitaxel's anticancer activity as well as its physicochemical properties. Paclitaxel belongs to Class IV according to the Biopharmaceutics Classification System (BCS) and has low solubility and low intestinal permeability. Drug substances of this class are the most challenging for formulation development and exhibit extremely low bioavailability. The low solubility, poor bioavailability, and high toxicity of paclitaxel pose significant challenges in pharmaceutical development. Furthermore, the polymorphism of paclitaxel can also have a significant influence on stability and biopharmaceutical properties of finished dosage forms. For example, the choice of polymorphic form can be of fundamental importance for the efficacy and safety not only of antitumor drugs but also of paclitaxel coated medical devices used in the treatment of cardiovascular diseases, in particular restenosis after angioplasty. Despite the availability of formulations successfully used in clinical practice, the development of new ones continues to this day. Nowadays, researchers face the task of enhancing paclitaxel's bioavailability while reducing its toxic effects on the human body.

Conclusion. The challenges in developing paclitaxel formulations are multifaceted. New strategies for treating malignant tumors using paclitaxel are in place, and novel drug compositions and combinations are under investigation. This work reviews contemporary studies focused on the development of new dosage forms of paclitaxel.

Keywords: bioavailability, dosage forms, nanopharmaceuticals, oncology, paclitaxel

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

Contribution of the authors. Anastasiia S. Barazova – literature data collection and manuscript preparation. Sergey V. Ovsienko – provided advisory support during manuscript writing and supervised the practical part of the study. Nadezhda A. Besedina and Aleksandr Ya. Khaymenov – conducted critical analysis of the literature sources and contributed to manuscript editing. Alla Yu. Savchenko – developed the concept, study design, and contributed to manuscript editing. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Barazova A. S., Ovsienko S. V., Besedina N. A., Savchenko A. Yu., Khaymenov A. Ya. Current approaches to paclitaxel formulation development: challenges and future perspectives. *Drug development & registration*. 2026;15(3):86–98. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2368

Received: 09.05.2026
Revised: 25.06.2026
Accepted: 07.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2022 году было зарегистрировано около 20 миллионов новых случаев рака, по оценкам прогнозируется, что к 2050 году эта цифра вырастет до 35 миллионов. Такой быстрый рост заболеваемости подтверждает высокую потребность в эффективных противоопухолевых препаратах [1–3].

Паклитаксел относится к ряду химиотерапевтических препаратов таксанового ряда, механизм действия которых обусловлен способностью прерывать митотический цикл путем связывания с тубулином. Препараты на основе паклитаксела широко применяются в клинической практике в терапии рака молочной железы, немелкоклеточного рака легкого, рака яичников и ряда других злокачественных новообразований, демонстрируя высокий клинический потенциал [4].

Однако свойства паклитаксела, такие как его низкая растворимость в воде, плохая пероральная биодоступность, а также высокая токсичность, создают значительные трудности в разработке стабильных препаратов, ограничивая его клиническое применение. Преодоление этих ограничений является актуальной задачей фармацевтической технологии, что обуславливает активный поиск новых подходов к созданию лекарственных форм паклитаксела с улучшенными фармакокинетическими характеристиками, более высокой эффективностью и меньшей токсичностью [5–8].

В данном обзоре рассмотрены физико-химические особенности паклитаксела, обуславливающие трудности в разработке лекарственных форм, основные формуляции паклитаксела, представленные на мировом фармацевтическом рынке, а также тенденции в современной разработке.

История получения паклитаксела

Впервые соединение паклитаксела было идентифицировано в рамках скрининговой программы по поиску новых соединений, обладающих противоопухолевой активностью. Данная программа была реализована Национальным сервисным центром по химиотерапии рака (Cancer Chemotherapy National Service Center, CCNSC, США), который занимался исследованием и разработкой новых лекарственных средств. Первый образец коры тихоокеанского тиса, из которого впоследствии был выделен паклитаксел, был собран в 1962 году [9, 10, 7]. Тис коротколистный, или тис тихоокеанский (*Taxus brevifolia* Nutt.), произрастает в лесах северо-западной части Тихого океана. В 1962 году было установлено, что экстракт из коры тиса тихоокеанского обладает цитостатической активностью в отношении опухолевых клеток. Затем в 1971 году удалось выделить активное вещество из коры, извлеченное соединение получило наименование паклитаксел [7, 11]. В 1977 году паклитаксел был принят в качестве кандидата для разработки нового противоопухолевого лекарственного препарата. Последующие исследования продемонстрировали его значительную цитостатическую активность в отношении опухолей молочной железы. В 1979 году был установлен уникальный механизм действия препарата: стабилизация микротрубочек и блокада митоза, что отличало паклитаксел от известных противоопухолевых препаратов [12, 13].

Паклитаксел относится к дитерпеноидам с таксановым кольцом – группе природных соединений, выделяемых из представителей семейства тисовых (*Taxcae*). Впоследствии все алкалоиды, выделенные из растений семейства тисовых, относили к общей группе таксанов.

Механизм действия паклитаксела

В клинической практике паклитаксел применяют для терапии широкого спектра онкологических заболеваний, включая рак яичников, молочной железы, легких (особенно его немелкоклеточная разновидность), шейки матки, поджелудочной железы, а также саркому Капоши.

Злокачественные новообразования представляют собой группу заболеваний, поражающих различные ткани, и каждое из них характеризуется неконтролируемым ростом клеток, которые могут проникать в другие области тела и формировать метастазы. В отличие от большинства противоопухолевых препаратов, которые направлены на повреждение ДНК или РНК, основным механизмом действия паклитаксела является стимулирование гибели клеток путем стабилизации микротрубочек, которые участвуют во многих важных клеточных процессах и состоят из многочисленных полимеров тубулина. Выработка тубулина и сборка микротрубочек происходят во время фазы G2 клеточного цикла. Паклитаксел связывается с β-субъединицей тубулина, инициируя сборку микротрубочек и их гиперстабилизацию, препятствуя их диссоциации, что приводит к остановке митоза и, как следствие, гибели клеток. Вместе с тем необходимо отметить, что клетки способны осуществлять преждевременный выход из митоза, известный как «митотическое проскальзывание» (mitotic slippage), который является основной ответной реакцией, формируя устойчивость к антимитотическим препаратам. Подобный механизм является одним из факторов, ограничивающих эффективность данного класса соединений [7, 10, 13–15].

Физико-химические свойства паклитаксела

Молекула паклитаксела имеет сложную химическую структуру с формулой $C_{47}H_{51}NO_{14}$ и молекулярной массой 853,9 г/моль. Соединение содержит ряд функциональных групп, определяющих его химическую реакционность и физико-химические свойства, включая сложноэфирные фрагменты, таксановое кольцо, ароматические фрагменты.

Свою противоопухолевую активность паклитаксел осуществляет за счет ацильных групп в положениях C-10 и C-2 таксанового кольца, амидной структуры в положении C-2′ боковой цепи, которые обеспечивают связывание с тубулином. Оксетановое кольцо, которое является одним из элементов таксанового кольца, фиксирует пространственную структуру молекулы и также является важнейшим фармакофором, без которого паклитаксел полностью теряет биологическую активность [16].

Важнейшей характеристикой паклитаксела является его крайне низкая растворимость в воде, обусловленная его высокой липофильностью ввиду наличия в структуре молекулы комплекса из ароматических колец и ацильных групп. Растворимость зависит от полярности растворителя: паклитаксел значительно лучше растворяется в неполярных органических растворителях [17]. Данная особенность создает трудности при разработке и производстве препаратов на основе паклитаксела, так как повышение растворимости паклитаксела посредством изменения pH в препарате невозможно, поскольку в молекуле паклитаксела отсутствуют химические группы, которые можно ионизировать [18].

Установлено, что паклитаксел способен проявлять полиморфизм – явление, при котором вещество может существовать в двух или более кристаллических формах, отличающихся расположением или конформацией молекул в кристаллической решетке.

Вследствие полиморфизма молекулы по-разному расположены в элементарной ячейке кристалла, что обуславливает различные физические и физико-химические свойства, такие как температура плавления, размер кристаллов, плотность, растворимость и скорость растворения, удельная теплоемкость, электропроводность, угол смачивания, показатель преломления, коэффициент рассеяния света.

Таким образом, у паклитаксела различают следующие основные полиморфные модификации: аморфную, безводную кристаллическую и дигидратную кристаллическую. Более точной характеристикой, описывающей безводную и дигидратную формы, является понятие псевдополиморфизма.

При псевдополиморфизме кристаллические модификации формируются в результате включения молекулы растворителя в узлы кристаллической решетки твердого вещества, такие формы обозначают как сольваты. Если растворителем является вода, образующийся сольват называют гидратом. Как правило, безводная форма лекарственного средства обладает большей растворимостью в воде по сравнению с гидратами. Как и полиморфы, сольваты (псевдополиморфы) также отличаются друг от друга по своим физическим свойствам. Молекулы воды заполняют пустоты в структурах кристаллической решетки и образуют межмолекулярные водородные связи с органическими соединениями. Межмолекулярные водородные связи могут обеспечивать стабильность кристаллической решетки, повышая термодинамическую устойчивость гидратированной кристаллической формы по сравнению с безводной [19].

Полиморфные модификации паклитаксела отличаются по показателям растворимости: например, растворимость безводной формы паклитаксела составляет около 3 мкг/мл при температуре 37 °C, тогда как дигидратная форма обладает еще меньшей растворимостью – менее 1 мкг/мл. Несмотря на более высокую начальную скорость растворения безводной формы, под влиянием растворителей безводная форма конвертируется в дигидрат, что сопровождается понижением скорости растворения. Различные исследования показывают, что скорость растворения аморфной формы значительно выше, чем у кристаллических структур, однако она обладает меньшей термодинамической стабильностью и склонна к кристаллизации, что может оказывать существенное влияние на стабильность готовых лекарственных препаратов [20].

Из-за особенностей структуры кристаллических решеток безводная, аморфная и дигидратная модификации паклитаксела отличаются между собой и температурой плавления. У безводной формы показатель составляет 220 °C, дигидрат сначала теряет воду при температуре около 100 °C, затем начинает плавиться при температуре 168 °C с образованием полукристаллической формы. Температура плавления аморфного паклитаксела составляет 152 °C [20, 21].

Выбор полиморфной формы вещества является критически значимым фактором на этапах преформуляции и дизайна лекарственного препарата. Использование определенного полиморфа может оказывать влияние на конечные характеристики готовой лекарственной формы, в соответствии с этим необходимо тщательно исследовать свойства полиморфных модификаций фармацевтических субстанций на ранних этапах разработки [22].

Проблемы разработки препаратов паклитаксела

Сложности в разработке препаратов паклитаксела носят комплексный характер. В настоящее время традиционные препараты паклитаксела сталкиваются с тремя основными проблемами: плохой растворимостью (растворимость в воде составляет всего 10–20 мг/л), плохой абсорбцией (биодоступность при приеме внутрь составляет всего 10 % при пероральном приеме) и выраженной токсичностью.

Низкая растворимость в воде и высокая липофильность вещества значительно ограничивают возможности фармацевтической разработки. Повышение биодоступности достигается путем оптимизации состава лекарственного препарата с применением вспомогательных веществ либо повышением содержания самого действующего вещества, однако такой способ не рекомендуется ввиду высокого риска возникновения нежелательных реакций. Подбор вспомо-

гательных веществ должен осуществляться тщательным образом во избежание повышения токсичности препарата, как это случилось с первым препаратом на основе паклитаксела Taxol®, в состав которого входило вспомогательное вещество, обладающее собственной токсичностью.

Высокая токсичность препаратов паклитаксела является еще одной проблемой современной разработки. Некоторые препараты паклитаксела вызывают тяжелые нежелательные реакции, что затрудняет лечение. В связи с этим при решении данной проблемы необходимо соблюдать баланс между эффективностью и безопасностью.

Низкая пероральная биодоступность паклитаксела (около 10 %) обусловлена такими факторами, как низкие показатели абсорбции паклитаксела через стенки кишечника, интенсивный пресистемный метаболизм в печени и активное выведение обратно в просвет кишечника посредством Р-гликопротеина, расположенного на клетках кишечного эпителия.

Высокая липофильность паклитаксела обуславливает его хорошую пассивную проницаемость через мембраны энтероцитов кишечника, однако значительная часть вещества активно выводится обратно в просвет кишечника посредством Р-гликопротеина.

Р-гликопротеин является трансмембранным белком, который представляет собой АТФ-зависимый трансмембранный транспортер для выведения лекарств из клеток. Данный гликопротеин активно выводит паклитаксел из энтероцитов обратно в просвет кишечника, что значительно снижает абсорбцию препарата в кровоток. В исследованиях на мышах с ингибированным геном, кодирующим Р-гликопротеин, биодоступность паклитаксела возрастала с 11 % до 35 % [23]. В клинических исследованиях совместное применение паклитаксела с циклоспорином А (ингибитором Р-гликопротеина) также подтверждает значительное повышение биодоступности паклитаксела у пациентов [24].

Также препараты паклитаксела подвергаются интенсивной трансформации в печени под действием ферментов цитохрома CYP450 (эффект первого прохождения через печень), из-за чего значительная часть препарата метаболизируется еще до попадания в системный кровоток. Метаболизм паклитаксела катализируется двумя изоферментами – CYP2C8 и CYP3A4. Под действием CYP2C8 паклитаксел преобразуется в основной метаболит 6α-гидроксипаклитаксел, который обладает меньшей активностью. CYP3A4 катализирует образование неактивного метаболита 3′ρ-гидроксипаклитаксела. Также под действием обоих изоферментов из данных метаболитов образуется 6α,3′ρ-дигидроксипаклитаксел, не обладающий биологической активностью. В клинических исследованиях совместное применение паклитаксела с ингибиторами CYP3A4 (например, с циклоспорином А) приводило к значительному повышению значения AUC паклитаксела в 8 раз при пероральном приеме, что подтверждает влияние пресистемного метаболизма на ограничение его биодоступности [24, 25].

Совокупность указанных факторов еще долгое время определяла внутривенный путь введения для препаратов паклитаксела [26].

Препараты паклитаксела, зарегистрированные в Российской Федерации

По состоянию на январь 2026 года в Государственном реестре лекарственных средств Российской Федерации (ГРЛС) в России зарегистрировано 25 наименований лекарственных препаратов с международным непатентованным наименованием «паклитаксел», включая паклитаксел, связанный с альбумином человека. Из них 23 препарата представлены в лекарственной форме концентрата для приготовления раствора для инфузий, один – в форме лиофилизата для приготовления суспензии для инфузий. Также в России зарегистрирован один нанопрепарат на основе паклитаксела, связанного с альбумином человека, в форме лиофилизата для приготовления суспензии для инфузий. Владельцами 12 регистрационных удостоверений являются российские организации, остальные 13 принадлежат держателям из Германии, Швеции, Швейцарии, США, Индии, Израиля, Аргентины, Исландии, Словении, Республики Беларусь и Республики Казахстан[1].

Начало фармацевтической разработки

Первым зарегистрированным препаратом паклитаксела является Таксол® (Taxol®, Bristol-Myers Squibb, США), одобренный Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) в 1992 году для лечения рака яичников. Основным препятствием для разработки являлась крайне низкая растворимость вещества в водных средах, для преодоления которой первая рецептура включала в себя Cremophor EL (CrEL) и абсолютированный этиловый спирт. CrEL – полиоксиэтилированное касторовое масло – гетерогенное неионное поверхностно-активное вещество, используемое в составах многих лекарственных препаратов. Паклитаксел с CrEL образует стабильную микроэмульсию, где размеры частиц имеют оптимальные размеры для того, чтобы беспрепятственно проникать в опухолевые ткани. В данной лекарственной форме паклитаксел существует в аморфной форме, которая характеризуется более высокой растворимостью в органических растворителях, однако требует строгого контроля стабильности [4, 10, 13].

Применение CrEL сопряжено с серьезными нежелательными эффектами. Различные исследования подтверждают, что CrEL может вызывать тяжелые ре-

[1] Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx Ссылка активна на 09.05.2026.

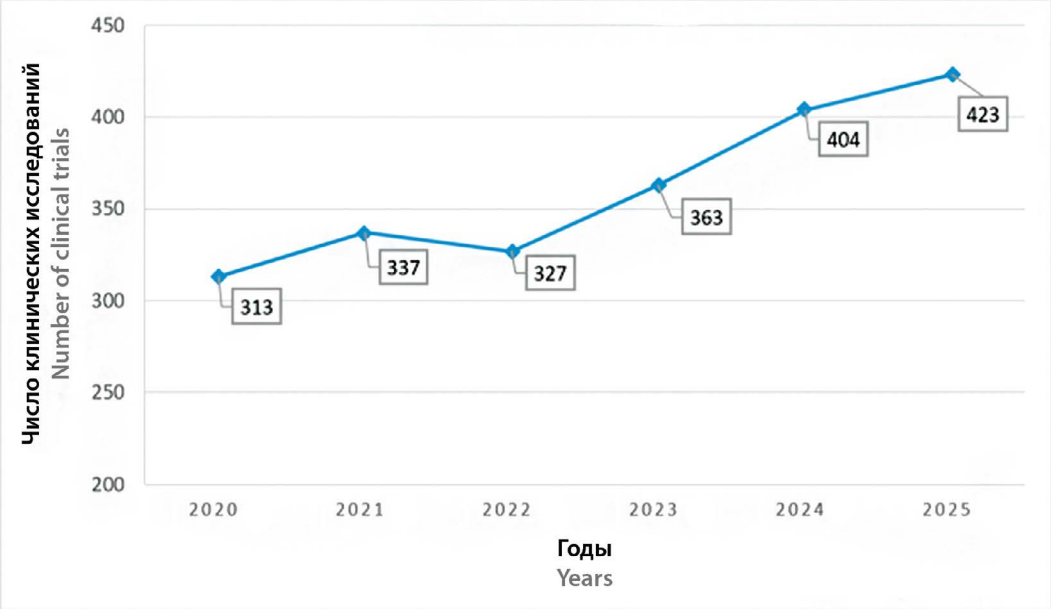


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Число клинических исследований с применением препаратов паклитаксела за 2020–2025 годы по данным ClinicalTrials.gov

Figure 1. The number of clinical trials using paclitaxel drugs in 2020–2025 according to ClinicalTrials.gov

акции гиперчувствительности, гиперлипидемию, нарушать липопротеиновый профиль, агрегацию эритроцитов и вызывать периферическую нейропатию. Значительные ограничения использования CrEL послужили стимулом для разработки альтернативных рецептур. Таким образом, с 2000-х годов начали активно развиваться направления создания систем доставки на основе наноносителей [4, 10, 14, 27, 28].

Тенденции в разработке: нанопрепараты

Число клинических исследований препаратов паклитаксела увеличивается с каждым годом. Разрабатываются новые стратегии лечения злокачественных опухолей с применением паклитаксела, исследуются новые составы препаратов и их комбинации.

По информации базы данных клинических исследований ClinicalTrials.gov, за период с 01.01.2020 года по 01.01.2026 год наблюдается рост числа клинических испытаний с паклитакселом, что свидетельствует о высокой эффективности паклитаксела в лечении злокачественных образований, в связи с чем на постоянной основе разрабатываются новые формуляции для расширения списка показаний применения, улучшения профиля фармакокинетики, профиля безопасности (рисунок 1). Наибольшую часть исследований составляют нанопрепараты[1].

Нанопрепараты представляют собой одно из наиболее перспективных направлений современной медицины, основанное на применении нанотехнологий для создания лекарственных средств с особыми свойствами. Частицы в данных препаратах имеют размеры от 1 до 100 нанометров и обладают рядом преимуществ по сравнению с традиционными лекарственными формами. Формуляции с нанопрепаратами позволяют осуществлять направленную доставку лекарственных веществ к органам и тканям, разрабатывать системы с контролируемым высвобождением, а благодаря маленьким размерам частиц – увеличивать активность, улучшать фармакокинетический профиль и снижать токсичность. С развитием нанотехнологий стало возможным создание лекарственных форм, способных преодолевать биологические барьеры и обходить механизмы резистентности организма.

На сегодняшний день разработаны и внедрены в клиническую практику нанопрепараты паклитаксела на основе различных систем доставки, таких как наночастицы, связанные с альбумином, полимерные мицеллы, полимерные конъюгаты, липосомы и другие носители.

Были разработаны и одобрены такие технологические наноносители на основе сывороточного человеческого альбумина, как, например, Абраксан® (Abraxane®/nab-Paclitaxel, Bristol-Myers Squibb, США), одобренный FDA в 2006 году в качестве лекарствен-

[1] ClinicalTrials.gov. Available at: https://clinicaltrials.gov/ Accessed: 09.05.2026.

ного средства для терапии рака молочной железы, а в 2013 – для лечения рака поджелудочной железы. Расширение терапевтического диапазона связано с улучшением фармакокинетических характеристик новой лекарственной формы и отсутствием CrEL. Человеческий альбумин является физиологически совместимым носителем и не имеет значительных побочных реакций, характерных для CrEL. Проведенные исследования показывают значительную эффективность данной рецептуры, так как в данной лекарственной форме максимальная дозировка может быть увеличена примерно на 50 % по сравнению с Таксолом®, при этом в клинических исследованиях наблюдалось меньшее число пациентов с нейропатией. Также концентрация действующего вещества в опухолевых тканях составила около 33 % в сравнении с эквивалентной дозировкой Таксола®, что говорит о результативности применения Абраксана® в терапии пациентов с опухолью молочной железы. По объему рынка и числу клинических испытаний Абраксан® и его аналоги занимают второе место после Таксола® [10, 14, 28, 29].

Согласно онлайн-базе данных по клиническим исследованиям ClinicalTrials.gov, исследования препаратов паклитаксела с альбумином составляют наибольшую часть от всего числа исследований паклитаксела, что говорит о перспективности данной формуляции. За период с 01.01.2020 по 01.01.2026 количество испытаний препаратов состава nab-Paclitaxel составило 675 от общего числа клинических исследований препаратов паклитаксела и его комбинаций с другими препаратами в количестве 2180 зарегистрированных испытаний, что составляет 1/3 от всех исследований[1].

Первый коммерчески доступный липосомальный препарат паклитаксела – Lipusu® (Nanjing Luye Sike Pharmaceutical Co., Ltd, КНР). Данный препарат впервые был одобрен в 2003 году Государственным управлением по контролю за лекарственными средствами и продуктами питания Китая (China Food and Drug Administration, CFDA), который в настоящее время преобразован в Национальное управление медицинской продукции (National Medical Products Administration, NMPA). В данной формуляции паклитаксел заключен в липосомы. Они обеспечивают подходящую среду, которая повышает растворимость и стабилизацию гидрофобной молекулы паклитаксела за счет связывания лекарственного средства с бислоями мембраны. Инкапсуляция паклитаксела в липосомы повышает терапевтическую эффективность препарата, таким образом, тот же терапевтический эффект может быть достигнут при уменьшении дозы действующего вещества. Липосомы сочетают холестерин и фосфолипиды в определенном соотношении, образуя двухслойную структуру, аналогичную структуре мембран клеток кожи. Эта структура обладает сильным сродством к клеточным мембранам, что позволяет загружать паклитаксел и повышать его растворимость. Эффективность инкапсуляции у Lipusu® составляет до 99 %. По сравнению с Таксолом® значение его LD_{50} удваивается, а период полувыведения увеличивается вдвое. Данная рецептура характеризуется меньшей токсичностью по сравнению с оригинальным Таксолом®, однако размеры липосом с заключенным в них паклитакселом (около 400 нм) больше, чем у наночастиц на основе альбумина (около 130 нм), в связи с чем Lipusu® обладает меньшей эффективностью по сравнению с Абраксаном®, однако сопоставим по эффективности с Таксолом® [10, 13, 14, 29–31].

Полимерные мицеллы представляют собой надмолекулярную структуру типа «ядро – оболочка» с размером частиц от 20 до 100 нм. Различные лекарственные средства могут быть инкапсулированы в область ядра химическим путем для повышения стабильности лекарственного средства. Genexol-PM® (Samyang Biopharmaceuticals Corporation, Республика Корея) является первым коммерчески доступным нанопрепаратом паклитаксела с полимерным наноносителем на основе метоксиполиэтиленгликоль-полилактида (mPEG-PLA). Впервые был одобрен для лечения немелкоклеточного рака легких (Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC) Управлением по безопасности пищевых продуктов и медикаментов Республики Корея (Ministry of Food and Drug Safety, MFDS) в 2007 году. Его преимущества отражаются в следующих аспектах: при использовании амфифильного полимера mPEG-PLA, который обладает сильным сродством к связыванию с паклитакселом, загрузка лекарственного средства может достигать 16,7 %, к тому же он обладает хорошей разлагаемостью и безопасностью. Применение синтетического полимерного носителя устраняет риски, связанные с использованием альбумина, полученного из крови человека (который подвержен контаминации, легко адсорбируется на инфузионных пакетах и катетерах, отличается длительностью растворения), что характерно для Абраксана®. В технологии получения Genexol-PM® не используется CrEL, и клиническая дозировка соответствует Таксолу® (260 мг/м^2), при этом частота и выраженность нежелательных реакций ниже.

Далее были разработаны следующие препараты на основе полимерных наноносителей: Nanoxel® (Dabur Pharma Ltd., Индия), мицеллы которого состоят из pH-чувствительного сополимера мономеров N-изопропилакриламида и винилпирролидона и обладают хорошей стабильностью при физиологическом значении pH и диссоциацией при кислом значении pH в кислой микросреде опухоли с высвобождением паклитаксела. Однако исследования показали, что распространенность нейтропении среди пациентов,

[1] ClinicalTrials.gov. Available at: https://clinicaltrials.gov/ Accessed: 09.05.2026.

проходивших терапию Nanoxel®, было выше (56,3 %) по сравнению с Таксолом® (50 %). Также после терапии Nanoxel® у пациентов наблюдался повышенный риск развития сенсорной нейропатии. Препарат был одобрен для лечения рака молочных желез и рака яичников Генеральным контролером по лекарственным средствам Индии (Drug Controller General of India, DCGI) в 2008 году [10, 13, 14, 32].

Пакликал® (Oasmia Pharmaceutical AB, в настоящее время – Vivesto AB, Швеция) – препарат с мицеллами на основе производных витамина А. Одобрен и зарегистрирован в Российской Федерации в 2015 году. В 2019 году получил одобрение Европейской комиссии (European Commission, EC) для терапии рака яичников на территории Евросоюза под наименованием Apealea® [10, 13, 14, 34]. В 2024 году Европейская комиссия отозвала разрешение на продажу препарата в Европейском союзе по просьбе владельца регистрационного удостоверения, так как было решено навсегда прекратить продажу препарата по коммерческим причинам. В настоящий момент препарат не разрешен к продаже на территории Европейского союза. В марте 2025 года Vivesto AB заключил соглашение с компанией Zhida Pharmaceutical Ltd. (КНР) о лицензировании препарата Apealea® на территории Китая[1].

Создание лекарственных средств на основе паклитаксела в виде нанопрепаратов частично решает существующие проблемы разработки. Сейчас активно ведутся исследования по улучшению уже существующих наноносителей и по поиску новых для получения препарата паклитаксела, который будет обладать достаточной эффективностью и безопасностью для пациентов.

Одним из принципиально новых подходов к разработке препаратов паклитаксела является NanoPac® от американской биотехнологической компании NanOlogy, LLC. NanoPac® представляет собой наночастицы паклитаксела, изготовленные по технологии осаждения из сжатых антирастворителей (Precipitation With Compressed Antisolvent, PCA). В ходе данного процесса паклитаксел, растворенный в органическом растворителе, осаждается при подаче сжатого газа CO_2, выступающего в роли антирастворителя. Метод основан на резком понижении растворимости вещества в растворителе при введении сжатого газа [36, 37]. Преимущество данного метода заключается в образовании наночастиц, не содержащих следов растворителя и не требующих дополнительной очистки [38]. Было установлено, что за счет своей структуры NanoPac® создает депо в опухолевых клетках и задерживается в них значительно дольше других формуляций паклитаксела, обеспечивая тем самым пролонгированный эффект и возможность использования меньшей концентрации в готовом препарате, из-за чего снижается риск возникновения нежелательных реакций [33].

Наряду с описанными системами активно исследуются наноформы, где в качестве наноносителя в препарате выступают частицы золота. Сочетание паклитаксела с частицами золота значительно увеличивало цитотоксическое действие препарата в отношении опухолевых клеток при раке молочной железы [36, 37]. Также есть данные об исследованиях формуляций паклитаксела, где в качестве наноносителя выступает витамин Е для увеличения биодоступности паклитаксела при пероральном применении [26]. Эмульсия паклитаксела с витамином Е содержит ингибитор Р-гликопептида, который является одним из элементов резистентности организма, в частности, к таксановым препаратам. За счет присутствия такого ингибитора биодоступность препарата существенно возросла, что открывает новые перспективы в разработке [14].

Таким образом, разработка нанопрепаратов паклитаксела является актуальным направлением в современной онкофармацевтике. Применение различных наноносителей позволяет полностью или частично преодолеть ограничения, определяемые паклитакселом.

Влияние полиморфизма паклитаксела на фармацевтическую разработку

Паклитаксел существует как минимум в трех полиморфных формах: аморфной, безводной кристаллической и дигидратной кристаллической. Каждая из этих форм отличается различными физико-химическими характеристиками, что определяет их применимость в конкретных лекарственных формах.

Установлено, что полиморфные формы паклитаксела способны осуществлять переход друг в друга, и некоторые формы нестабильны при долгом хранении. Безводные кристаллы паклитаксела могут самопроизвольно переходить в гидратную форму под воздействием внешних факторов, главным образом повышенной влажности воздуха. Процесс представляет собой гидратацию кристаллов: молекулы воды внедряются в кристаллическую решетку, образуя термодинамически более стабильную структуру [38]. Аморфная форма, напротив, нестабильна и со временем кристаллизуется, из-за чего стабильность готовых лекарственных препаратов снижается. Лекарственные препараты паклитаксела преимущественно содержат аморфную форму, в которую может перейти безводный паклитаксел под влиянием условий хранения препарата или технологических операций.

Некоторые формуляции требуют использования безводного паклитаксела, так как только в таком случае возможно добиться наилучших показателей для конкретного состава. Например, в медицинских изделиях с контролируемым высвобождением, таких

[1] Apealea. European Medicines Agency (EMA). Available at: https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/apealea Accessed: 09.05.2026.

как стенты с лекарственным покрытием (Drug-Eluting Stents, DES) и баллонные катетеры с лекарственным покрытием (Drug-Coated Balloons, DCB), низкая растворимость в водных средах и высокая липофильность паклитаксела рассматриваются как технологическое преимущество, поэтому для достижения оптимальных свойств в данных технологиях используют преимущественно безводную модификацию паклитаксела. Стенты и баллонные катетеры с паклитакселом представляют собой каркас, покрытый полимерной матрицей, содержащей паклитаксел, препарат высвобождается в течение нескольких недель после имплантации. Установлено, что покрытие с безводными кристаллами паклитаксела в составе легче наносить и действующее вещество дольше остается в стенках сосудов, обеспечивая ранний антипролиферативный эффект [39, 40]. Данное медицинское изделие используют для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, в частности при рестенозе. За счет своего действия паклитаксел стабилизирует микротрубочки и ингибирует пролиферацию гладкомышечных клеток, тем самым предотвращая рестеноз сосудов после ангиопластики или стентирования [41, 42].

Несмотря на доказанную эффективность паклитакселсодержащих устройств, вопрос их безопасности все еще остается дискуссионным. По результатам проведенного метаанализа (Katsanos et al., 2018), в котором были проанализированы 28 рандомизированных клинических исследований (РКИ), было выявлено высокое число летальных исходов у пациентов, получавших лечение покрытыми паклитакселом устройствами, по сравнению со стандартной баллонной ангиопластикой [43]. Данное исследование вызвало серьезную обеспокоенность медицинского сообщества, после чего регулирующие органы начали проводить дополнительные проверки. Ключевым исследованием в этом вопросе стало многоцентровое открытое РКИ SWEDEPAD (Nordanstig et al., 2020), которое не подтвердило значимого повышения смертности в пределах 2,5 лет наблюдения [44]. Другие исследования установили, что устройства с низким содержанием паклитаксела демонстрировали более благоприятный профиль безопасности, подтверждая дозозависимый характер риска смертности [45, 46].

В настоящее время активно ведется разработка новых составов покрытий, изучаются альтернативные антипролиферативные агенты (в частности, сиролимус), исследуются новые показания к применению DCB, а также оцениваются долгосрочные результаты безопасности для различных популяций пациентов [8].

Альтернативные лекарственные формы паклитаксела

Существующие инъекционные лекарственные формы паклитаксела обладают рядом недостатков: невозможностью самостоятельного применения – необходимостью участия медицинского персонала, значительной системной токсичностью. В связи с этим ведется разработка неинъекционных лекарственных форм паклитаксела. Многие пациенты предпочитают пероральный способ введения. Пероральные формы паклитаксела не используются в широкой клинической практике, тем не менее разработки и клинические испытания новых пероральных лекарственных форм продолжаются. Для обеспечения оптимальной биодоступности необходима эффективная концентрация препарата. Кроме того, лекарственные формы должны хорошо всасываться в желудочно-кишечном тракте и не вызывать его раздражения. Также существуют и другие критерии, например такие, как легкость проглатывания, приятный запах, приятный внешний вид. Всасывание лекарственного средства является важным процессом при пероральном приеме, на который влияют различные факторы. Применение пероральных лекарственных форм является перспективным методом лечения рака. Текущие задачи заключаются в преодолении низкой биодоступности при неинъекционном введении и разработке недорогих и биосовместимых материалов [14, 47].

Первым пероральным препаратом паклитаксела, получившим регуляторное одобрение, является Liporaxel® (рабочее наименование DHP-107), разработанный компанией Daehwa Pharmaceutical Co., Ltd. (Республика Корея) совместно с Корейским институтом науки и технологий (Korea Institute of Science and Technology, KIST) и одобренный в Южной Корее в 2016 году для лечения рака желудка. Форма выпуска препарата – раствор для приема внутрь, состав представляет собой смесь моноолеатов, трикаприлина и твина-80, что облегчает всасывание без кремофора EL или ингибиторов P-гликопротеина, и содержит 1 % паклитаксела по массе [6, 14]. Раствор действует как самоэмульгирующаяся система доставки лекарственных средств (Self-Emulsifying Drug Delivery Systems, SEDDS) [48]. При контакте с желудочно-кишечными жидкостями смесь самопроизвольно эмульгируется с образованием мелкодисперсных масляных капель. Технология SEDDS является одним из способов увеличения биодоступности гидрофобных лекарственных средств за счет растворения веществ в смеси масел и поверхностно-активных веществ. При контакте с желудочным соком данная смесь самопроизвольно эмульгируется, в кишечнике мелкие масляные капли проникают в лимфатическую систему, минуя эффект первого прохождения через печень, в таком состоянии абсорбция препарата увеличивается. Помимо улучшенного растворения, вспомогательные вещества, входящие в состав SEDDS, могут увеличивать биодоступность за счет ингибирования ферментов цитохрома CYP450 и P-гликопротеина, которые являются важными факторами метаболизма пероральных лекарственных средств [49].

В клиническом исследовании III фазы DREAM (Kanget al., 2018) было установлено, что DHP-107 продемонстрировал эффективность, сопоставимую с внутривенным паклитакселом. Значимая разница в выраженности нежелательных эффектов отсутствовала, хотя DHP-107 реже вызывал нейропатии [50].

Другой пероральный препарат с паклитакселом, Oraxol®, разработанный в партнерстве Athenex, Inc. (США) и Hanmi Pharmaceuticals (Республика Корея), отличается наличием в составе ингибитора Р-гликопротеина – энцеквидара (Encequidar). Энцеквидар – это экспериментальный препарат, разработанный для совместного приема с таксанами и являющийся конкурентным ингибитором Р-гликопротеина [51]. За счет своего механизма действия энцеквидар увеличивает биодоступность паклитаксела. В клинических исследованиях среди пациентов с метастатическим раком молочной железы было выявлено, что частота объективного ответа на терапию Oraxol® составила 39,1 % против 24,8 % при инъекционном введении. Также пациенты, принимающие Oraxol®, имели более низкие показатели нейропатий (17 % против 57 %) и наблюдалось меньше случаев алопеции 2 степени (28,4 % против 48,1 %). Однако при приеме Oraxol® наблюдалась более высокая частота анемий, заболеваний инфекциями мочевыводящих путей и расстройств желудочно-кишечного тракта. Частота нежелательных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта была значительно выше по сравнению с инъекционным введением паклитаксела. Из-за сомнений в результатах профиля безопасности данная лекарственная форма паклитаксела не была одобрена FDA. Регуляторным органом было рекомендовано улучшить состав и провести дополнительные клинические исследования. В 2022 году компания Athenex, Inc. приостановила дальнейшие испытания [6].

Аморфные твердые дисперсии (Amorphous Solid Dispersions, ASD) представляют собой полимерную матрицу, в которую определенным образом встроены молекулы лекарственного вещества, которое находится в аморфном состоянии. Отсутствие кристаллической структуры соединения обеспечивает улучшенный профиль растворения паклитаксела, а полимерные носители (гидроксипропилметилцеллюлоза, поливинилпирролидон и их производные) стабилизируют аморфное состояние фармацевтической субстанции посредством водородных связей, предотвращая рекристаллизацию вещества, тем самым обеспечивая стабильность готового препарата. Получают ASD различными способами, наиболее широкое применение получили методы распылительной сушки и метод экструзии горячего расплава [5]. Оба метода могут быть использованы для получения аморфных твердых дисперсий паклитаксела, хотя есть данные, что метод экструзии горячего расплава может приводить к деградации лекарственного вещества, что, вероятно, также увеличивает содержание примесей в готовом препарате.

Под действием технологических операций лекарственное вещество полностью переходит в аморфное состояние и встраивается в полимерную матрицу, однако на начальной точке может быть предпочтительно использование безводной кристаллической формы. При использовании метода экструзии горячего расплава гидратная вода может переходить в пар внутри экструдера, что может привести к вспениванию полимерной матрицы и образованию пористого хрупкого экструдата. Кроме того, остатки кристаллизационной воды могут послужить центрами кристаллизации в готовом лекарственном препарате, что может снижать стабильность лекарственного средства. Для твердых дисперсий, состоящих из гидрофобного лекарственного средства, как паклитаксел, и гидрофильного полимера, присутствие воды может привести к несмешиванию системы, другими словами, к разделению аморфной фазы. В этом случае лекарственное средство и полимер, которые изначально были тщательно перемешаны, разделяются на аморфные области, богатые лекарственным средством, и области, богатые полимером [52]. Перекристаллизация готового аморфного лекарственного средства может происходить при высокой температуре или повышенной относительной влажности из-за увеличения подвижности молекул [19, 53, 54]. Также гидратированные формы действующих веществ могут изменять характер межмолекулярных взаимодействий в ASD. Вода может конкурировать с полимерными носителями за образование водородных связей, что может ослаблять стабилизирующие взаимодействия между полимерной матрицей и лекарственным веществом. Совокупность данных факторов обуславливает предпочтительность применения безводной кристаллической формы паклитаксела в качестве исходного сырья при производстве ASD.

Имеющиеся данные свидетельствуют, что ASD с паклитакселом имеют более стабильные показатели фармакокинетики и биодоступности по сравнению с другими пероральными формами, что определяет данное направление как одно из наиболее перспективных в разработке препаратов паклитаксела для перорального применения.

В 2016 году проводились исследования по разработке геля с паклитакселом для лечения рака кожи. В состав геля паклитаксел вводили в виде твердых липидных частиц (Solid Lipid Nanoparticle, SLN). SLN – это коллоидные системы для доставки препаратов, где в качестве масляной фазы присутствуют твердые липиды, внутри которых находится лекарственное вещество. Данная лекарственная форма обладает высокой стабильностью по сравнению с липосомами и мицеллами, также обладает хорошей биосовместимостью с организмом человека, за счет липидного ядра подходит для доставки гидрофобных веществ. Результаты исследования *in vitro* на мы-

шах показали, что гель с паклитакселом в форме SLN продемонстрировал противоопухолевую активность применительно к раку кожи [55, 56].

Другой наружной лекарственной формой с паклитакселом является разработка SOR007 (LLC "NanOlogy", США). SOR007 представляет собой мазь для местного применения на безводной основе, в которой содержатся наночастицы паклитаксела NanoPac®. В 2021 году были завершены клинические исследования I/II фазы, в которых изучалась безопасность и эффективность препарата SOR007 у пациентов с кожным метастатическим раком молочной железы. По полученным результатам было установлено, что у 63 % пациентов наблюдалась стабилизация заболевания и снижение болевых ощущений при использовании данной мази. В настоящий момент компания продолжает испытания лекарственной формы [57].

Наночастицы NanoPac® также исследовались в форме порошка для ингаляций применительно к лечению метастатических опухолей легких. Результаты исследования в 2019 году показывают, что данная форма паклитаксела пролонгированно задерживается в легочных тканях по сравнению с системным введением, что создает предпосылки для таргетного воздействия на опухолевые очаги в легких. Тем не менее необходимы дополнительные подтверждающие исследования эффективности и безопасности применения ингаляционного введения паклитаксела [58].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Паклитаксел остается одним из наиболее клинически значимых противоопухолевых препаратов, однако совокупность его физико-химических и фармакокинетических характеристик ограничивает возможности его применения и определяет необходимость разработки новых составов и технологий. В обзоре проанализированы различные технологии, направленные на повышение эффективности препаратов паклитаксела. Особый интерес представляет разработка систем нанодоставки, которые показывают многообещающий результат: возможность терапии различных видов рака, улучшенные фармакокинетические параметры по сравнению с традиционными формами паклитаксела и снижение токсических эффектов. Также актуальным вопросом остается создание неинъекционных форм паклитаксела, способных существенно расширить зону клинического применения паклитаксела и улучшить качество жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bray F., Laversanne M., Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Soerjomataram I., Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2024;74(3):229–263. https://doi.org/10.3322/caac.21834
2. Gu H., Wang R., Beeraka N. M., Lu P., Zhao X., Li L., Liu Y., Kandula D. R., Fan R., Gayathri T., Nikolenko V. N., Nagalakshmi A., Basappa B., Liu J. Global burden and trends of breast cancer: GLOBOCAN 2022 estimates of incidence and mortality in 185 countries. *Chinese Medical Journal*. 2026;139(3):404–414. https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000003921
3. Li Z., Liu P., Yin A., Zhang B., Xu J., Chen Z., Zhang Z., Zhang Y., Wang S., Tang L., Kong B., Song K. Global landscape of cervical cancer incidence and mortality in 2022 and predictions to 2030: The urgent need to address inequalities in cervical cancer. *International Journal of Cancer*. 2025;157(2):288–297. https://doi.org/10.1002/ijc.35369
4. Huang Z. Paclitaxel Anti-Tumor: Mechanism, Model Optimization and Drug Resistance Response. *MedScien*. 2025;1(6):81924. https://doi.org/10.61173/ghv81924
5. Alwossabi A. M., Al-Ghani A. M. S., Alnamer R., Osman W., Ashour A., Sherif A., Sweilam S. H., Abdelrahman M. Advancements in Solid Dispersions for Enhancing Drug Solubility and Bioavailability: Insights on Anticancer and Herbal Medicines. *Salud, Ciencia y Tecnología*. 2025;5:2481. https://doi.org/10.56294/saludcyt20252481
6. Lei L., Wang X.-J., Tang S.-C. Novel taxanes in development: Hopes or hypes? *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2022;176:103727. https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103727
7. Sharifi-Rad J., Quispe C., Patra J. K., Singh Y. D., Panda M. K., Das G., Adetunji C. O., Michael O. S., Sytar O., Polito L., Živković J., Cruz-Martins N., Klimek-Szczykutowicz M., Ekiert H., Choudhary M. I., Ayatollahi S. A., Tynybekov B., Kobarfard F., Muntean A. C., Grozea I., Daştan S. D., Butnariu M., Szopa A., Calina D. Paclitaxel: Application in Modern Oncology and Nanomedicine-Based Cancer Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:3687700. https://doi.org/10.1155/2021/3687700
8. Ejeta B. M., Das M. K, Das S. Recent Advances in Paclitaxel Drug Delivery: Challenges, Innovations, and Future Directions. *Journal of Angiotherapy*. 2024;8(8):1–13. https://doi.org/10.25163/angiotherapy.889867
9. Cech N. B., Oberlies N. H. From plant to cancer drug: lessons learned from the discovery of taxol. *Natural Product Reports*. 2023;40(7):1153–1157. https://doi.org/10.1039/D3NP00017F
10. Gallego-Jara J., Lozano-Terol G., Sola-Martínez R. A., Cánovas-Díaz M., De Diego Puente T. A Compressive Review about Taxol®: History and Future Challenges. *Molecules*. 2020;25(24):5986. https://doi.org/10.3390/molecules25245986
11. Żwawiak J., Zaprutko L. A brief history of taxol. *Journal of Medical Science*. 2014;83(1):47–52. https://doi.org/10.20883/medical.e43
12. Howat S., Park B., Oh I. S., Jin Y.-W., Lee E.-K., Loake G. J. Paclitaxel: biosynthesis, production and future prospects. *New Biotechnology*. 2014;31(3):242–245. https://doi.org/10.1016/j.nbt.2014.02.010
13. Alqahtani F. Y., Aleanizy F. S., Tahir E. E., Alkahtani H. M., AlQuadeib B. T. Paclitaxel. In: Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. Volume 44. Amsterdam: Elsevier; 2019. P. 205–238. https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2018.11.001

14. Harshita, Barkat M. A., Beg S., Pottoo F. H., Ahmad F. J. Nanopaclitaxel Therapy: An Evidence Based Review on the Battle for Next-Generation Formulation Challenges. *Nanomedicine.* 2019;14(10):1323–1341. https://doi.org/10.2217/nnm-2018-0313
15. Zhu L., Chen L. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy. *Cellular & Molecular Biology Letters*. 2019;24:40. https://doi.org/10.1186/s11658-019-0164-y
16. Boge T. C., Hepperle M., Vander Velde D. G., Gunn C. W., Grunewald G. L., Georg G. I. The oxetane conformational lock of paclitaxel: Structural analysis of D-secopaclitaxel. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 1999;9(20):3041–3046. https://doi.org/10.1016/S0960-894X(99)00521-1
17. Balasubramanian S. V., Alderfer J. L., Straubinger R. M. Solvent- and Concentration-Dependent Molecular Interactions of Taxol (Paclitaxel †). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1994;83(10):1470–1476. https://doi.org/10.1002/jps.2600831021
18. Surapaneni M. S., Das S. K., Das N. G. Designing Paclitaxel Drug Delivery Systems Aimed at Improved Patient Outcomes: Current Status and Challenges. *ISRN Pharmacology.* 2012;2012:1–15. https://doi.org/10.5402/2012/623139
19. Healy A. M., Worku Z. A., Kumar D., Madi A. M. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: A special emphasis on cocrystals. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2017;117:25–46. https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.03.002
20. Liggins R. T., Hunter W. L., Burt H. M. Solid-State Characterization of Paclitaxel. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 1997;86(12):1458–1463. https://doi.org/10.1021/js9605226
21. Que C., Gao Y., Raina S. A., Zhang G. G. Z., Taylor L. S. Paclitaxel Crystal Seeds with Different Intrinsic Properties and Their Impact on Dissolution of Paclitaxel-HPMCAS Amorphous Solid Dispersions. *Crystal Growth & Design.* 2018;18(3):1548–1559. https://doi.org/10.1021/acs.cgd.7b01521
22. Javadzadeh Y., Hamedeyazdan S., Asnaashari S. Recrystallization of Drugs: Significance on Pharmaceutical Processing. In: Sztwiertnia K. M., editor. Recrystallization. London: IntechOpen; 2012. P. 425–446. https://doi.org/10.5772/33156
23. Sparreboom A., Van Asperen J., Mayer U., Schinkel A. H., Smit J. W., Meijer D. K. F., Borst P., Nooijen W. J., Beijnen J. H., Van Tellingen O. Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1997;94(5):2031–2035. https://doi.org/10.1073/pnas.94.5.2031
24. Malingré M. M., Schellens J. H., Van Tellingen O., Rosing H., Koopman F. J., Duchin K., Ten Bokkel Huinink W. W., Swart M., Beijnen J. H. Metabolism and excretion of paclitaxel after oral administration in combination with cyclosporin A and after i.v. administration. *Anti-Cancer Drugs.* 2000;11(10):813–820. https://doi.org/10.1097/00001813-200011000-00004
25. Terwogt J. M. M., Beijnen J. H., ten Bokkel Huinink W. W., Rosing H., Schellens J. H. Co-administration of cyclosporin enables oral therapy with paclitaxel. *The Lancet.* 1998;352(9124):285. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)24030-X
26. Binkhathlan Z., Ali R., Yusuf O., Alomrani A. H., Badran M. M., Alshememry A. K., Alshamsan A., Alqahtani F., Qamar W., Attwa M. W. Polycaprolactone—Vitamin E TPGS Micellar Formulation for Oral Delivery of Paclitaxel. *Polymers.* 2024;16(15):2232. https://doi.org/10.3390/polym16152232
27. Gelderblom H., Verweij J., Nooter K., Sparreboom A. Cremophor EL. *European Journal of Cancer.* 2001;37(13):1590–1598. https://doi.org/10.1016/S0959-8049(01)00171-X
28. Sadeghi-Oroumiyeh A., Valizadeh H., Zakeri-Milani P. Determination of Paclitaxel Solubility and Stability in the Presence of Injectable Excipients. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2021;55:983–987. https://doi.org/10.1007/s11094-021-02526-6
29. Wang F., Porter M., Konstantopoulos A., Zhang P., Cui H. Preclinical development of drug delivery systems for paclitaxel-based cancer chemotherapy. *Journal of Controlled Release.* 2017;267:100–118. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.09.026
30. Holvoet C., Vander Heyden Y., Lories G., Plaizier-Vercammen J. Preparation and evaluation of paclitaxel-containing liposomes. *Pharmazie.* 2007;62:126–132. https://doi.org/10.1691/ph.2007.2.6093
31. Koudelka Š., Turánek J. Liposomal paclitaxel formulations. *Journal of Controlled Release.* 2012;163(3):322–334. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.09.006
32. Soni A., Jaiswal V. Polymeric Micelles in Targeted Breast Cancer Therapy: Recent Advances and Future Trends. *Nano Biomedicine and Engineering.* 2025;17(2):212–231. https://doi.org/10.26599/NBE.2025.9290122
33. Verco S., Maulhardt H., Baltezor M., Williams E., Iacobucci M., Wendt A., Verco J., Marin A., Campbell S., Dorman P., diZerega G. Local administration of submicron particle paclitaxel to solid carcinomas induces direct cytotoxicity and immune-mediated tumoricidal effects without local or systemic toxicity: preclinical and clinical studies. *Drug Delivery and Translational Research.* 2021;11:1806–1817. https://doi.org/10.1007/s13346-020-00868-4
34. Baltezor M., Farthing J., Sittenauer J., Espinosa J., Campbell S., McClorey M., Fischer J. K., Williams M. D., Clapp G. E. Taxane particles and their use. Patent USA № 9814685 B2. 14.11.2017. Available at: https://patents.google.com/patent/US9814685B2/en Accessed: 25.06.2026.
35. Lin C., Ng K. M., Wibowo C. Producing Nanoparticles Using Precipitation with Compressed Antisolvent. *Industrial & Engineering Chemistry Research.* 2007;46(11):3580–3589. https://doi.org/10.1021/ie0611204
36. Velhal K., Sah P., Raut R., Yamgar R., Naidu R., Kalra P., Barage S., Lakkakula J., Uddin I. A novel approach: inclusion complex-capped gold nanoparticles for paclitaxel delivery in triple-negative breast cancer. *Medical Oncology.* 2025;42:243. https://doi.org/10.1007/s12032-025-02805-2
37. Vemuri S. K., Banala R. R., Mukherjee S., Uppula P., Gpv S., Gurava Reddy A. V., Malarvilli T. Novel biosynthesized gold nanoparticles as anti-cancer agents against breast cancer: Synthesis, biological evaluation, molecular modelling studies. *Materials Science and Engineering: C.* 2019;99:417–429. https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.123
38. Vella-zarb L., Baisch U., Dinnebier R. E. Small Molecule, Big Difference: The Role of Water in the Crystallization of Paclitaxel. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2013;102(2):674–683. https://doi.org/10.1002/jps.23404

39. Farah S., Domb A. J. Crystalline paclitaxel coated DES with bioactive protective layer development. *Journal of Controlled Release*. 2018;271:107–117. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.12.030
40. Tzafriri A. R., Parikh S. A., Edelman E. R. Taking paclitaxel coated balloons to a higher level: Predicting coating dissolution kinetics, tissue retention and dosing dynamics. *Journal of Controlled Release*. 2019;310:94–102. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.08.019
41. Kipshidze N., Moses J. W., Leon M. B. Paclitaxel-coated stent: is there a light at the end of the tunnel? *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;38(1):292. https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01357-2
42. Laarman G. J., Suttorp M. J., Dirksen M. T., Van Heerebeek L., Kiemeneij F., Slagboom T., Van Der Wieken L. R., Tijssen J. G. P., Rensing B. J., Patterson M. Paclitaxel-Eluting versus Uncoated Stents in Primary Percutaneous Coronary Intervention. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(11):1105–1113. https://doi.org/10.1056/NEJMoa062598
43. Katsanos K., Spiliopoulos S., Kitrou P., Krokidis M., Karnabatidis D. Risk of Death Following Application of Paclitaxel-Coated Balloons and Stents in the Femoropopliteal Artery of the Leg: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of the American Heart Association*. 2018;7(24):e011245. https://doi.org/10.1161/JAHA.118.011245
44. Nordanstig J., James S., Andersson M., Andersson M., Danielsson P., Gillgren P., Delle M., Engström J., Fransson T., Hamoud M., Hilbertson A., Johansson P., Karlsson L., Kragsterman B., Lindgren H., Ludwigs K., Mellander S., Nyman N., Renlund H., Sigvant B., Skoog P., Starck J., Tegler G., Toivola A., Truedson M., Wahlgren C.-M., Wallinder J., Öjersjö A., Falkenberg M. Mortality with Paclitaxel-Coated Devices in Peripheral Artery Disease. *New England Journal of Medicine*. 2020;383:2538–2546. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2005206
45. Kuno T., Ueyama H., Mikami T., Takagi H., Numasawa Y., Anzai H., Bangalore S. Mortality in patients undergoing revascularization with paclitaxel eluting devices for infrainguinal peripheral artery disease: Insights from a network meta-analysis of randomized trials. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*. 2020;96(4):E467–E478. https://doi.org/10.1002/ccd.29125
46. Schneider P. A., Varcoe R. L., Secemsky E., Schermerhorn M., Holden A. Update on paclitaxel for femoral-popliteal occlusive disease in the 15 months following a summary level meta-analysis demonstrated increased risk of late mortality and dose response to paclitaxel. *Journal of Vascular Surgery*. 2021;73(1):311–322. https://doi.org/10.1016/j.jvs.2020.07.093
47. Du X., Khan A. R., Fu M., Ji J., Yu A., Zhai G. Current development in the formulations of non-injection administration of paclitaxel. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018;542(1–2):242–252. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.03.030
48. Xie B., Liu Y., Li X., Yang P., He W. Solubilization techniques used for poorly water-soluble drugs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2024;14(11):4683–4716. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.08.027
49. Singh B., Bandopadhyay S., Kapil R., Singh R., Katare O. P. Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS): Formulation Development, Characterization, and Applications. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*. 2009;26(5):427–451. https://doi.org/10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v26.i5.10
50. Kang Y.-K., Ryu M.-H., Park S. H., Kim J. G., Kim J. W., Cho S.-H., Park Y.-I., Park S. R., Rha S. Y., Kang M. J., Cho J. Y., Kang S. Y., Roh S. Y., Ryoo B.-Y., Nam B.-H., Jo Y.-W., Yoon K.-E., Oh S. C. Efficacy and safety findings from DREAM: a phase III study of DHP107 (oral paclitaxel) versus i.v. paclitaxel in patients with advanced gastric cancer after failure of first-line chemotherapy. *Annals of Oncology*. 2018;29(5):1220–1226. https://doi.org/10.1093/annonc/mdy055
51. Smolinski M. P., Urgaonkar S., Pitzonka L., Cutler M., Lee G., Suh K. H., Lau J. Y. N. Discovery of Encequidar, First-in-Class Intestine Specific P-glycoprotein Inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2021;64(7):3677–3693. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01826
52. Rumondor A. C. F., Marsac P. J., Stanford L. A., Taylor L. S. Phase Behavior of Poly(vinylpyrrolidone) Containing Amorphous Solid Dispersions in the Presence of Moisture. *Molecular Pharmaceutics*. 2009;6(5):1492–1505. https://doi.org/10.1021/mp900050c
53. Guo Y., Shalaev E., Smith S. Physical stability of pharmaceutical formulations: solid-state characterization of amorphous dispersions. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2013;49:137–144. https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.06.002
54. Janssens S., Roberts C., Smith E. F., Van Den Mooter G. Physical stability of ternary solid dispersions of itraconazole in polyethyleneglycol 6000/hydroxypropylmethylcellulose 2910 E5 blends. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008;355(1–2):100–107. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.11.054
55. Bharadwaj R., Das P. J., Pal P., Mazumder B. Topical delivery of paclitaxel for treatment of skin cancer. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2016;42(9):1482–1494. https://doi.org/10.3109/03639045.2016.1151028
56. Mihai M. M., Holban A. M., Călugăreanu A., Orzan O. A. Recent advances in diagnosis and therapy of skin cancers through nanotechnological approaches. In: Ficai A., Grumezescu A. M., editors. Nanostructures for Cancer Therapy. Amsterdam: Elsevier; 2017. P. 285–306. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46144-3.00011-8
57. Lacouture M. E., Goldfarb S. B., Markova A., Chawla S. P., Dewnani K., Iacobucci M., Lang J. E. Phase 1/2 study of topical submicron particle paclitaxel for cutaneous metastases of breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2022;194:57–64. https://doi.org/10.1007/s10549-022-06584-6
58. Verco J., Johnston W., Baltezor M., Kuehl P. J., Gigliotti A., Belinsky S. A., Lopez A., Wolff R., Hylle L., diZerega G. Pharmacokinetic Profile of Inhaled Submicron Particle Paclitaxel (NanoPac®) in a Rodent Model. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*. 2019;32(2):99–109. https://doi.org/10.1089/jamp.2018.1467

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.45

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2347

Check for updates

CC BY 4.0

Выживаемость бифидобактерий в альгинат-хитозановых микрокапсулах с инулином при моделировании условий желудочно-кишечного тракта

П. А. Андрюшков✉, **А. Л. Марченко**, **Т. Ф. Черных**, **Б. Г. Буденштейн**

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:** Андрюшков Павел Александрович. **E-mail:** andryushkov.pavel@pharminnotech.com

Резюме

Введение. Низкая выживаемость пробиотических микроорганизмов при прохождении через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) существенно ограничивает терапевтическую эффективность пероральных пробиотических препаратов. Включение пребиотика инулина в матрицу микрокапсул и применение различных типов твердых капсул может дополнительно повысить защиту бифидобактерий, однако комплексное сравнение этих факторов на единой модели не проводилось.

Цель. Оценить влияние инулина в составе альгинат-хитозановых микрокапсул и типа твердой капсулы (желатиновая/кишечнорастворимая) на выживаемость *B. bifidum* при моделировании условий ЖКТ.

Материалы и методы. Сформированы шесть экспериментальных образцов: микрокапсулы (альгинат + хитозан) без инулина и с инулином в желатиновых и кишечнорастворимых капсулах, а также контрольные группы (порошок бифидумбактерина в желатиновой и кишечнорастворимой капсулах). Моделирование условий ЖКТ проведено в соответствии с ОФС.1.4.2.0014 Государственной фармакопеи РФ XV издания: кислотная стадия (0,1 М HCl, pH 1,2, 2 ч) с последующим переходом к буферной стадии (pH 6,8). Выживаемость определяли методом подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ) на среде МРС-5.

Результаты и обсуждение. Максимальную выживаемость показал образец «микрокапсулы с инулином в кишечнорастворимой капсуле». Микрокапсулы с инулином в желатиновой капсуле обеспечили аналогичную выживаемость. Микрокапсулы без инулина продемонстрировали небольшое снижение титра клеток (кишечнорастворимая и желатиновая капсула). Порошок бифидумбактерина в желатиновой капсуле характеризовался редукцией жизнеспособных КОЕ на 2 порядка, а в кишечнорастворимой капсуле без микрокапсулирования выживаемость снизилась на 1 lg КОЕ/капсулу.

Заключение. Альгинат-хитозановое микрокапсулирование является основным фактором защиты *B. bifidum*. Включение инулина в матрицу дополнительно повышает выживаемость. Сочетание микрокапсулирования с инулином и кишечнорастворимой капсулы обеспечивает максимальную защиту, однако статистически значимого преимущества кишечнорастворимой капсулы перед желатиновой на фоне микрокапсулирования с инулином не выявлено ($p > 0,05$).

Ключевые слова: пробиотики, пребиотики, синбиотики, бифидобактерии, микрокапсулирование, альгинат натрия, хитозан, инулин

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

Вклад авторов. П. А. Андрюшков и А. Л. Марченко спланировали эксперимент. П. А. Андрюшков и Б. Г. Буденштейн проводили запланированные исследования. Т. Ф. Черных проводила микробиологическую часть эксперимента. Все авторы участвовали в обработке данных, обсуждении результатов и написании статьи.

Для цитирования: Андрюшков П. А., Марченко А. Л., Черных Т. Ф., Буденштейн Б. Г. Выживаемость бифидобактерий в альгинат-хитозановых микрокапсулах с инулином при моделировании условий желудочно-кишечного тракта. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):99–106. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2347

Поступила в редакцию: 21.04.2026
Поступила после рецензирования: 25.06.2026
Принята к публикации: 14.08.2026

© Андрюшков П. А., Марченко А. Л., Черных Т. Ф., Буденштейн Б. Г., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Andryushkov P. A., Marchenko A. L., Chernykh T. F., Budenshtein B. G., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Survival of bifidobacteria in alginate-chitosan microcapsules with inulin under simulated gastrointestinal conditions

Pavel A. Andryushkov✉, **Alexei L. Marchenko**, **Tatiana F. Chernykh**, **Boris G. Budenshtein**

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Pavel A. Andryushkov. **E-mail:** andryushkov.pavel@pharminnotech.com

Abstract

Introduction. Low viability of probiotic microorganisms during gastrointestinal (GI) transit substantially limits the therapeutic efficacy of oral probiotic formulations. Incorporating the prebiotic inulin into the microcapsule matrix and employing different types of hard capsules may further enhance bifidobacterial protection; however, a comprehensive comparison of these factors using a single GI model has not been conducted.

Aim. To evaluate the effect of inulin incorporation into alginate-chitosan microcapsules and the type of hard capsule (gelatin / enteric-coated) on the viability of *B. bifidum* under simulated GI conditions.

Materials and methods. Six experimental formulations were prepared: microcapsules (alginate + chitosan) without and with inulin, placed in gelatin and enteric-coated capsules, as well as control groups (bifidumbacterin powder in gelatin and enteric-coated capsules). GI simulation was performed according to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (XV edition, General Monograph 1.4.2.0014): acid stage (0.1 M HCl, pH 1.2, 2 h) followed by buffer stage (pH 6.8). Viability was assessed by Colony-Forming Unit (CFU) counting on MRS-5 agar.

Results and discussion. The highest survival rate was observed in the sample "microcapsules with inulin in an enteric-coated capsule". Microcapsules with inulin in a gelatin capsule provided comparable survival. Microcapsules without inulin demonstrated a slight reduction in cell titer (both enteric-coated and gelatin capsules). Bifidumbacterin powder in a gelatin capsule was characterized by a reduction of viable CFU by 2 orders of magnitude, while in an enteric-coated capsule without microencapsulation, survival decreased by 1 lg CFU/capsule.

Conclusion. Alginate-chitosan microencapsulation is the main factor protecting *B. bifidum*. Incorporation of inulin into the matrix additionally increases survival. The combination of microencapsulation with inulin and an enteric-coated capsule provides maximum protection; however, no statistically significant advantage of the enteric-coated capsule over the gelatin capsule was detected in the context of microencapsulation with inulin ($p > 0.05$).

Keywords: probiotics, prebiotics, synbiotics, bifidobacteria, microencapsulation, sodium alginate, chitosan, inulin

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

Contribution of the authors. Pavel A. Andryushkov and Alexei L. Marchenko planned the experiment. Pavel A. Andryushkov and Boris G. Budenshtein carried out the planned studies, and Tatiana F. Chernykh performed the microbiological part of the experiment. All authors participated in data processing, discussion of the results, and writing of the manuscript.

For citation: Andryushkov P. A., Marchenko A. L., Chernykh T. F., Budenshtein B. G. Survival of bifidobacteria in alginate-chitosan microcapsules with inulin under simulated gastrointestinal conditions. *Drug development & registration*. 2026;15(3):99–106. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2347

Received: 21.04.2026
Revised: 25.06.2026
Accepted: 14.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Пробиотические микроорганизмы рода *Bifidobacterium* занимают центральное место в составе нормальной микробиоты толстого кишечника человека. Они участвуют в синтезе витаминов группы В, ферментации пищевых волокон, конкурентном ингибировании патогенных микроорганизмов и модуляции иммунного ответа. Для достижения терапевтического эффекта при пероральном приеме пробиотические культуры должны сохранять жизнеспособность при прохождении через агрессивные условия желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и достигать места колонизации в достаточном количестве [1–3].

Основным ограничением пероральных пробиотических препаратов является существенная потеря жизнеспособности микроорганизмов при прохождении через ЖКТ. Кислая среда желудка (pH 1,5–3,0),

пепсин, желчные кислоты и панкреатические ферменты приводят к снижению числа жизнеспособных клеток бифидобактерий на 4–5 порядков уже в первые минуты воздействия. Свободные (немикрокапсулированные) бактериальные клетки *B. bifidum* характеризуются крайне низкой кислотоустойчивостью, что было подтверждено литературными данными [2, 4–6].

Микрокапсулирование в биополимерных матрицах является перспективным методом защиты пробиотиков от неблагоприятных условий ЖКТ. Альгинатная матрица формирует первичный барьер, ограничивающий диффузию ионов водорода, а при переходе от кислой среды желудка к слабощелочной среде кишечника гелевая структура постепенно разрушается, обеспечивая высвобождение микрокапсулированного материала [7–12]. Хитозан, хорошо растворимый в кислой среде и малорастворимый при щелочных значениях pH, используется для формирования полиэлектролитного покрытия на поверхности альгинатных частиц; такое покрытие дополнительно снижает проницаемость оболочки для ионов водорода и ферментов и позволяет регулировать кинетику высвобождения в различных отделах желудочно-кишечного тракта [7–12].

Инулин представляет собой природный полисахарид (фруктан), классифицированный как пребиотик, селективно стимулирующий рост бифидобактерий в толстом кишечнике. Включение инулина в альгинатную матрицу способствует формированию более компактной структуры микрокапсул, повышению эффективности микрокапсулирования и улучшению выживаемости пробиотиков в условиях ЖКТ. Parsana и соавт. (2023) продемонстрировали, что альгинат-инулин-хитозановая матрица обеспечивает более высокую выживаемость *Limosilactobacillus reuteri* по сравнению с системой без инулина [13]. Prasanna и Charalampopoulos (2019) показали, что добавление инулина в альгинатную матрицу приводит к формированию микрокапсул с компактной структурой и более высоким содержанием жизнеспособных клеток *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 в условиях модельного ЖКТ [14]. Аналогичные результаты получены Khosravi Zanjani и соавт. (2014) для *B. bifidum* ATCC 29521 при использовании хитозанового покрытия с инулином [15].

Дополнительным подходом к защите пробиотиков является использование твердых кишечнорастворимых капсул, которые сохраняют целостность при pH < 5,5 и растворяются в тонком кишечнике. Marzorati и соавт. (2021) установили в модели SHIME, что капсулы DRcaps обеспечивали более высокую выживаемость *L. acidophilus* и большую колонизацию в толстой кишке по сравнению с обычными капсулами. В то же время желатиновые капсулы растворяются в кислой среде желудка в течение нескольких минут и не формируют дополнительного барьера [16].

Несмотря на имеющиеся данные о каждом из перечисленных подходов в отдельности, комплексного сравнения сочетания микрокапсулирования (альгинат-хитозан ± инулин) с различными типами твердых капсул (желатиновая/кишечнорастворимая) при использовании единой модели ЖКТ ранее не проводилось.

Целью настоящей работы явилась оценка выживаемости *B. bifidum* в шести экспериментальных образцах, сочетающих микрокапсулирование с инулином и различные типы твердых капсул, при моделировании условий ЖКТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. В работе использованы: натрия альгинат (ООО «АВК», Россия), вязкость 1%-го раствора 120 мПа · с; хитозан (Hunan Yunbang Biotech Inc., Китай), степень деацетилирования >85 %, молекулярная масса 350 кДа; инулин Orafti® HSI (BENEO GmbH, Германия), степень полимеризации ≥10, чистота ≥90 %; кальция хлорид безводный (ч.д.а., АО «ВЕКТОН», Россия); бифидумбактерин, порошок для приема внутрь и местного применения (серия 82-30525, срок годности до 11.2026, ООО «ПроБиоФарм», Россия); кислота хлористоводородная (х.ч., АО «ВЕКТОН», Россия); натрия гидроксид (ч.д.а., АО «ВЕКТОН», Россия); натрия фосфат 12-водный (ч.д.а., АО «ВЕКТОН», Россия); вода очищенная (по требованиям ФС.2.2.0020 Государственной фармакопеи (ГФ) РФ XV издания); капсулы желатиновые твердые № 0 (XinChang County Top Health Capsule Co., Ltd., Китай); капсулы кишечнорастворимые № 0 (XinChang County Top Health Capsule Co., Ltd., Китай).

Оборудование. Шприцевая установка для экструзии, разработанная лабораторией аддитивных технологий СПХФУ; магнитная мешалка AREC.T (VELP, Италия); тестер растворения RC-1 с лопастной мешалкой (LPMIE, Китай); привод лабораторный ПЭ-0270 с листовой мешалкой (ООО «Экоприбор», Россия); pH-метр PH2101 (ООО «Экостаб», Россия); шприцы одноразовые стерильные Luer Lock (MedAim, Россия/Китай).

Получение микрокапсул. Раствор альгината натрия (2 %) готовили в воде очищенной при перемешивании на лабораторной мешалке ($n = 600$ об/мин) до полного растворения (~1 ч). Для образцов без инулина в раствор альгината вносили бифидобактерии (получая концентрацию суспензии 5×10^7 КОЕ/мл). Для образцов с инулином предварительно вводили инулин (10 % масс.) и бифидобактерии (получая концентрацию суспензии 5×10^7 КОЕ/мл), перемешивали до однородности.

Для подбора концентрации инулина проводили скрининг в диапазоне 1; 2; 3; 5; 7,5; 10 % (масс./масс.) от массы для микрокапсулирования. Концентрации

1–10 % обеспечивали получение круглых однородных микрокапсул без дефектов формы. При введении инулина >10 % раствор становился чрезмерно вязким, экструзия затруднялась, микрокапсулы имели неоднородную форму с «хвостиками». Для дальнейших исследований было выбрано введение 10%-го инулина как концентрации, обеспечивающей максимальный пребиотический эффект при сохранении технологичности.

Полученную суспензию экструдировали через иглу диаметром 1,8 мм в 5%-й раствор $CaCl_2$ при перемешивании на магнитной мешалке ($n = 300$ об/мин). Время выдержки в растворе $CaCl_2$ составило 15 мин. Далее микрокапсулы промывали водой очищенной и погружали в 0,4%-й раствор хитозана (pH 6,0) на 15 мин для формирования полиэлектролитного покрытия. Указанные условия были определены в предыдущем исследовании. После покрытия микрокапсулы промывали водой очищенной и высушивали в сушильном шкафу на чашках Петри в течение 24 ч при температуре 30 °C.

После сушки расчетная концентрация бифидобактерий в микрокапсулах составила $5{,}09 \times 10^8$ КОЕ/г для образцов с инулином, $8{,}15 \times 10^8$ КОЕ/г для образцов без инулина. Капсулы наполнялись сухими микрокапсулами в количестве 0,459–0,494 г.

Моделирование условий ЖКТ. Моделирование условий ЖКТ проводили в соответствии с тестом «Растворение» согласно ОФС.1.4.2.0014 ГФ РФ XV (методика для лекарственных препаратов с отсроченным высвобождением) на тестере растворения RC-1 (LPMIE, Китай), оснащенном лопастной мешалкой (37 °C, $n = 50$ об/мин).

Стадия 1 (моделирование желудка): среда растворения – 0,1 М HCl (pH 1,2), продолжительность – 2 ч. Переход к стадии 2 осуществляли без замены среды путем доведения pH до 6,8 раствором Na_3PO_4. Стадия 2 (моделирование кишечника): pH 6,8, продолжительность – до полного растворения/высвобождения содержимого.

Оценка выживаемости. Определение log КОЕ/капсулу проводили после завершения полного цикла моделирования ЖКТ методом последовательных разведений и посева на агаризованной питательной среде МРС-5 в соответствии с ОФС.1.7.2.0009.15 ГФ РФ XIV. Выживаемости оценивали как разность между исходным количеством в образце и количеством после прохождения модели ЖКТ (lg КОЕ/капсула). Исходное количество (lg КОЕ/капсула) бактерий в образцах рассчитано с учетом фактической массы высушенных микрокапсул или порошка, введенной в твердые желатиновые или кишечнорастворимые капсулы.

Статистическая обработка. Статистическую обработку проводили в программе Microsoft Office Excel 2016. Каждое испытание выполнено в трех повторностях ($n = 3$). Результаты представлены в виде

$$X \pm \Delta X,$$

где X – среднее арифметическое; ΔX – доверительный интервал ($P = 0{,}95$).

Для сравнения групп применяли однофакторный и двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с уровнем значимости $p < 0{,}05$. При множественных сравнениях использовали поправку Тьюки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках исследования было сформировано шесть экспериментальных образцов (таблица 1).

Таблица 1. Экспериментальные образцы

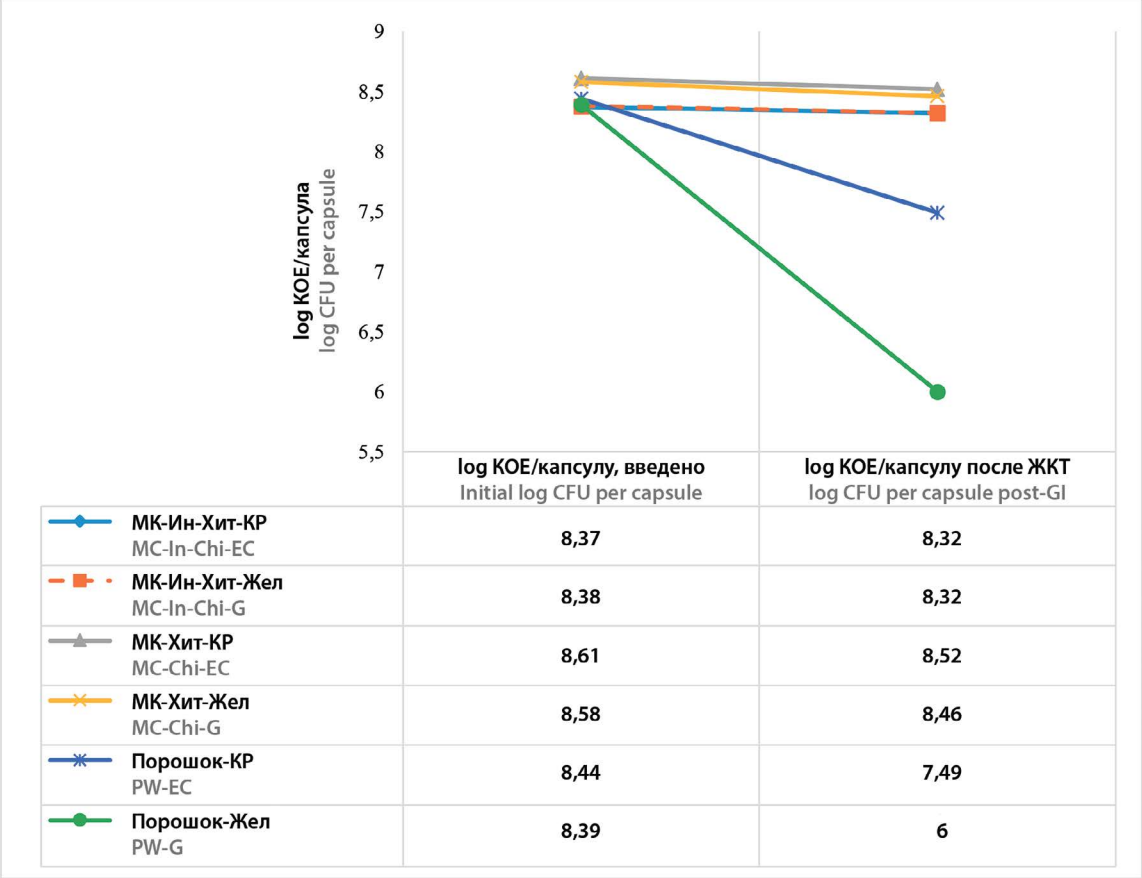
Table 1. Experimental formulations

№	Обозначение Designation	Состав Composition
1	МК-Ин-Хит-КР MC-In-Chi-EC	Микрокапсулы (альгинат + инулин + + хитозан) в кишечнорастворимой капсуле icrocapsules (alginate + inulin + chitosan) in an enteric-coated capsule
2	МК-Ин-Хит-Жел MC-In-Chi-G	Микрокапсулы (альгинат + инулин + + хитозан) в желатиновой капсуле Microcapsules (alginate + inulin + chitosan) in a gelatin capsule
3	МК-Хит-КР MC-Chi-EC	Микрокапсулы (альгинат + хитозан) в кишечнорастворимой капсуле Microcapsules (alginate + chitosan) in an enteric-coated capsule
4	МК-Хит-Жел MC-Chi-G	Микрокапсулы (альгинат + хитозан) в желатиновой капсуле Microcapsules (alginate + chitosan) in a gelatin capsule
5	Порошок-КР PW-EC	Порошок бифидумбактерина в кишечнорастворимой капсуле Bifidumbacterin powder in an enteric-coated capsule
6	Порошок-Жел PW-G	Порошок бифидумбактерина в желатиновой капсуле (контроль) Bifidumbacterin powder in a gelatin capsule (control)

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Результаты определения выживаемости *B. bifidum* во всех шести экспериментальных образцах после полного цикла моделирования условий ЖКТ (кислотная + буферная стадии) представлены на рисунке 1.

Наибольшая выживаемость зафиксирована для образца МК-Ин-Хит-КР (lg КОЕ практически не отличался от начального уровня), наименьшая – для контрольного образца Порошок-Жел (снижение lg КОЕ на 2 порядка относительно образца до моделирования ЖКТ). Различия между группами с микрокапсулированием и контрольными группами являются ста-



	log КОЕ/капсулу, введено Initial log CFU per capsule	log КОЕ/капсулу после ЖКТ log CFU per capsule post-GI
МК-Ин-Хит-КР MC-In-Chi-EC	8,37	8,32
МК-Ин-Хит-Жел MC-In-Chi-G	8,38	8,32
МК-Хит-КР MC-Chi-EC	8,61	8,52
МК-Хит-Жел MC-Chi-G	8,58	8,46
Порошок-КР PW-EC	8,44	7,49
Порошок-Жел PW-G	8,39	6

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Выживаемость B. bifidum после полного моделирования условий ЖКТ ($n = 3$, $P = 0,95$)

Figure 1. Viability of B. bifidum after complete simulated GI transit ($n = 3$, $P = 0.95$)

тистически значимыми ($p < 0,05$, ANOVA). Анализ вклада каждого уровня защиты проведен путем попарного сравнения соответствующих образцов.

Переход от немикрокапсулированного порошка в кишечнорастворимой капсуле к микрокапсулам без инулина в КР-капсуле соответствует повышению выживаемости на порядок, что статистически значимо ($p < 0,05$). При сравнении с желатиновыми капсулами увеличение жизнеспособных КОЕ еще более выражено ($p < 0,05$). Таким образом, альгинат-хитозановое микрокапсулирование является основным фактором защиты *B. bifidum*.

Добавление инулина в матрицу микрокапсул повышает выживаемость в желатиновых и кишечнорастворимых капсулах, эффект инулина статистически значим в обоих случаях, однако его абсолютная величина существенно меньше вклада микрокапсулирования.

Для кишечнорастворимых капсул без инулина или с инулином различие не достигает статистической значимости ($p > 0,05$), что указывает на то, что при наличии эффективной защиты на уровне микрокапсулы инулин не обеспечивает дополнительный барьер и не играет критической роли.

Роль микрокапсулирования. Полученные результаты подтверждают, что альгинат-хитозановое микрокапсулирование обеспечивает основной вклад в защиту *B. bifidum* при прохождении модельного ЖКТ. Выживаемость микрокапсулированных бифидобактерий без инулина ниже, что согласуется с результатами предыдущей работы авторов.

Механизм защиты основан на формировании полиэлектролитного комплекса «хитозан – альгинат» на поверхности микрокапсул: в кислой среде желудка (pH 1,5–3,0) хитозановое покрытие находится в полностью протонированном состоянии, образуя плотный барьерный слой, закрывающий поры альгинатной матрицы. При переходе в среду кишечника (pH > 6,5) происходит депротонирование аминогрупп хитозана, покрытие набухает, и клетки высвобождаются в месте предполагаемой колонизации [9, 10].

Выбор альгинат-хитозановой системы для микрокапсулирования пробиотиков также соответствует современным тенденциям разработки пероральных

лекарственных форм с модифицированным высвобождением, где сочетания гидрофильных, набухающих полимеров природного происхождения рассматриваются как один из базовых подходов к созданию матричных и покрытых систем с заданным профилем высвобождения [12].

Роль инулина. Добавление инулина в матрицу микрокапсул обеспечило дополнительный прирост выживаемости (0,04–0,06 lg КОЕ/образец). Данный результат может объясняться несколькими механизмами.

Структурный эффект: инулин заполняет поры альгинатной матрицы, формируя более компактную и плотную структуру микрокапсулы, что снижает диффузию ионов водорода и ферментов к бактериальным клеткам. Prasanna и Charalampopoulos (2019) подтвердили, что добавление инулина в альгинатную матрицу приводит к формированию микрокапсул с более плотной структурой и повышенной защитой *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 [14].

Осмопротекторный эффект: инулин может снижать осмотический стресс при сушке и последующей гидратации микрокапсул, что способствует сохранению целостности клеточных мембран. Fritzen-Freire и соавт. (2013) показали, что включение пребиотических компонентов в матрицу микрокапсул повышает устойчивость *Bifidobacterium* BB-12 к тепловым и кислотным воздействиям [17].

Пребиотический эффект: инулин создает благоприятную микросреду для бифидобактерий внутри микрокапсулы, потенциально поддерживая метаболическую активность клеток в период воздействия стрессовых факторов. Parsana и соавт. (2023) продемонстрировали, что альгинат-инулин-хитозановая матрица обеспечивает значимо более высокую выживаемость *L. reuteri* SW23 по сравнению с системой без инулина [13].

Полученные результаты согласуются с данными Khosravi Zanjani и соавт. (2014), которые показали, что микрокапсулирование *B. bifidum* ATCC 29521 в кальций-альгинат-крахмальной матрице с хитозановым покрытием и инулином обеспечивает значимо более высокую выживаемость по сравнению с микрокапсулами без инулина при инкубации в модельном желудочном (pH 1,5, пепсин) и кишечном (pH 8,0, панкреатин, желчные кислоты) соках [15].

Роль типа твердой капсулы. Желатиновая капсула растворяется в кислой среде желудка (pH 1,2) в течение нескольких минут и не обеспечивает дополнительной защиты содержимого, что подтверждается снижением КОЕ на 2 порядка в контрольном образце. Кишечнорастворимая капсула сохраняет целостность при pH < 5,5 и растворяется в тонком кишечнике. В контрольной группе переход от желатиновой капсулы к кишечнорастворимой повысил выживаемость порошка на полтора порядка (с 6 lg до 7,49 lg КОЕ/образец), что подтверждает защитную роль капсулы, однако данный уровень защиты является недостаточным для эффективной доставки пробиотика.

Аналогичные результаты получены Marzorati и соавт. (2021) в модели SHIME: капсулы DRcaps обеспечивали более высокую выживаемость *L. acidophilus* и большую колонизацию в толстой кишке по сравнению с обычными капсулами [16].

На фоне микрокапсулирования эффект кишечнорастворимой капсулы существенно не выражен. Разница между МК-Ин-Хит-Жел и МК-Ин-Хит-КР не достигает статистической значимости ($p > 0,05$), что свидетельствует о том, что при высоком уровне защиты на уровне микрокапсулы с инулином дополнительный барьер кишечнорастворимой капсулы не приводит к статистически значимому улучшению в условиях использованной модели ЖКТ.

Синергия трех уровней защиты. Образец МК-Ин-Хит-КР объединяет три уровня защиты: инулин в матрице (микросреда), альгинат-хитозановая микрокапсула (мезоуровень), кишечнорастворимая капсула (макроуровень) – и демонстрирует наивысшую выживаемость, и вместе с тем образец МК-Ин-Хит-Жел практически не уступает лучшему образцу. Разница (незначительная) составляет лишь 0,01 lg КОЕ/образец и находится в пределах доверительного интервала. С учетом того, что кишечнорастворимые капсулы стоят в 3–5 раз дороже стандартных желатиновых капсул, с экономической точки зрения при наличии эффективной защиты на уровне микрокапсулы с инулином использование обычных желатиновых капсул представляется оправданным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Альгинат-хитозановые микрокапсулы обеспечивают основной вклад в защиту *B. bifidum* при моделировании условий ЖКТ, увеличивая выживаемость в зависимости от типа твердой капсулы. Добавление инулина (10 %) в альгинатную матрицу микрокапсул дополнительно повышает выживаемость на 0,04–0,06 lg КОЕ/образец, вероятно, за счет комбинации структурного, осмопротекторного и пребиотического эффектов, что согласуется с литературными данными по синбиотическим микрокапсулам на основе альгинат-инулина.

Кишечнорастворимая капсула без микрокапсулирования обеспечивает ограниченную защиту, тогда как в сочетании с микрокапсулами обеспечивает снижение жизнеспособности клеток всего лишь на 0,05 lg КОЕ/образец, выступая дополнительным барьером. При наличии эффективной защиты на уровне микрокапсулы с инулином различие в выживаемости между желатиновой (падение на 0,06 lg КОЕ/образец) и кишечнорастворимой (падение на 0,05 lg КОЕ/образец) капсулами статистически незначимо ($p > > 0,05$). С учетом более высокой стоимости кишечнорастворимых капсул оптимальной с экономической точки зрения представляется комбинация: альгинат-хитозановые микрокапсулы с инулином в желатиновых капсулах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Раскина К. В., Мартынова Е. Ю., Фатхутдинов И. Р., Потешкин Ю. Е. Современные бактериологические препараты: влияние на микробиоту кишечника и роль в лечении заболеваний. *Русский Медицинский Журнал*. 2018;26(5–2):86–91.
2. Кайбышева В. О., Никонов Е. Л. Пробиотики с позиций доказательной медицины. *Доказательная гастроэнтерология*. 2019;8(3):45–54. https://doi.org/10.17116/dokgastro2019803145
3. Han S., Lu Y., Xie J., Fei Y., Zheng G., Wang Z., Liu J., Lv L., Ling Z., Berglund B., Yao M., Li L. Probiotic gastrointestinal transit and colonization after oral administration: A long journey. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021;11:609722. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722
4. Chávarri M., Marañón I., Ares R., Ibáñez F. C., Marzo F., Villarán M. C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;142(1–2):185–189. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.022
5. Sánchez B., Champomier-Vergès M.-C., Collado M. C., Anglade P., Baraige F., Sanz Y., de los Reyes-Gavilán C. G., Margolles A., Zagorec M. Low-pH adaptation and the acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* biotype longum. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007;73(20):6450–6459. https://doi.org/10.1128/AEM.00886-07
6. Alp G., Aslim B. Relationship between the resistance to bile salts and low pH with exopolysaccharide (EPS) production of *Bifidobacterium* spp. isolated from infants feces and breast milk. *Anaerobe*. 2010;16(2):101–105. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.06.006
7. Wang X., Gao S., Yun S., Zhang M., Peng L., Li Y., Zhou Y. Microencapsulating alginate-based polymers for probiotics delivery systems and their application. *Pharmaceuticals*. 2022;15(5):644. https://doi.org/10.3390/ph15050644
8. Cook M. T., Tzortzis G., Charalampopoulos D., Khutoryanskiy V. V. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*. 2012;162(1):56–67. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.003
9. Ji R., Wu J., Zhang J., Wang T., Zhang X., Shao L., Chen D., Wang J. Extending viability of *Bifidobacterium longum* in chitosan-coated alginate microcapsules using emulsification and internal gelation encapsulation technology. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:1389. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01389
10. Hamman J. H. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems. *Marine Drugs*. 2010;8(4):1305–1322. https://doi.org/10.3390/md8041305
11. Yeung T. W., Üçok E. F., Tiani K. A., McClements D. J., Sela D. A. Microencapsulation in alginate and chitosan microgels to enhance viability of *Bifidobacterium longum* for oral delivery. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:494. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00494
12. Коцур Ю. М., Флисюк Е. В. Современные полимеры в технологии таблеток с пролонгированным высвобождением. *Формулы Фармации*. 2020;2(1):36–43. https://doi.org/10.17816/phf21267
13. Parsana Y., Yadav M., Kumar S. Microencapsulation in the chitosan-coated alginate-inulin matrix of *Limosilactobacillus reuteri* SW23 and *Lactobacillus salivarius* RBL50 and their characterization. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 2023;5:100285. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100285
14. Prasanna P. H. P., Charalampopoulos D. Encapsulation in an alginate-goats' milk-inulin matrix improves survival of probiotic *Bifidobacterium* in simulated gastrointestinal conditions and goats' milk yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*. 2019;72(1):132–141. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12568
15. Khosravi Zanjani M. A., Ghiassi Tarzi B., Sharifan A., Mohammadi N., Mohammadi N. Microencapsulation of probiotics by calcium alginate-gelatinized starch with chitosan coating and evaluation of survival in simulated human gastro-intestinal condition. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2014;13(3):843–852.
16. Marzorati M., Calatayud M., Rotsaert C., Van Mele M., Duysburgh C., Durkee S., White T., Fowler K., Jannin V., Bellamine A. Comparison of protection and release behavior of different capsule polymer combinations based on *L. acidophilus* survivability and function and caffeine release. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;607:120977. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120977
17. Fritzen-Freire C. B., Prudêncio E. S., Pinto S. S., Muñoz I. B., Amboni R. D. M. C. Effect of microencapsulation on survival of *Bifidobacterium* BB-12 exposed to simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. *LWT – Food Science and Technology*. 2013;50(1):39–44. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.037

REFERENCES

1. Raskina K. V., Martynova E. Yu., Fatkhutdinov I. R., Poteshkin Yu. E. Modern bacteriological agents: the effect on gut microbiota and the role in the treatment of diseases. *Russian Medical Journal*. 2018;26(5–2):86–91. (In Russ.)
2. Kaibysheva V. O., Nikonov E. L. Probiotics from the standpoint of evidence-based medicine. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2019;8(3):45–54. (In Russ.) https://doi.org/10.17116/dokgastro2019803145
3. Han S., Lu Y., Xie J., Fei Y., Zheng G., Wang Z., Liu J., Lv L., Ling Z., Berglund B., Yao M., Li L. Probiotic gastrointestinal transit and colonization after oral administration: A long journey. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021;11:609722. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722
4. Chávarri M., Marañón I., Ares R., Ibáñez F. C., Marzo F., Villarán M. C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;142(1–2):185–189. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.022
5. Sánchez B., Champomier-Vergès M.-C., Collado M. C., Anglade P., Baraige F., Sanz Y., de los Reyes-Gavilán C. G., Margolles A., Zagorec M. Low-pH adaptation and the acid tolerance response of *Bifidobacterium longum* biotype longum. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007;73(20):6450–6459. https://doi.org/10.1128/AEM.00886-07

6. Alp G., Aslim B. Relationship between the resistance to bile salts and low pH with exopolysaccharide (EPS) production of *Bifidobacterium* spp. isolated from infants feces and breast milk. *Anaerobe*. 2010;16(2):101–105. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.06.006
7. Wang X., Gao S., Yun S., Zhang M., Peng L., Li Y., Zhou Y. Microencapsulating alginate-based polymers for probiotics delivery systems and their application. *Pharmaceuticals*. 2022;15(5):644. https://doi.org/10.3390/ph15050644
8. Cook M. T., Tzortzis G., Charalampopoulos D., Khutoryanskiy V. V. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*. 2012;162(1):56–67. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.003
9. Ji R., Wu J., Zhang J., Wang T., Zhang X., Shao L., Chen D., Wang J. Extending viability of *Bifidobacterium longum* in chitosan-coated alginate microcapsules using emulsification and internal gelation encapsulation technology. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10:1389. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01389
10. Hamman J. H. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems. *Marine Drugs*. 2010;8(4):1305–1322. https://doi.org/10.3390/md8041305
11. Yeung T. W., Üçok E. F., Tiani K. A., McClements D. J., Sela D. A. Microencapsulation in alginate and chitosan microgels to enhance viability of *Bifidobacterium longum* for oral delivery. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:494. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00494
12. Kotsur J. M., Flisyuk E. V. Modern polymers in prolonged release tablet technology. *Pharmacy Formulas*. 2020;2(1):36–43. (In Russ.) https://doi.org/10.17816/phf21267
13. Parsana Y., Yadav M., Kumar S. Microencapsulation in the chitosan-coated alginate-inulin matrix of *Limosilactobacillus reuteri* SW23 and *Lactobacillus salivarius* RBL50 and their characterization. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 2023;5:100285. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100285
14. Prasanna P. H. P., Charalampopoulos D. Encapsulation in an alginate-goats' milk-inulin matrix improves survival of probiotic *Bifidobacterium* in simulated gastrointestinal conditions and goats' milk yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*. 2019;72(1):132–141. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12568
15. Khosravi Zanjani M. A., Ghiassi Tarzi B., Sharifan A., Mohammadi N., Mohammadi N. Microencapsulation of probiotics by calcium alginate-gelatinized starch with chitosan coating and evaluation of survival in simulated human gastro-intestinal condition. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2014;13(3):843–852.
16. Marzorati M., Calatayud M., Rotsaert C., Van Mele M., Duysburgh C., Durkee S., White T., Fowler K., Jannin V., Bellamine A. Comparison of protection and release behavior of different capsule polymer combinations based on *L. acidophilus* survivability and function and caffeine release. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;607:120977. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120977
17. Fritzen-Freire C. B., Prudêncio E. S., Pinto S. S., Muñoz I. B., Amboni R. D. M. C. Effect of microencapsulation on survival of *Bifidobacterium* BB-12 exposed to simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. *LWT – Food Science and Technology*. 2013;50(1):39–44. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.037

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.322; 661.123

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2390

Check for updates

CC BY 4.0

Определение пространства дизайна и нормального рабочего диапазона параметров процесса получения очищенного экстракта конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян

А. А. Полещук[1]✉, В. В. Сорокин[1], И. Е. Каухова[1], М. Д. Медведева[1], Л. Ю. Александрова[1], А. В. Сауц[1, 2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

[2] Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский университет технологий управления и экономики» (ЧОУ ВО СПбУТУиЭ). 190020, Россия, г. Санкт-Петербург, Лермонтовский проспект, д. 44, лит. А

✉ **Контактное лицо:** Полещук Анастасия Андреевна. **E-mail:** anastasiya.poleshchuk@spcpu.ru

Резюме

Введение. Семена каштана конского являются перспективным источником тритерпеновых сапонинов – эсцинов (β-эсцина), обладающих венотонизирующим, ангиопротекторным и противовоспалительным действием. Производство субстанции β-эсцина в России отсутствует, что определяет актуальность разработки воспроизводимой технологии получения очищенного экстракта конского каштана семян с высоким содержанием эсцинов.

Цель. Определение оптимальных параметров экстракции тритерпеновых сапонинов из конского каштана семян методом многофакторной оптимизации, разработка технологии очистки извлечения и установление нормального диапазона параметров процесса.

Материалы и методы. Оптимизацию процесса экстракции проводили по плану Бокса – Бенкена. Исследовали влияние концентрации спирта этилового, температуры, гидромодуля и длительности экстракции на выход суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин. Компонентный состав эсцинов устанавливали методом ВЭЖХ-МС с детекцией в режиме ESI+/ESI–. Количественное содержание сапонинов в извлечении определяли методом спектрофотометрии, β-эсцина в полученном продукте – методом ВЭЖХ.

Результаты и обсуждение. Построена квадратичная регрессионная модель процесса экстракции. Установлено, что определяющее влияние на выход сапонинов оказывают гидромодуль и концентрация экстрагента, а фактор температуры в принятых пределах статистически незначим. Оптимальные условия экстракции: концентрация спирта этилового – 49 %, температура – 45 °C, гидромодуль – 1 : 12, длительность процесса – 90 мин; прогнозируемый выход – 75,6 %. В соответствии с принципами ICH Q8(R2) определено пространство дизайна процесса (DS) ($Y \geq 65$ %) и нормальный рабочий диапазон (NOR). Методом ВЭЖХ-МС в очищенном экстракте идентифицированы 7 структурных групп эсцинов.

Заключение. Для процесса экстракции тритерпеновых сапонинов из конского каштана семян установлено пространство дизайна (Design Space) и нормальный рабочий диапазон в рамках концепции ICH Q8(R2) / QbD, что обеспечивает получение очищенного экстракта с воспроизводимыми показателями качества.

Ключевые слова: экстракция, конского каштана семена, тритерпеновые сапонины, эсцин, план Бокса – Бенкена, пространство дизайна, QbD

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

Вклад авторов. А. А. Полещук, В. В. Сорокин осуществляли постановку задачи. А. А. Полещук провела экспериментальную работу по экстрагированию и очистке экстракта. М. Д. Медведева провела экспериментальную работу по анализу полученного экстракта. Все авторы участвовали в обработке и анализе данных, обсуждении результатов и написании статьи.

© Полещук А. А., Сорокин В. В., Каухова И. Е., Медведева М. Д., Александрова Л. Ю., Сауц А. В., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Poleshchuk A. A., Sorokin V. V., Kaukhova I. E., Medvedeva M. D., Aleksandrova L. Yu., Sauts A. V., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Полещук А. А., Сорокин В. В., Каухова И. Е., Медведева М. Д., Александрова Л. Ю., Сауц А. В. Определение пространства дизайна и нормального рабочего диапазона параметров процесса получения очищенного экстракта конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):107–118. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2390

Поступила в редакцию: 05.06.2026
Поступила после рецензирования: 13.07.2026
Принята к публикации: 14.08.2026

Determination of design space and normal operating range of process parameters to produce purified *Aesculus hippocastanum* L. seed extract

Anastasiya A. Poleshchuk[1]✉, Vladislav V. Sorokin[1], Irina E. Kaukhova[1], Mariya D. Medvedeva[1], Lubov Yu. Aleksandrova[1], Artur V. Sauts[1, 2]

[1] Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia
[2] Saint Petersburg University of Management Technologies and Economics. 44A, Lermontovsky prospect, Saint Petersburg, 190020, Russia

✉ **Corresponding author:** Anastasiya A. Poleshchuk. **E-mail:** anastasiya.poleshchuk@spcpu.ru

Abstract

Introduction. *Aesculus hippocastanum* L. seeds are a promising source of triterpene saponins – escin (β-escin) possessing venotonic, angioprotective, and anti-inflammatory activities. The production of β-escin substance in Russia is currently absent, which determines the relevance of developing a reproducible technology for obtaining purified horse chestnut seed extract with a high escin content.

Aim. To determine the optimal extraction parameters of triterpene saponins from *Aesculus hippocastanum* L. seeds using multivariate optimization, to develop an extract purification procedure, and to establish the Normal Operating Range of process parameters.

Materials and methods. Extraction process optimization was performed according to a Box – Behnken design. The effects of ethanol concentration, temperature, solid-to-solvent ratio, and extraction time on the yield of total triterpene saponins expressed as β-escin were investigated. The chemical composition of the extract was determined by HPLC-MS with ESI+/ESI– detection. The quantitative content of saponins in the extract was determined by spectrophotometry; β-escin content in the purified extract was determined by HPLC.

Results and discussion. A quadratic regression model of the extraction process was developed. The solid-to-solvent ratio and ethanol concentration were identified as the primary factors affecting saponin yield, while temperature within the studied range was found to be statistically non-significant. The optimal extraction conditions were: ethanol concentration – 49 %, temperature – 45 °C, solid-to-solvent ratio – 1 : 12, extraction time – 90 min; the predicted yield was 75.6 %. In accordance with ICH Q8(R2) principles, the Design Space (DS) ($Y \geq 65$ %) and the Normal Operating Range (NOR) were established. Seven structural groups of escins were identified in the purified extract by HPLC-MS.

Conclusion. The Design Space and Normal Operating Range for the extraction process of triterpene saponins from *Aesculus hippocastanum* L. seeds were established within the ICH Q8(R2) / QbD framework, ensuring the production of purified extract with reproducible quality attributes.

Keywords: extraction, horse chestnut seeds, triterpene saponins, escin, Box – Behnken design, Design Space, QbD

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

Contribution of the authors. Anastasiya A. Poleshchuk and Vladislav V. Sorokin formulated the research objectives. Anastasiya A. Poleshchuk performed the experimental work on extraction and purification of the extract. Mariya D. Medvedeva performed the experimental work on analysis of the obtained extract. All authors participated in data processing and analysis, discussion of the results, and writing of the manuscript.

For citation: Poleshchuk A. A., Sorokin V. V., Kaukhova I. E., Medvedeva M. D., Aleksandrova L. Yu., Sauts A. V. Determination of design space and normal operating range of process parameters to produce purified *Aesculus hippocastanum* L. seed extract. *Drug development & registration.* 2026;15(3):107–118. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2390

Received: 05.06.2026
Revised: 13.07.2026
Accepted: 14.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Препараты на основе конского каштана семян экстракта (*Aesculus hippocastanum* L.) применяются в терапии хронических заболеваний вен, геморроя, а также в косметической и нутрицевтической промышленности [1–3]. Значительный фармакологический интерес представляет комплекс изомерных форм тритерпеновых сапонинов – эсцинов, среди которых наибольшую терапевтическую активность проявляет β-эсцин. Соединение обладает сложной полициклической амфифильной структурой и способно ингибировать лизосомальные гидролазы, снижая проницаемость сосудистых стенок и подавление медиаторов воспаления [4].

В Российской Федерации производство обогащенного эсцином экстракта не развито, а субстанции β-эсцина отсутствует. Получение экстракта с высоким содержанием β-эсцина путем переработки отечественного лекарственного растительного сырья – конского каштана семян с учетом ареала его произрастания на территории России представляется технологически реализуемой и экономически целесообразной задачей.

Экстракция – сложный многофакторный процесс, зависящий от природы экстрагента и его концентрации, гидромодуля, температуры, длительности и способа интенсификации массопереноса [5–7]. Традиционный подход, заключающийся в проведении однофакторных экспериментов, не учитывает межфакторных взаимодействий и сопряжен с высоким риском ошибочной интерпретации результатов при значительных временных и материальных затратах. Современная фармацевтическая разработка в контексте концепции «качество через разработку» (QbD) предполагает применение методов планирования экспериментов (DoE), позволяющих с минимальным числом опытов построить математическую модель процесса и определить пространство дизайна (DS) – диапазон параметров, гарантирующий достижение заданного качества продукта и нормальные рабочие диапазоны параметров процесса (NOR). DS зависит от многих производственных факторов, таких как используемая технология, вид и параметры сырья и др. Данные о применении методологии QbD для оптимизации экстракции сапонинов из конского каштана семян и об определении рабочих диапазонов параметров процесса в доступной литературе ограничены, что затрудняет разработку воспроизводимой и масштабируемой технологии.

Цель исследования состояла в определении оптимальных параметров экстракции тритерпеновых сапонинов из конского каштана семян путем многофакторной оптимизации на основе плана Бокса – Бенкена, определении DS и NOR в соответствии с требованиями ICH Q8(R2), а также разработке схемы очистки полученного извлечения и установлении его состава методом ВЭЖХ-МС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись конского каштана семена, собранные в октябре 2024 г. в Санкт-Петербурге. Семена измельчали до 0,5–5,0 мм с помощью ножевой мельницы РМ-120 (ООО «ВИБРОТЕХНИК», Россия) и сушили в полочной сушилке с конвективным подводом тепла ПАХТ-СШ-СД (ООО «Тримбирт», Россия) до остаточной влажности не более 14 %. Влажность сырья измеряли на анализаторе влажности «Эвлас-2М» (ООО «ТД Сибагроприбор», Россия).

В качестве экстрагента использовали спирт этиловый различной концентрации, приготовленный из 96%-го спирта этилового класса «люкс» (АО «Аминосиб», Россия) и воды очищенной. Для определения массы использовали весы HCB 602 (Adam Equipment Co. Ltd., Великобритания). Экстракцию проводили при перемешивании верхнеприводной турбинной мешалкой MINISTAR 20 control (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Германия) при скорости вращения 300 об/мин и поддержании температуры с помощью циркуляционного термостата LT-200 (АО «ЛОИП», Россия). Концентрацию спирта этилового, гидромодуль, температуру и длительность экстракции варьировали в соответствии с разработанным планом эксперимента.

Для получения очищенного экстракта использовали петролейный эфир 40–70 (х.ч., ООО «АО РЕАХИМ», Россия) и бутанол-1 (х.ч., ООО «АО РЕАХИМ», Россия). Обезжиривание сырья петролейным эфиром проводили при перемешивании и нагревании до 45–50 °С в течение 1 ч при гидромодуле 1 : 1,7 с последующей декантацией эфира и сушкой сырья при 30 °С до полного удаления растворителя. Обезжиренное сырье экстрагировали в соответствии с матрицей плана эксперимента (таблица 3), после чего извлечение очищали от водорастворимых балластных веществ методом трехкратной жидкостной экстракции спиртом бутиловым (гидромодули 1 : 1,5; 1 : 1 и 1 : 0,5) при нагревании и перемешивании в течение 30 мин (мешалка магнитная ММ-5, Россия). Бутанольные извлечения объединяли и выпаривали с порционным добавлением воды на установке для простой перегонки. Водные извлечения сушили в полочной сушилке при 30 °С до остаточной влажности не более 3,5 %.

Количественное содержание суммы тритерпеновых сапонинов устанавливали спектрофотометрически в соответствии с валидированной методикой [8] с использованием спектрофотометра УФ-1800 (Shanghai Mapada Instruments Co., Ltd., Китай) и концентрированной серной кислоты (х.ч., АО «ВЕКТОН», Россия).

Количественное содержание β-эсцина в готовом продукте определяли методом ВЭЖХ. Хроматографические условия: колонка Luna 5 µm C18(2) 100 Å, 250 × 4,6 мм, подвижная фаза: ацетонитрил (ос.ч., ООО «НПК Криохром», Россия) (40 %), раствор муравьиной кислоты (98–100 %, Agilent Technologies,

США) 0,1 % (60 %), изократический режим элюирования. Пробоподготовку проводили следующим образом: высушенный очищенный экстракт в количестве 10 мг растворяли в мерной колбе вместимостью 10,0 мл в спирте этиловом 96%-м на ультразвуковой бане «Сапфир-4,0-ТТЦ» (ООО «Сапфир», Россия), после чего фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм. Далее брали аликвоту 1,0 мл и помещали в мерную колбу на 10,0 мл, доводили до метки растворителем пробы (ацетонитрил – вода 50:50).

Качественный состав тритерпеновых сапонинов в очищенных экстрактах устанавливали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС). Анализ проводили на системе Thermo Scientific Accela (Thermo Fisher Scientific, США), оснащенной диодно-матричным детектором (PDA) и тройным квадрупольным масс-спектрометром TSQ Quantum Access MAX (Thermo Fisher Scientific, США) с ионизацией электрораспылением (ESI). Детекцию осуществляли одновременно в положительном (ESI+) и отрицательном (ESI–) режимах ионизации. Регистрацию масс-спектров – в режиме полного сканирования (Full Scan, Q1MS) в диапазоне m/z 50–1500 Да [9].

Хроматографическое разделение проводили на колонке ZORBAX Eclipse Plus C18 (150 × 4,6 мм, размер частиц 1,8 мкм; Agilent Technologies, США) при температуре термостата колонки 35 °C. Объем вводимой пробы составлял 10 мкл. В качестве подвижной фазы использовали: фаза А – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде очищенной, фаза В – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Элюирование проводили в градиентном режиме при скорости потока 1,0 мл/мин. Пробоподготовку осуществляли следующим образом: высушенный очищенный экстракт растворяли в спирте метиловом (ос.ч., ООО «Аквametрия», Россия) до концентрации 1 мг/мл, помещали в ультразвуковую баню на 1–2 мин до полного растворения, после чего фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм.

Идентификацию β-эсцина осуществляли сравнением времен удерживания и значений молекулярных ионов испытуемого экстракта со стандартным образцом β-эсцина (ChemCruz). Критерием идентификации являлось совпадение времени удерживания в пределах $\Delta RT \leq 0{,}15$ мин и значений молекулярных ионов $[M-H]^-$ в пределах $\Delta m/z \leq 0{,}5$ Да. Идентификацию прочих структурных групп эсцинов проводили на основании значений молекулярных ионов в области отрицательной ионизации в соответствии с литературными данными [10]. Обработку хроматографических данных проводили с использованием программного обеспечения Xcalibur (Thermo Fisher Scientific, США).

При планировании эксперимента применяли дизайн Бокса – Бенкена (BBD), включающий 24 основные и 3 центральные точки ($n = 27$). Выбор BBD обусловлен его эффективностью при изучении квадратичных эффектов и отсутствием угловых точек, что снижает риск нереализуемых экстремальных условий при масштабировании процесса.

Для получения упрощенной модели с улучшенными характеристиками применяли двунаправленную пошаговую регрессию (Stepwise): критерий включения p (вход) = 0,05; критерий исключения p (выход) = = 0,10. Данный метод предпочтителен при малом объеме выборки ($n = 27$, число потенциальных предикторов $p = 14$, отношение $n/p < 2$). Робастность отбора предикторов дополнительно проверяли методом LASSO-регрессии с подбором параметра λ по LOO-кросс-валидации.

Оценка адекватности модели включала расчет коэффициента детерминации R^2 и скорректированного параметра R^2_{adj}, критерия Lack of Fit, предсказательного показателя Q^2, стандартную ошибку предсказания RMSE (LOO). Модель считали адекватной при выполнении следующих условий: Lack of Fit незначим ($p > 0{,}05$); $Q^2 > 0{,}50$; $R^2 - Q^2 < 0{,}20$. Статистически значимыми признавали результаты при $p < 0{,}05$.

Определение оптимума и пространства дизайна проводили аналитически из уравнения регрессии и в соответствии с принципами ICH Q8(R2). Исследуемые критические параметры (CPPs) и критический показатель качества (CQA) процесса экстракции приведены в таблице 1.

Таблица 1. CQA и CPPs

Table 1. CQA and CPPs

CPPs	CQA
Концентрация экстрагента (EtOH), % Температура, °C Гидромодуль Длительность, мин Extractant concentration (EtOH), % Temperature, °C Solid-to-solvent ratio Extraction time, min	Выход суммы тритерпеновых сапонинов, % ($Y \geq 65$ %) Total triterpene saponin yield, % ($Y \geq 65$ %)

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Статистическую обработку данных осуществляли в среде Python 3.12 с использованием библиотек NumPy, SciPy и scikit-learn. Верификацию расчетов проводили с использованием программы JMP Pro 17.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экстракцию оптимизировали по плану Бокса – Бенкена, в соответствии с которым были получены 27 извлечений.

Предварительно авторами был выполнен скрининговый анализ факторов, влияющих на процесс экстракции, и их рациональных пределов варьирования. Факторы и уровни варьирования представлены в таблице 2. Порядок проведения опытов рандомизировали для снижения влияния неконтролируемых факторов. Матрица планирования эксперимента представлена в таблице 3.

Таблица 2. Факторы и уровни варьирования плана Бокса – Бенкена

Table 2. Factors and variation levels of the Box – Behnken Design

Фактор Factor	Обозначение Symbol	–1	0 (центр) 0 (center)	+1	Шаг варьирования Step size
Концентрация экстрагента (EtOH), % Extractant concentration (EtOH), %	X_1	45	65	85	20
Температура, °C Temperature, °C	X_2	30	45	60	15
Гидромодуль Solid-to-solvent ratio	X_3	5	8,5	12	3,5
Длительность, мин Extraction time, min	X_4	45	67,5	90	22,5

Примечание. X_1 – концентрация экстрагента, %; X_2 – температура, °C; X_3 – гидромодуль; X_4 – длительность экстракции, мин. Кодированные значения факторов рассчитывали по формуле $x_i = (X_i - X_{i0})/\Delta X_i$, где X_{i0} – центральный уровень, ΔX_i – шаг варьирования.

Note. X_1 – extractant concentration, %; X_2 – temperature, °C; X_3 – liquid-to-solid ratio; X_4 – extraction time, min. Coded factor values were calculated using the formula $x_i = (X_i - X_{i0})/\Delta X_i$, where X_{i0} – central level and ΔX_i – variation step.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Определяли содержание сапонинов в экстрактах, полученных при установленных планом значениях факторов, и производили оценку выхода сапонинов по отношению к содержанию в сырье. Результаты исследования выхода сапонинов представлены в таблице 3. Выход сапонинов изменялся от 37,54 % (min) до 76,85 % (max).

Первичный анализ данных с включением 14 членов полной квадратичной модели показал, что большинство взаимодействий факторов статистически незначимы, а скорректированный коэффициент детерминации составил $R^2_{adj} = 0{,}743$ при $R^2 = 0{,}882$. Высокое значение R^2 при умеренном R^2_{adj} свидетельствует о переобученности полной модели. Для получения модели с улучшенными предсказательными характеристиками использовали метод двунаправленной пошаговой регрессии. В полученную модель вошли пять статистически значимых членов. Уравнение регрессии в кодированных переменных имеет вид:

$$Y = 56{,}478 - 8{,}422 \cdot X_1 - 5{,}298 \cdot X_1^2 + 10{,}310 \cdot X_3 + 5{,}435 \cdot X_4,$$

где

$$X_1 = (X_1 - 65)/20;\ X_3 = (X_3 - 8{,}5)/3{,}5;\ X_4 = (X_4 - 67{,}5)/22{,}5.$$

Таблица 3. Матрица планирования эксперимента и результаты исследования выхода сапонинов

Table 3. Experimental design matrix and saponin yield results

№	Уровень фактора Pattern	X_1, %	X_2, °C	X_3	X_4, мин X_4, min	*Y*, %
1	+0–0	85	45	5	67,5	37,75
2	+–00	85	30	8,5	67,5	39,76
3	0	65	45	8,5	67,5	59,72
4	+0+0	85	45	12	67,5	54,03
5	–00+	45	45	8,5	90	64,56
6	00+–	65	45	12	45	49,75
7	0++0	65	60	12	67,5	69,17
8	0	65	45	8,5	67,5	56,08
9	00––	65	45	5	45	37,54
10	0–0–	65	30	8,5	45	48,55
11	00–+	65	45	5	90	49,74
12	–0–0	45	45	5	67,5	48,37
13	––00	45	30	8,5	67,5	56,19
14	–00–	45	45	8,5	45	59,56
15	0+0–	65	60	8,5	45	53,70
16	++00	85	60	8,5	67,5	46,34
17	+00–	85	45	8,5	45	40,20
18	0–+0	65	30	12	67,5	71,03
19	00++	65	45	12	90	76,85
20	–+00	45	60	8,5	67,5	64,46
21	0+0+	65	60	8,5	90	70,08
22	0+–0	65	60	5	67,5	43,45
23	0–0+	65	30	8,5	90	54,82
24	0––0	65	30	5	67,5	44,73
25	0	65	45	8,5	67,5	61,96
26	–0+0	45	45	12	67,5	64,47
27	+00+	85	45	8,5	90	38,47

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Анализ коэффициентов уравнения показывает, что наибольшее положительное влияние на выход сапонинов оказывает гидромодуль ($b_3 = +10{,}310$), так как увеличение объема экстрагента интенсифицирует диффузию сапонинов из сырья за счет роста градиента концентрации. Концентрация спирта этилового вошла в модель как линейным ($b_1 = -8{,}422$), так и квадратичным ($b_{11} = -5{,}298$) членами, описывая параболическую зависимость с максимумом при ~49 % спирта этилового. Длительность экстракции оказы-

вает умеренный положительный эффект ($b_4 = +5{,}435$). Температура не вошла в итоговое уравнение как статистически незначимый фактор ($p = 0{,}18$), что согласуется с литературными данными о термостабильности сапонинов и их хорошей растворимости в исследованном диапазоне температур 30–60 °C.

Таблица 4. Дисперсионный анализ (ANOVA) итоговой модели

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) for the final model

Источник Source	SS	df	MS	F	p
Регрессия Regression	2668,24	4	667,06	23,574	<0,00001
Остаток Residual	622,52	22	28,30	–	–
Отсутствие подгонки Lack of fit	604,91	20	30,25	3,434	0,250
Ошибка Pure error	17,61	2	8,81	–	–
Итого Total	3290,77	26	–	–	–

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Полученные данные свидетельствуют об адекватности модели. Скорректированный коэффициент детерминации составил $R^2_{adj} = 0{,}776$, среднеквадратичная ошибка RMSE = 4,80 %. Предсказательная способность модели подтверждена скользящим контролем (LOO-кросс-валидация): $Q^2 = 0{,}701$, RMSE(LOO) = 6,04 %; разность $R^2 - Q^2 = 0{,}110 < 0{,}20$, что соответствует критериям отсутствия переобучения.

Нормальность распределения остатков регрессионной модели была проверена с использованием критерия Шапиро – Уилка ($W = 0{,}955$, $p = 0{,}284$).

Оптимальные условия и пространство дизайна определяли аналитически из уравнения регрессии. Вершина параболы по фактору «концентрация спирта этилового» соответствует значению $X_1 = 49$ %. Максимальные значения по гидромодулю и длительности соответствуют верхним границам плана. Таким образом, расчетные оптимальные условия экстракции следующие: концентрация спирта этилового – 49 %, температура – 45 °C, гидромодуль – 1:12, длительность процесса экстракции – 90 мин; прогнозируемый выход – 75,6 %.

На основании построенной модели в соответствии с принципами ICH Q8(R2) определено DS процесса экстракции (таблица 6, рисунок 1). В качестве критического показателя качества принят выход суммы тритерпеновых сапонинов $Y \geq 65$ %, установленный с учетом неопределенности модели (RMSE = 4,80 %) и технологического запаса воспроизводимости.

Таблица 5. Коэффициенты регрессионной модели

Table 5. Regression model coefficients

Член модели Parameter	Коэффициент Coefficient	Станд. отклонение Standard deviation	t	p
b_0 (свободный член) b_0 (intercept)	+56,478	1,348	41,89	<0,0001
b_1 (X_1, концентрация этанола) b_1 (X_1, ethanol concentration)	–8,422	1,255	–6,71	<0,0001
b_3 (X_3, гидромодуль) b_3 (X_3, solid-to-solvent ratio)	+10,310	1,255	+8,22	<0,0001
b_4 (X_4, длительность) b_4 (X_4, extraction time)	+5,435	1,255	+4,33	0,0003
b_{11} (X_1^2, квадрат) b_{11} (X_1^2, quadratic term)	–5,298	1,537	–3,45	0,0023

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Таблица 6. DS, PAR и NOR процесса экстракции тритерпеновых сапонинов из конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян

Table 6. DS, PAR, and NOR for the extraction process of triterpene saponins from *Aesculus hippocastanum* L. seeds

Параметр процесса (CPP) Critical process parameter (CPP)	DS	PAR	NOR
Концентрация экстрагента (EtOH), % Extractant concentration (EtOH), %	38–62	38–62	43–57
Гидромодуль (SSR) (при t = 90 мин) Solid-to-solvent Ratio (SSR) (at t = 90 min)	≥ 8,2	8,2–12	9,5–12
Длительность экстракции, мин (при SSR = 12) Extraction time, min (at SSR = 12)	≥ 58	58–90	72–90
Температура экстракции, °C Extraction temperature, °C	30–60*	40–50	42–48
CQA: выход суммы ТС, % CQA: total triterpene saponin yield, %	≥65	≥65	≥68

Примечание. * Фактор температуры в выбранном диапазоне статистически незначим ($p = 0{,}18$). PAR – Proven Acceptable Range (доказанный приемлемый диапазон); NOR – Normal Operating Range (нормальный рабочий диапазон); ТС – тритерпеновые сапонины.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

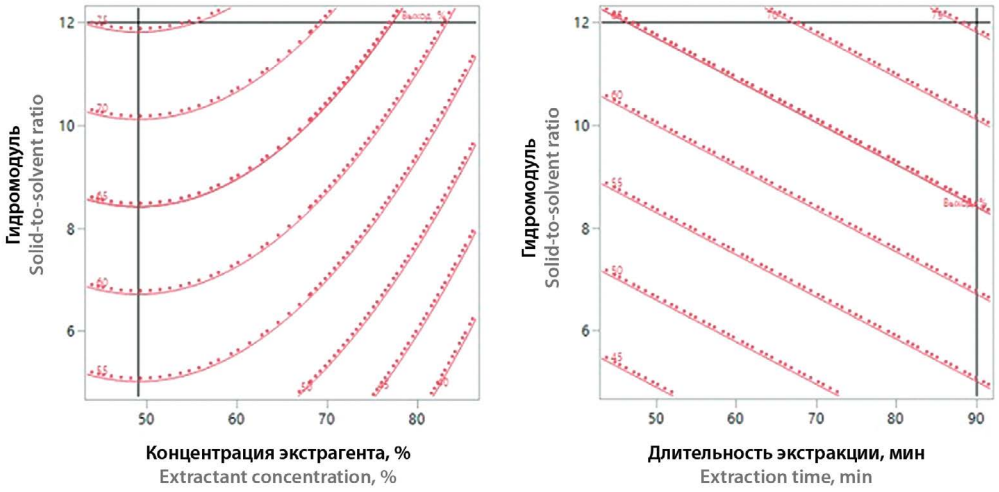


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Контурные графики поверхности отклика

Figure 1. Response surface contour plots

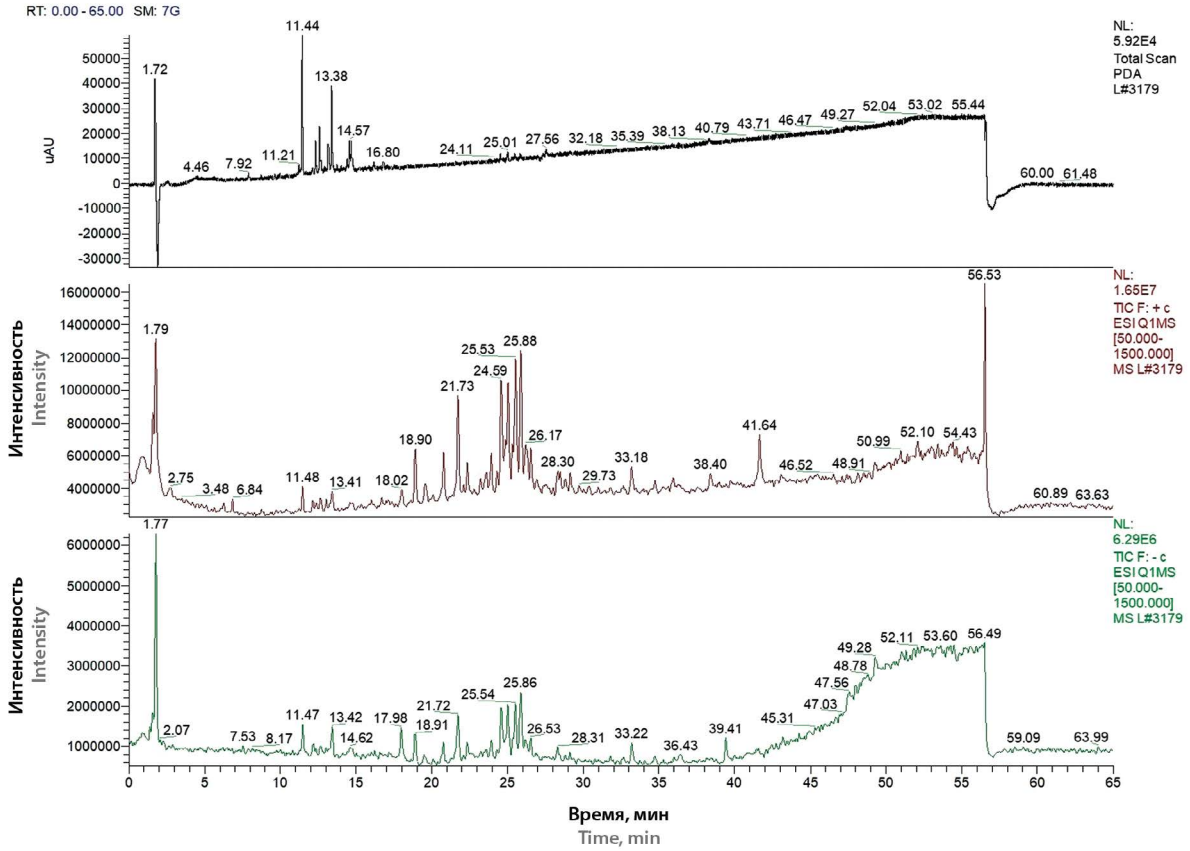


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Полная хроматограмма экстракта, зарегистрированная с использованием детектора на диодной матрице (PDA) (сверху) и масс-спектрометра в режимах полного ионного тока (TIC) ESI+ (посередине) и ESI– (снизу)

Figure 2. Full chromatogram of the extract recorded with PDA (above) and MS detection in TIC ESI+ (middle) и ESI– (below) modes

Проведение процесса экстракции в пределах установленного пространства дизайна обеспечивает воспроизводимое получение экстракта с выходом суммы тритерпеновых сапонинов не менее 65 % в пересчете на β-эсцин и не требует дополнительного регуляторного согласования при изменении параметров процесса в указанных границах. Расчетные данные подтверждены экспериментально. Количественное содержание β-эсцина в очищенном экстракте составляло не менее 30,68 ± 1,69 %.

Для подтверждения подлинности и установления компонентного состава тритерпеновых сапонинов, содержащихся в очищенном экстракте, полученном при оптимальных условиях экстракции, выполнили его анализ методом ВЭЖХ-МС. На полной хроматограмме экстракта (рисунок 2), зарегистрированной с использованием детектора на диодной матрице (PDA) и масс-спектрометра в режимах полного ионного тока (TIC) ESI+ и ESI–, наблюдается сложный многокомпонентный профиль. Интенсивный отклик при RT = 1,7–1,8 мин обусловлен полярными балластными компонентами (органические кислоты, моносахариды), не удаленными полностью в ходе бутанольной очистки [11].

Идентификацию β-эсцина проводили путем сравнения хроматографических профилей испытуемого экстракта и стандартного образца β-эсцина по временам удерживания и значениям молекулярных ионов. На рисунке 3 представлены извлеченные ионные хроматограммы (XIC) по *m/z* = 1128,50–1129,50 в режиме ESI– в сопоставлении стандартного образца и экстракта. В обоих образцах зарегистрировано четыре основных пика, соответствующие четырем изомерным формам β-эсцина: эсцину Ia, эсцину Ib, изоэсцину Ia и изоэсцину Ib. Совпадение времен удерживания между стандартным образцом и экстрактом составило ΔRT ≤ 0,15 мин, что подтверждает подлинность идентифицированных компонентов.

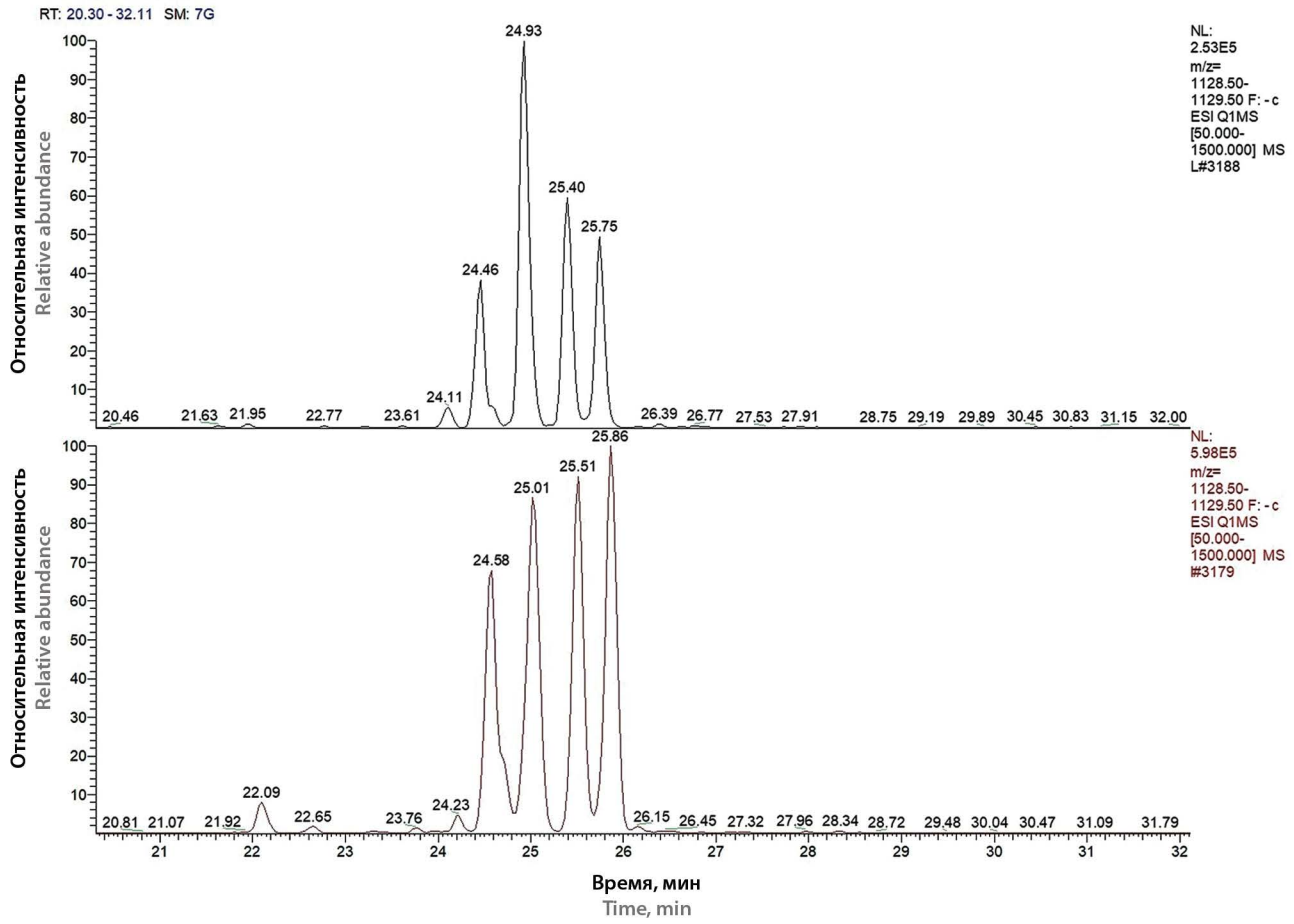


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Извлеченные ионные хроматограммы (*m/z* = 1128,50–1129,50, режим ESI–) стандартного образца β-эсцина (сверху) и очищенного экстракта конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян (снизу)

Figure 3. Extracted ion chromatograms (*m/z* = 1128.50–1129.50, ESI– mode) of β-escin reference standard (above) and purified *Aesculus hippocastanum* L. seed extract (below)

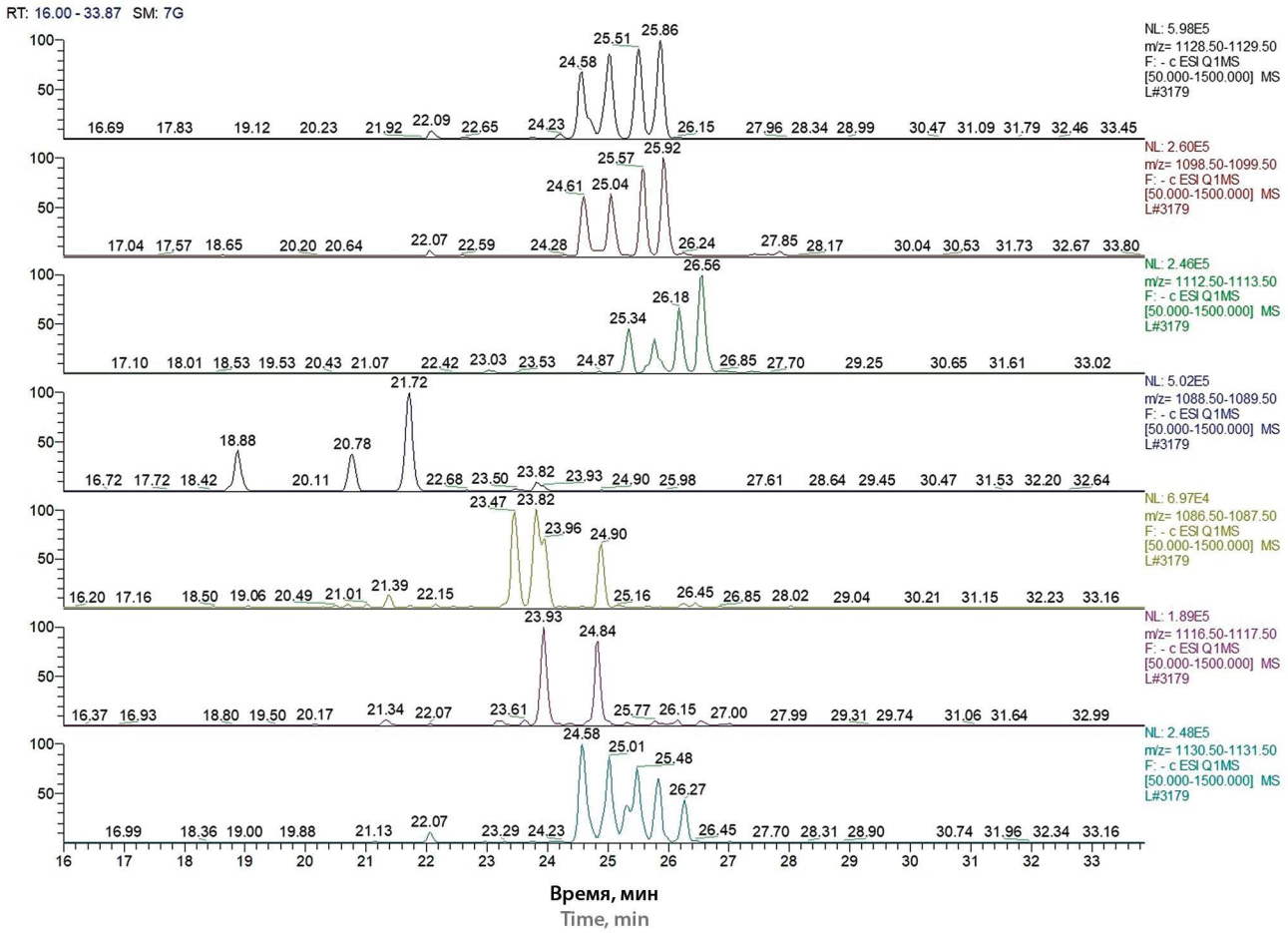


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Сводные извлеченные ионные хроматограммы очищенного экстракта конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян по семи группам тритерпеновых сапонинов в режиме ESI– (RT = 16–34 мин):

I – эсцины I / изоэсцины I ([M–H]$^-$ = 1129 m/z); II – эсцины II / изоэсцины II ([M–H]$^-$ = 1099 m/z); III – эсцины III / изоэсцины III ([M–H]$^-$ = 1113 m/z); IV – эсцины IV / изоэсцины IV ([M–H]$^-$ = 1089 m/z); V – эсцины IVe–h ([M–H]$^-$ = 1087 m/z); VI – эсцины V / изоэсцины V ([M–H]$^-$ = 1117 m/z); VII – эсцины VI / изоэсцины VIa ([M–H]– = 1131 m/z)

Figure 4. Combined extracted ion chromatograms of purified *Aesculus hippocastanum* L. seed extract for seven triterpene saponin groups in ESI– mode (RT = 16–34 min):

I – escins I / isoescins I ([M–H]$^-$ = 1129 m/z); II – escins II / isoescins II ([M–H]$^-$ = 1099 m/z); III – escins III / isoescins III ([M–H]$^-$ = 1113 m/z); IV – escins IV / isoescins IV ([M–H]$^-$ = 1089 m/z); V – escins IVe–h ([M–H]$^-$ = 1087 m/z); VI – escins V/isoescins V ([M–H]$^-$ = 1117 m/z); VII – escins VI / isoescins VIa ([M–H]$^-$ = 1131 m/z)

Наряду с основной группой эсцинов I в экстракте методом XIC-анализа по теоретическим значениям молекулярных ионов [M–H]$^-$ идентифицированы компоненты шести дополнительных структурных групп тритерпеновых сапонинов. Сводный профиль XIC-хроматограмм по семи молекулярным ионам представлен на рисунке 4. Перечень идентифицированных групп сапонинов, соответствующие значения молекулярных ионов и времена удерживания приведены в таблице 7.

Для подтверждения структурной идентификации компонентов группы I были записаны масс-спектры каждого из четырех пиков (рисунок 5). Во всех спектрах в режиме ESI– регистрируется основной пик [M–H]$^-$ = 1129 ± 0,5 *m/z*, а также фрагментный ион деструкции *m/z* = 1099 ± 0,5, соответствующие стандартному образцу. Таким образом, методом ВЭЖХ-МС в очищенном экстракте конского каштана семян подтверждено наличие 7 структурных групп тритерпеновых сапонинов, характерных для данного вида лекарственного растительного сырья. Идентичность основного фармакологически активного компонента – β-эсцина (эсцины Ia/Ib и изоэсцины Ia/Ib) – доказана как по временам удерживания в сравнении со стандартным образцом (ΔRT ≤ 0,15 мин), так и по значениям молекулярных ионов [12].

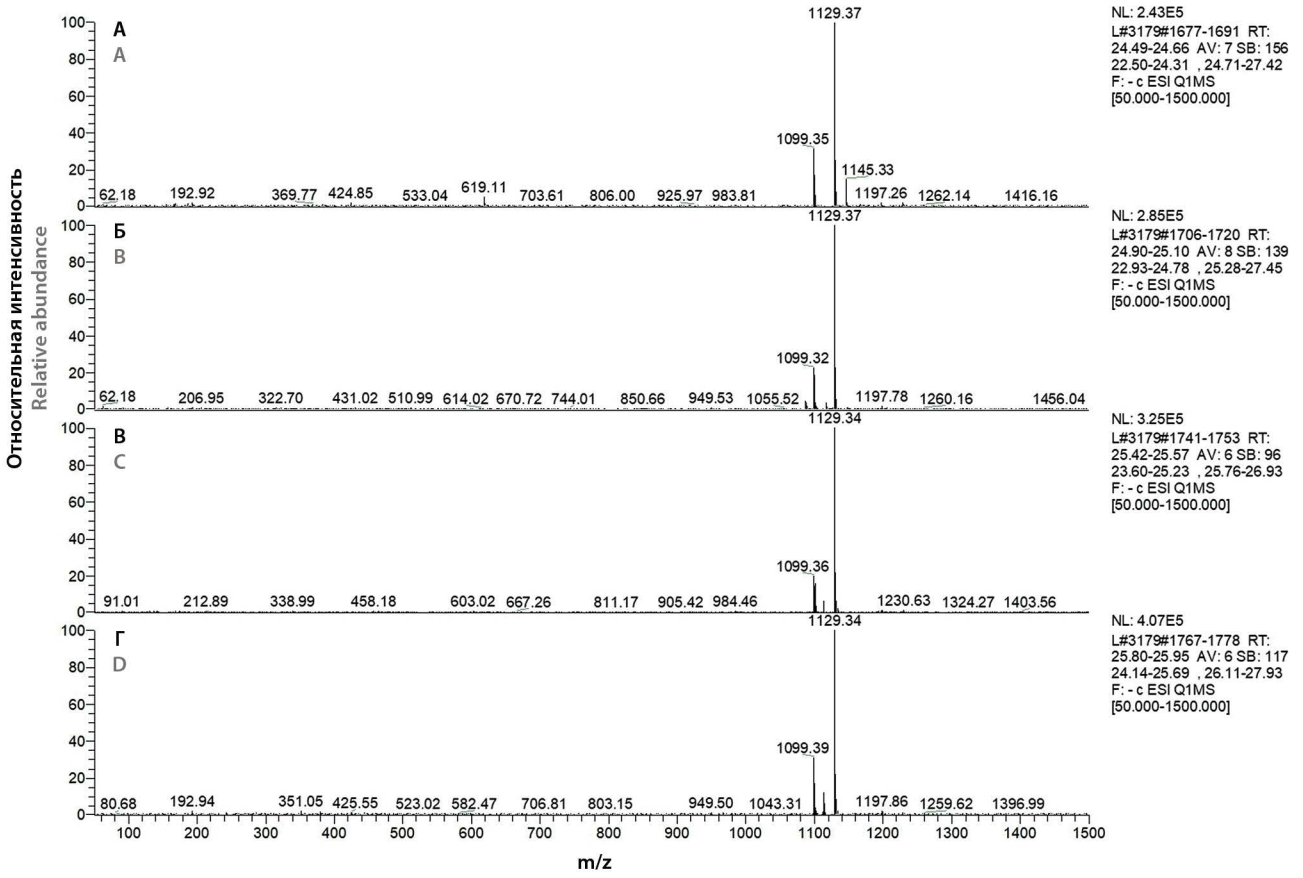


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. Масс-спектры ESI– четырех изомерных форм β-эсцина в очищенном экстракте конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян:

А – RT = 24,49–24,66 мин; Б – RT = 24,90–25,10 мин; В – RT = 25,42–25,57 мин; Г – RT = 25,80–25,95 мин; стрелками обозначены молекулярный ион $[M–H]^-$ = 1129 *m/z* и характеристический фрагмент *m/z* = 1099

Figure 5. ESI– mass spectra of four isomeric forms of β-escin in purified *Aesculus hippocastanum* L. seed extract:

A – RT = 24.49–24.66 min; B – RT = 24.90–25.10 min; C – RT = 25.42–25.57 min; D – RT = 25.80–25.95 min; arrows indicate molecular ion $[M–H]^-$ = 1129 *m/z* and characteristic fragment ion *m/z* = 1099

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате многофакторной оптимизации процесса экстракции тритерпеновых сапонинов из конского каштана семян с применением плана Бокса – Бенкена ($n = 27$) построена адекватная регрессионная модель ($R^2_{adj} = 0{,}776$; $Q^2 = 0{,}701$; Lack of fit $p = 0{,}250$). Установлено определяющее влияние гидромодуля и концентрации спирта этилового на выход суммы тритерпеновых сапонинов. Показано, что фактор температуры в исследованном диапазоне 30–60 °C статистически незначим, однако за его пределами влияние может проявляться. Определены оптимальные условия экстракции: концентрация спирта этилового – 49 %, температура – 45 °C, гидромодуль – 1 : 12, длительность экстракции – 90 мин. Спрогнозированный выход составляет 75,6 %.

Для процесса экстракции тритерпеновых сапонинов из конского каштана семян установлены DS и NOR в рамках концепции ICH Q8(R2) / QbD. Показано, что в диапазоне концентраций спирта этилового 43–57 %, гидромодуля 9,5–12 и длительности 72–90 мин обеспечивается воспроизводимый выход суммы сапонинов с выходом по отношению к содержанию в сырье не менее 65 %. Впервые для отечественного сырья проведена идентификация 7 структурных групп эсцинов методом ВЭЖХ-МС в режиме ESI–. Было подтверждено наличие β-эсцина в виде четырех изомерных форм (эсцин Ia/Ib, изоэсцин Ia/Ib). Разработанные оптимальные условия экстракции и схема очистки (обезжиривание петролейным эфиром, трехкратная жидкостная экстракция бутанолом) могут быть использованы при создании нормативной и

производственной документации на очищенный экстракт конского каштана семян и субстанцию β-эсцина для фармацевтического применения. Установленное пространство дизайна и нормальный рабочий диапазон обеспечивают научное обоснование для создания регуляторного досье в формате ICH Q8(R2) и снижают объем валидационных работ при масштабировании процесса, а исследование создает научно-техническую базу для организации импортозамещающего производства β-эсцина в России.

Таблица 7. Идентифицированные группы тритерпеновых сапонинов в очищенном экстракте конского каштана (*Aesculus hippocastanum* L.) семян

Table 7. Identified groups of triterpene saponins in the purified *Aesculus hippocastanum* L. seed extract

№	Группа сапонинов Saponin group	$[M-H]^-$ факт., *m/z* $[M-H]^-$ found, *m/z*	RT основных пиков, мин RT of major peaks, min
1	Эсцин Ia, Ib; Изоэсцин Ia, Ib Escin Ia, Ib; Isoescin Ia, Ib	1129,37 ± 0,5	24,58; 25,01; 25,51; 25,86
2	Эсцин IIa, IIb; Изоэсцин IIa, IIb Escin IIa, IIb; Isoescin IIa, IIb	1099,35 ± 0,5	24,61; 25,04; 25,57; 25,92
3	Эсцин IIIa, IIIb; Изоэсцин IIIa, IIIb Escin IIIa, IIIb; Isoescin IIIa, IIIb	1113,39 ± 0,5	25,34; 25,77; 26,18; 26,56
4	Эсцин IV / Изоэсцин IV Escin IV / Isoescin IV	1089,30 ± 0,5	18,88; 20,78; 21,72
5	Эсцин IVe–h Escin IVe–h	1087,36 ± 0,5	23,47; 23,82; 23,96; 24,90
6	Эсцин V / Изоэсцин V Escin V / Isoescin V	1117,37 ± 0,5	23,93; 24,84
7	Эсцин VI / Изоэсцин VIa Escin VI / Isoescin VIa	1131,45 ± 0,5	24,58; 25,01; 25,48; 25,83; 26,27

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ЛИТЕРАТУРА

1. Gözcü S. *Aesculus hippocastanum* L. In: Gürağaç Dereli F. T., Ilhan M., Belwal T., editors. Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines. Cham: Springer; 2022. P. 23–36. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07753-1_2
2. Gallelli L. Escin: a review of its anti-edematous, anti-inflammatory, and venotonic properties. *Drug Design, Development and Therapy*. 2019;13:3425–3437. https://doi.org/10.2147/DDDT.S207720
3. Fazliev S., Tursunov K., Sharipov A., Xaydarov V., Normakhamatov N., Rizaev K., Wang T., Aisa H. A. Escin's phytochemistry and pharmacy: biosynthesis, chemistry, synergism and novel activities. *Phytochemistry Reviews*. 2025;24:1345–1363. https://doi.org/10.1007/s11101-024-09956-6
4. Вишнякова К. Р., Ханина М. А., Марданлы С. Г., Лапко Е. Ю., Родин А. П., Потемкина Н. М., Короткова Л. О. Исследование метаболома перикарпия Aesculus hippocastanum L. методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. *Известия ГГТУ. Медицина. Фармация*. 2025;1(21):32–39. https://doi.org/10.51620/2687-1521-2025-1-21-32-39
5. Турманидзе Г. Н., Сорокин В. В., Степанов К. С., Игнатенко М. А. Совершенствование технологий выделения и очистки биологически активных веществ из растительного сырья. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):71–79. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1585
6. Уэйли А. К., Бурцева Е. В., Кулдыркаева Е. В., Новосад А. С., Бабак Н. Л., Жохова Е. В., Уэйли А. О., Гончаров М. Ю., Тернинко И. И., Яковлев Г. П. Способ получения тимохинона из жирного масла семян тмина черного (*Nigella sativa* L.). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(3):29–40. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-29-40
7. Перес Б. А., Процюк А. П., Зеленцова А. Б., Каухова И. Е., Ароян М. В., Новикова Е. К. Разработка технологии получения фитосубстанции расторопши пятнистой плодов (*Silybum marianum* L.) в качестве компонента комплексной терапии заболеваний печени. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):101–110. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1582
8. Вишнякова К. Р., Смирнова Л. В., Короткова Л. О., Родин А. П., Потемкина Н. М., Ханина М. А. Методика количественного определения тритерпеновых сапонинов в перикарпии, семенах *Aesculus hippocastanum* L. и продуктах их первичной переработки. *Известия ГГТУ. Медицина. Фармация*. 2025;4(24):9–18. https://doi.org/10.51620/2687-1521-2025-4-24-9-18
9. Kędzierski B., Kukula-Koch W., Widelski J., Głowniak K. Impact of harvest time of *Aesculus hippocastanum* seeds on the composition, antioxidant capacity and total phenolic content. *Industrial Crops and Products*. 2016;86:68–72. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.034
10. Chen J., Li W., Yang B., Guo X., Lee F. S.-C., Wang X. Determination of four major saponins in the seeds of *Aesculus chinensis* Bunge using accelerated solvent extraction followed by high-performance liquid chromatography and electrospray-time of flight mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2007;596(2):273–280. https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.06.011
11. Kapusta I., Janda B., Szajwaj B., Stochmal A., Piacente S., Pizza C., Franceschi F., Franz C., Oleszek W. Flavonoids in Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum*) Seeds and Powdered Waste Water Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(21):8485–8490. https://doi.org/10.1021/jf071709t
12. Wang W.-W., Liu Z.-W., Sun Y.-Z., Liu L.-F. Comparison of Semen Aesculi species from different geographical origins and horse chestnut based on metabolomics and chemometrics analysis. *Phytochemical Analysis*. 2023;34(7):830–841. https://doi.org/10.1002/pca.3212

REFERENCES

1. Gözcü S. *Aesculus hippocastanum* L. In: Gürağaç Dereli F. T., Ilhan M., Belwal T., editors. Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines. Cham: Springer; 2022. P. 23–36. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07753-1_2
2. Gallelli L. Escin: a review of its anti-edematous, anti-inflammatory, and venotonic properties. *Drug Design, Development and Therapy*. 2019;13:3425–3437. https://doi.org/10.2147/DDDT.S207720
3. Fazliev S., Tursunov K., Sharipov A., Xaydarov V., Normakhamatov N., Rizaev K., Wang T., Aisa H. A. Escin's phytochemistry and pharmacy: biosynthesis, chemistry, synergism and novel activities. *Phytochemistry Reviews*. 2025;24:1345–1363. https://doi.org/10.1007/s11101-024-09956-6
4. Vishnyakova K. R., Khanina M. A., Mardanly S. G., Lapko E Yu., Rodin A. P., Potemkina N. M., Korotkova L. O. Study of the pericarp metabolome of *Aesculus hippocastanum* L. by gas chromatography with mass spectrometric detection. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2025;1(21):32–39. (In Russ.) https://doi.org/10.51620/2687-1521-2025-1-21-32-39
5. Turmanidze G. N., Sorokin V. V., Stepanov K. S., Ignatenko M. A. Improvement of technologies for isolation and purification of biologically active substances from plant raw materials. *Drug development & registration*. 2023;12(4):71–79. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1585
6. Whaley A. K., Burtseva Y. V., Kuldyrkaeva E. V., Novosad A. S., Babak N. L., Zhokhova E. V., Whaley A. O., Goncharov M. Yu., Terninko I. I., Yakovlev G. P. A Method for the isolation of thymoquinone from black caraway seed oil (*Nigella sativa* L.). *Drug development & registration*. 2023;12(3):29–40. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-3-29-40
7. Peres B. A., Procyuk A. P., Zelencova A. B., Kauhova I. E., Aroyan M. V., Novikova E. K. Development of Technology of Phytosubstantiation of *Silybum marianum* L. Fruits as a Component of Complex Therapy of Liver Diseases. *Drug development & registration*. 2023;12(4):101–110. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1582
8. Vishnyakova K. R., Smirnova L. V., Korotkova L. O., Rodin A. P., Potemkina N. M., Khanina M. A. Method of quantitative determination of triterpene saponins in pericarpia, seeds of *Aesculus hippocastanum* L. and in the products of their primary processing. *Izvestiya GGTU. Medicina, farmatsiya*. 2025;4(24):9–18. (In Russ.) https://doi.org/10.51620/2687-1521-2025-4-24-9-18
9. Kędzierski B., Kukula-Koch W., Widelski J., Głowniak K. Impact of harvest time of *Aesculus hippocastanum* seeds on the composition, antioxidant capacity and total phenolic content. *Industrial Crops and Products*. 2016;86:68–72. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.034
10. Chen J., Li W., Yang B., Guo X., Lee F. S.-C., Wang X. Determination of four major saponins in the seeds of *Aesculus chinensis* Bunge using accelerated solvent extraction followed by high-performance liquid chromatography and electrospray-time of flight mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2007;596(2):273–280. https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.06.011
11. Kapusta I., Janda B., Szajwaj B., Stochmal A., Piacente S., Pizza C., Franceschi F., Franz C., Oleszek W. Flavonoids in Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum*) Seeds and Powdered Waste Water Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(21):8485–8490. https://doi.org/10.1021/jf071709t
12. Wang W.-W., Liu Z.-W., Sun Y.-Z., Liu L.-F. Comparison of Semen Aesculi species from different geographical origins and horse chestnut based on metabolomics and chemometrics analysis. *Phytochemical Analysis*. 2023;34(7):830–841. https://doi.org/10.1002/pca.3212

Обзорная статья / Review article

УДК 615.1

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2402

Check for updates

CC BY 4.0

Технология OROS как инженерный подход к контролируемому высвобождению лекарственных веществ (обзор)

М. Ю. Гадаев[1]✉, **А. Л. Марченко**[1], **М. С. Панов**[1, 2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Институт химии, кафедра лазерной химии и лазерного материаловедения. 198504, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Петергоф, Университетский проспект, д. 26

✉ **Контактное лицо:** Гадаев Муртузали Юнусович. **E-mail:** gadayev.mpharmchem@gmail.com

Резюме

Введение. Разработка пероральных лекарственных форм с контролируемым высвобождением остается одним из значимых направлений современной фармацевтической технологии. Такие системы позволяют уменьшать колебания концентрации лекарственного вещества в плазме крови, снижать частоту приема и повышать удобство длительной терапии. Среди платформ модифицированного высвобождения особое место занимают осмотические системы доставки, в которых высвобождение активного фармацевтического ингредиента (АФИ) определяется не только его физико-химическими свойствами, но и заранее заданными конструктивными параметрами лекарственной формы. К таким параметрам относятся состав ядра, величина осмотического градиента, свойства полупроницаемой мембраны, наличие и размер выходного отверстия, характеристики выталкивающего слоя и т.д.

Текст. Целью настоящего обзора является анализ технологии OROS как инженерной платформы контролируемого высвобождения с рассмотрением основных конструктивных типов осмотических систем, механизмов их функционирования, критических факторов разработки и технологических ограничений.

Заключение. Анализ литературных и патентных данных показывает, что OROS остается актуальным направлением разработки лекарственных форм с модифицированным высвобождением благодаря возможности программируемого и воспроизводимого высвобождения лекарственного вещества. Наибольшее практическое значение имеют такие платформы, как элементарный осмотический насос, двухслойная осмотическая система и осмотическая система с контролируемой пористостью, поскольку эти системы позволяют решать разные технологические задачи: доставку растворимых веществ, высвобождение малорастворимых активных фармацевтических ингредиентов и формирование микропористого пути высвобождения без отдельной стадии лазерной перфорации. Вместе с тем OROS-системы требуют точного фармацевтического дизайна, контроля критических параметров качества и специализированного оборудования, что ограничивает их широкое внедрение, но сохраняет высокий интерес к данной технологии при создании современных препаратов пролонгированного действия.

Ключевые слова: осмотические системы доставки, пероральные лекарственные формы, полупроницаемая мембрана, осмотическое давление, порообразователи, выходное отверстие, контролируемое высвобождение, фармацевтическая разработка

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

Вклад авторов. М. Ю. Гадаев выполнил поиск и анализ литературных и патентных источников, подготовил основной текст рукописи, таблицы и иллюстративные материалы. А. Л. Марченко сформулировал общую концепцию статьи, участвовал в научном редактировании текста, уточнении фармацевтических и технологических аспектов обзора. М. С. Панов участвовал в описании и интерпретации раздела, посвященного лазерной микроперфорации оболочки, а также в уточнении технических параметров формирования выходного отверстия. Авторы совместно обсудили структуру статьи, содержание основных разделов и окончательную редакцию рукописи.

© Гадаев М. Ю., Марченко А. Л., Панов М. С., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Gadaev M. Yu., Marchenko A. L., Panov M. S., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Гадаев М. Ю., Марченко А. Л., Панов М. С. Технология OROS как инженерный подход к контролируемому высвобождению лекарственных веществ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):119–133. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2402

Поступила в редакцию: 15.06.2026
Поступила после рецензирования: 22.07.2026
Принята к публикации: 21.08.2026

OROS technology as an engineering approach to controlled drug release (review)

Murtuzali Yu. Gadaev[1]✉, Alexei L. Marchenko[1], Maxim S. Panov[1, 2]

[1] Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia
[2] Saint Petersburg State University, Institute of Chemistry, Department of Laser Chemistry and Laser Materials Science. 26, Universitetskiy prospekt, Petergof, Saint Petersburg, 198504, Russia

✉ **Corresponding author:** Murtuzali Yu. Gadaev. **E-mail:** gadayev.mpharmchem@gmail.com

Abstract

Introduction. The development of oral dosage forms with controlled release remains an important area of modern pharmaceutical technology. Such systems can reduce fluctuations in plasma drug concentration, decrease dosing frequency, and improve the convenience of long-term therapy. Among modified-release platforms, osmotic drug delivery systems are of particular interest because the release of an active pharmaceutical ingredient is governed not only by its physicochemical properties but also by predefined engineering parameters of the dosage form. These parameters include the core composition, osmotic gradient, semipermeable membrane properties, the presence and size of the delivery orifice, and the characteristics of the push layer, etc.

Text. This review aims to analyze OROS technology as an engineering platform for controlled drug release, with consideration of the main structural types of osmotic systems, their mechanisms of action, critical formulation factors, and technological limitations.

Conclusion. The analysis of literature and patent data shows that OROS remains a relevant approach to the development of modified-release dosage forms owing to its ability to provide programmable and reproducible drug release. The elementary osmotic pump, push-pull osmotic pump and controlled-porosity osmotic pump are of the greatest practical importance, as these systems address different technological tasks: delivery of soluble drugs, release of poorly soluble active pharmaceutical ingredients, and formation of a microporous release pathway without a separate laser-drilling step. At the same time, OROS systems require careful pharmaceutical design, control of critical quality attributes, and specialized manufacturing equipment. These factors limit their widespread implementation but maintain strong interest in this technology for the development of modern prolonged-release oral drug products.

Keywords: osmotic drug delivery systems, oral dosage forms, semipermeable membrane, osmotic pressure, controlled delivery, pore-forming agents, delivery orifice, pharmaceutical development

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

Contribution of the authors. Murtuzali Yu. Gadaev performed the literature and patent search, analyzed the collected data, and prepared the main text of the manuscript, tables, and illustrative materials. Alexei L. Marchenko developed the overall concept of the article, contributed to scientific editing, and refined the pharmaceutical and technological aspects of the review. Maxim S. Panov contributed to the description and interpretation of the section on laser microperforation of the coating and clarified the technical parameters of delivery-orifice formation. The authors jointly discussed the structure of the article, the content of the main sections, and the final version of the manuscript.

For citation: Gadaev M. Yu., Marchenko A. L., Panov M. S. OROS technology as an engineering approach to controlled drug release. *Drug development & registration*. 2026;15(3):119–133. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2402

Received: 15.06.2026
Revised: 22.07.2026
Accepted: 21.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Разработка пероральных лекарственных форм с контролируемым высвобождением является одним из ключевых направлений при реализации инженерного подхода в современной фармацевтической технологии. Несмотря на широкое применение традиционных таблеток немедленного высвобождения, их использование во многих случаях сопровождается существенными колебаниями концентрации лекарственного вещества в плазме крови, необходимостью многократного приема и повышением вероятности развития дозозависимых побочных эффектов (рисунок 1) [1, 2]. Подобные недостатки особенно значимы при длительной фармакотерапии хронических заболеваний, требующих поддержания стабильной терапевтической концентрации действующего вещества в системном кровотоке [3].

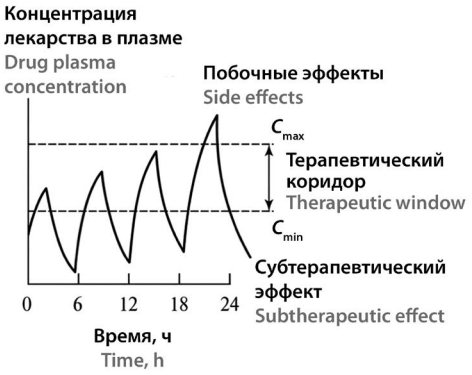


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Схематическое изображение кривых «концентрация – время» для ЛФ с обычным высвобождением при приеме 4 раза в сутки.

C_{max} – максимальная терапевтическая концентрация; C_{min} – минимальная терапевтическая концентрация

Figure 1. Schematic representation of concentration – time curves for a conventional-release dosage form administered four times daily.

C_{max} – maximum therapeutic concentration; C_{min} – minimum therapeutic concentration

С целью преодоления указанных ограничений были разработаны различные платформы пролонгированного высвобождения, включая матричные и резервуарные системы доставки лекарственных веществ [4]. Однако скорость высвобождения лекарственного вещества из подобных форм зачастую определяется физиологическими параметрами желудочно-кишечного тракта, такими как pH среды, интенсивность перистальтики и прием пищи [5]. Для гидрофильных матричных систем дополнительное значение имеют процессы набухания, эрозии и диффузии, что может приводить к изменчивости профиля высвобождения [6].

На фоне развития технологий контролируемого высвобождения особый интерес представляют осмотические системы доставки лекарственных веществ, в которых движущей силой высвобождения является осмотическое давление [7]. Принцип работы подобных платформ основан на проникновении воды через полупроницаемую мембрану внутрь лекарственной формы с последующим созданием внутреннего давления, обеспечивающего контролируемое высвобождение лекарственного вещества через специальное отверстие [8]. В отличие от традиционных систем доставки, осмотические платформы не зависят от физиологических условий желудочно-кишечного тракта, что позволяет обеспечить более воспроизводимый профиль высвобождения [9]. На примере оксибутинина (рисунок 2) [9] можно увидеть разницу в фармакокинетических профилях после его приема в виде ЛФ с немедленным высвобождением и контролируемым высвобождением на основе осмотической системы доставки.

Наиболее значительное развитие осмотические системы получили после создания платформы OROS (Osmotic-controlled Release Oral delivery System), разработанной компанией ALZA Corporation. Одной из первых подобных конструкций стал элементарный осмотический насос (elementary osmotic pump (EOP)), предложенный Theeuwes в 1974 году[1]. Несмотря на эффективность EOP для доставки хорошо растворимых соединений, применение данной платформы для веществ с низкой растворимостью было ограничено [11].

Дальнейшее развитие технологии привело к созданию двухслойной осмотической системы – push-pull osmotic pump (PPOP), включающей дополнительный набухающий слой, обеспечивающий механическое вытеснение суспензии лекарственного вещества[2]. Появление данной конструкции существенно расширило возможности осмотической доставки, включая применение препаратов с низкой растворимостью в воде. Следующим этапом развития OROS-технологии стала осмотическая система с контролируемой пористостью (controlled porosity osmotic pump (CPOP))[3], в которой высвобождение лекарственного вещества осуществляется через микропористую мембрану, формирующуюся *in situ* в результате вымывания поро-

[1] Theeuwes F., Higuchi T. Osmatic dispensing device for releasing beneficial agent. United States patent US3845770A. 05.11.1974. Available at: https://patents.google.com/patent/US3845770A/en Accessed: 19.07.2026.

[2] Cortese R., Theeuwes F. Osmotic device with hydrogel driving member. United States patent US4327725A. 04.05.1982. Available at: https://patents.google.com/patent/US4327725A/en Accessed: 19.07.2026.

[3] Zentner G. M., Rork G. S., Himmelstein K. J. Controlled porosity osmotic pump. United States patent US4968507A. 06.11.1990. Available at: https://patents.google.com/patent/US4968507A/en Accessed: 19.07.2026.

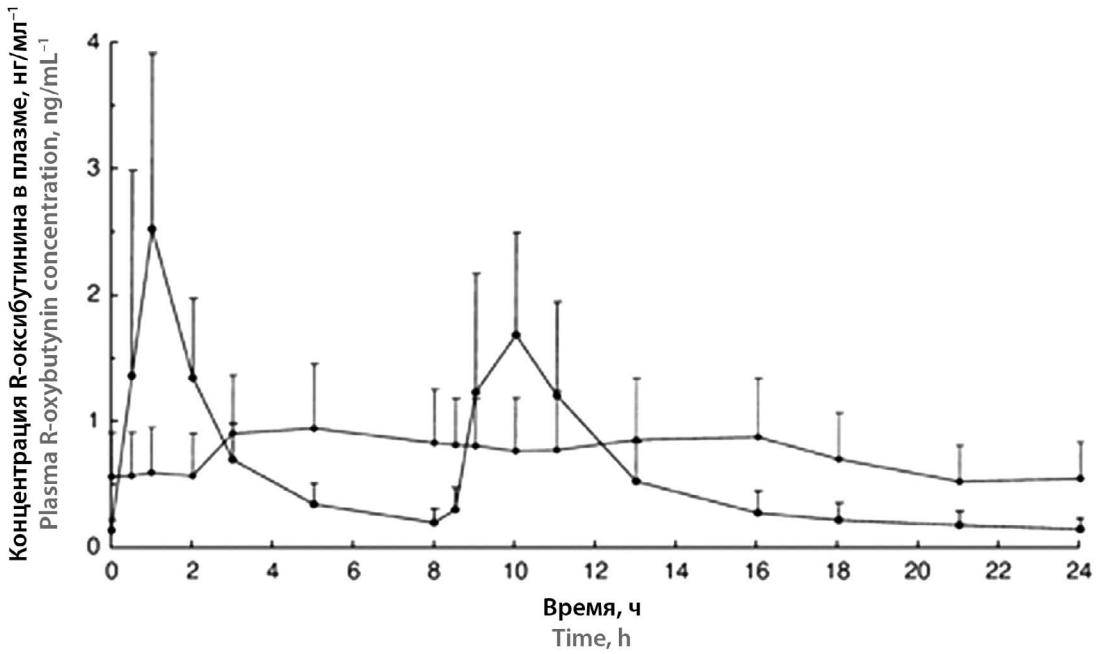


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Средняя установившаяся концентрация R-оксибутинина в плазме крови в зависимости от времени после перорального приема рацемического оксибутинина в препаратах Oxy-XL (оксибутинин с контролируемым высвобождением по технологии OROS) (♦) и IR-Oxy (оксибутинин с немедленным высвобождением) (•)

Figure 2. Mean steady state plasma R-oxybutynin concentration-time profile after oral administration of the Oxy-XL (oxybutynin with OROS controlled-release technology) (♦) and IR-Oxy (immediate-release oxybutynin) (•) formulations of racemic oxybutynin

образующих компонентов [9]. Использование CPOP позволило отказаться от стадии лазерного формирования отверстия и упростить технологический процесс производства.

В настоящее время OROS-системы оцениваются как одни из наиболее технологичных платформ пероральной доставки лекарственных веществ с контролируемым высвобождением [7]. Вместе с тем высокая сложность производства, необходимость точного контроля свойств полупроницаемой мембраны и использование специализированного оборудования продолжают ограничивать широкое распространение данной технологии [22].

Целью настоящего обзора является анализ основных платформ OROS-технологии – EOP, PPOP и CPOP, а также рассмотрение их конструктивных особенностей, механизмов функционирования, преимуществ и ограничений в современной пероральной доставке лекарственных веществ.

Эволюция осмотических систем доставки лекарственных веществ

Технология осмотической доставки лекарственных веществ основана на использовании полупроницаемой мембраны, обеспечивающей контролируемое поступление воды внутрь лекарственной формы с последующим созданием осмотического давления, необходимого для высвобождения действующего вещества [1]. В отличие от традиционных диффузионных систем, скорость высвобождения в осмотических системах определяется преимущественно физико-химическими параметрами самой системы, включая проницаемость мембраны, величину осмотического градиента, характеристики ядра таблетки и свойства выходного отверстия [8]. Использование подобного подхода позволило создать лекарственные формы, обеспечивающие длительное и воспроизводимое высвобождение АФИ с кинетикой, близкой к нулевому порядку [12].

Развитие осмотических систем происходило последовательно – от сложных многокамерных конструкций к более компактным и технологичным пероральным платформам. Первые осмотические устройства представляли собой имплантируемые системы (Rose-Nelson pump, Higuchi-Leeper pump, Higuchi-Theeuwes pump), содержащие отдельные камеры с водой и лекарственным веществом, разделенные эластичными мембранами. Дальнейшее развитие технологии было направлено на упрощение конструкции, повышение

воспроизводимости профиля высвобождения и расширение спектра АФИ, пригодных для осмотической доставки.

В литературе отсутствует единая универсальная классификация осмотических систем. Известно, что современные пероральные осмотические системы включают несколько основных платформ, различающихся конструкцией, механизмом высвобождения и технологическими особенностями. В настоящей статье приведена классификация на основе данных из [3, 13–17] (таблица 1).

Наибольшее практическое распространение среди перечисленных платформ получили системы EOP, PPOP и CPOP, поскольку именно они стали основой большинства коммерчески реализованных OROS-препаратов [17]. Разработка данных платформ происходила последовательно, при этом каждая новая система создавалась для устранения технологических ограничений предыдущей конструкции.

Первой полноценной пероральной осмотической системой стал элементарный осмотический насос (EOP), разработанный Felix Theeuwes в середине 1970-х годов (рисунок 3, А). Конструкция EOP включает таблетированное ядро, содержащее АФИ и осмотически активные компоненты, покрытое полупроницаемой мембраной с микроотверстием, сформированным с помощью лазерного воздействия. После проникновения воды внутрь системы происходит образование насыщенного раствора лекарственного вещества, который высвобождается через отверстие под действием возникающего осмотического давления. Использование EOP позволило впервые реализовать контролируемое высвобождение препарата с кинетикой, близкой к нулевому порядку [7].

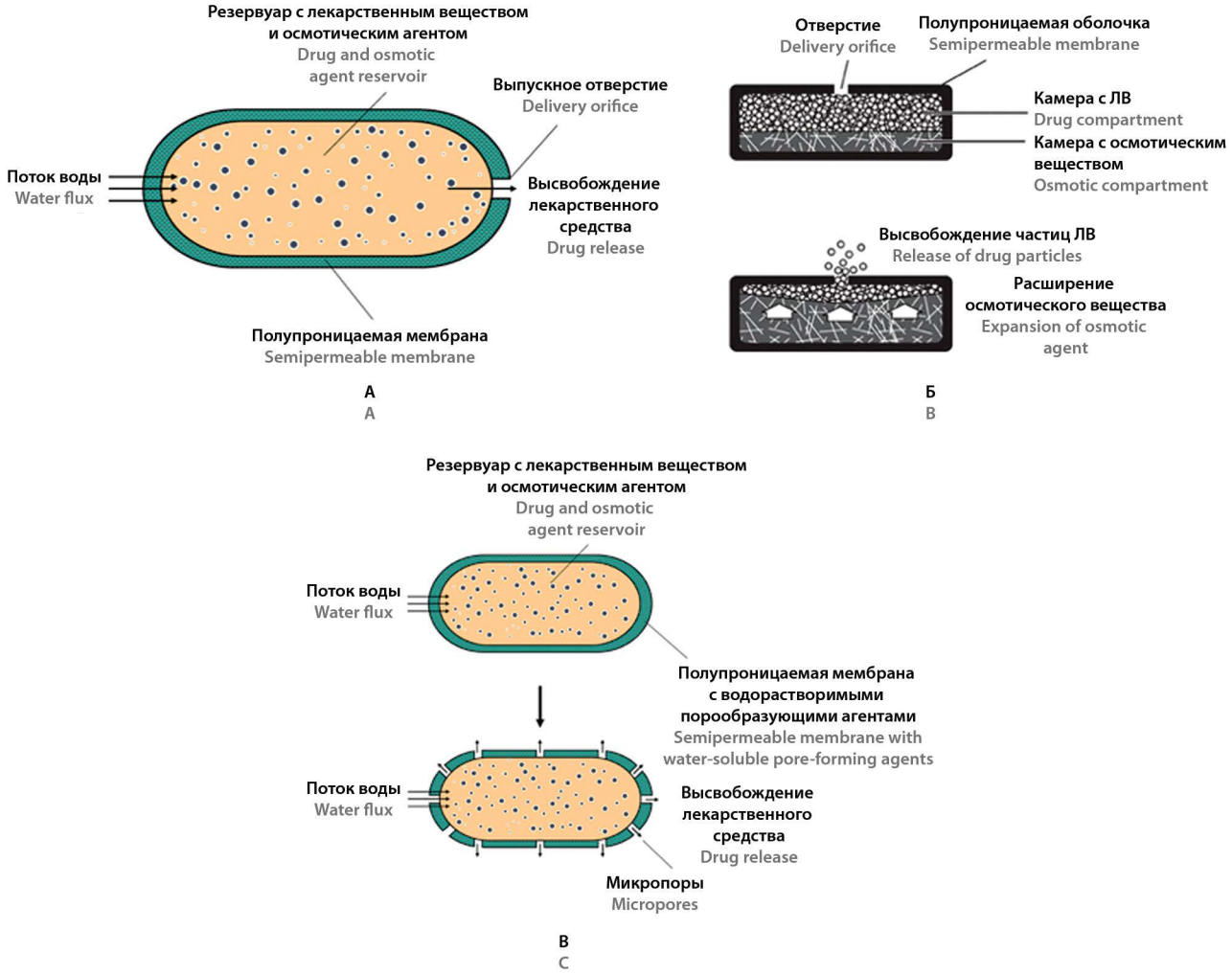


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Схематические изображения EOP (А), PPOP (Б), CPOP (В) [2, 19]

Figure 3. Schematic diagrams of EOP (A), PPOP (B), CPOP (C)

Таблица 1. **Классификация пероральных осмотических систем доставки лекарственных веществ**

Table 1. **Classification of oral osmotic drug delivery systems**

Тип системы **System type**	**Конструктивные особенности** **Structural characteristics**	**Механизм высвобождения** **Release mechanism**	**Основные ограничения** **Main limitations**
Elementary osmotic pump (EOP)	Однокамерное таблетированное ядро, содержащее АФИ и осмотически активные вещества; полупроницаемая мембрана с выходным отверстием Single-core tablet containing an API and osmotic agents; semipermeable membrane with a delivery orifice	Поступление воды через мембрану, растворение АФИ и осмотическое вытеснение раствора через отверстие Water influx through the membrane, API dissolution, and osmotic pumping of the drug solution through the orifice	Ограниченная применимость для малорастворимых АФИ; необходимость формирования выходного отверстия Limited applicability to poorly soluble APIs; delivery orifice formation is required
Push-pull osmotic pump (PPOP)	Двухслойная таблетка, состоящая из лекарственного слоя и выталкивающего слоя; полупроницаемая мембрана с отверстием со стороны лекарственного слоя Bilayer tablet consisting of a drug layer and an expandable push layer; semipermeable membrane with an orifice on the drug-layer side	Гидратация лекарственного слоя и набухание выталкивающего слоя с последующим вытеснением раствора или суспензии АФИ через отверстие Hydration of the drug layer and swelling of the push layer, followed by extrusion of the API solution or suspension through the orifice	Более сложное производство; необходимость формирования выходного отверстия; риск закупоривания отверстия More complex manufacturing; delivery orifice formation is required; risk of orifice clogging
Controlled-porosity osmotic pump (CPOP)	Ядро с АФИ и осмотически активными веществами; полупроницаемая мембрана с водорастворимыми порообразователями Core containing an API and osmotic agents; semipermeable membrane containing water-soluble pore-forming agents	Вымывание порообразователей с образованием микропористой мембраны *in situ*; высвобождение через сформированные поры Leaching of pore-forming agents with *in situ* formation of a microporous membrane; drug release through the formed pores	Необходим строгий контроль состава и пористости мембраны Strict control of membrane composition and porosity is required
Sandwiched osmotic systems	Трехслойная система: центральный выталкивающий слой расположен между двумя лекарственными слоями; отверстия с двух сторон таблетки Trilayer system with a central push layer positioned between two drug layers; delivery orifices on both sides of the tablet	Центральный выталкивающий слой набухает и оказывает давление в двух направлениях, обеспечивая высвобождение из обоих лекарственных слоев The central push layer swells and generates pressure in two directions, enabling release from both drug layers	Высокая конструктивная сложность; необходимость точного совмещения слоев и отверстий High structural complexity; precise alignment of layers and orifices is required
L-OROS	Осмотическая система для жидкой лекарственной композиции; включает жидкий лекарственный слой, барьерный слой, осмотический слой и полупроницаемую мембрану с выходным отверстием Osmotic system for liquid drug formulations; includes a liquid drug layer, barrier layer, osmotic layer, and semipermeable membrane with a delivery orifice	Поступление воды активирует осмотический слой, который расширяется и вытесняет жидкую лекарственную композицию через отверстие Water influx activates the osmotic layer, which expands and pushes the liquid drug formulation through the orifice	Сложная конструкция; высокие требования к стабильности жидкой композиции и герметичности системы Complex design; high requirements for liquid-formulation stability and system sealing

Окончание таблицы 1

Тип системы System type	Конструктивные особенности Structural characteristics	Механизм высвобождения Release mechanism	Основные ограничения Main limitations
Push-stick osmotic pump (PSOP)	Осмотическая система включает полупроницаемую мембрану, выходное отверстие, лекарственный слой, выталкивающий слой и слой, облегчающий продвижение лекарственной массы Osmotic system includes a semipermeable membrane, a delivery orifice, a drug layer, a push layer, and a layer that facilitates movement of the drug mass	Вода поступает через мембрану, выталкивающий слой набухает и продвигает лекарственную массу к выходному отверстию. Препарат высвобождается преимущественно как эродируемый твердый или высоковязкий слой; начальное быстрое высвобождение может обеспечиваться без отдельного покрытия немедленного высвобождения Water enters through the membrane, the push layer swells, and the drug mass is advanced toward the delivery orifice. The drug is mainly released as an erodible solid or highly viscous layer; initial burst release may occur without a separate immediate-release coating	Сложная конструкция и технология производства; необходим контроль выходного отверстия, эрозии лекарственного слоя, набухания выталкивающего слоя и остаточного содержания АФИ Complex design and manufacturing process; control of the delivery orifice, drug-layer erosion, push-layer swelling, and residual API content is required

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Несмотря на конструктивную простоту и воспроизводимость профиля высвобождения, применение EOP было ограничено преимущественно хорошо растворимыми АФИ [1, 18]. Для плохо растворимых субстанций скорость растворения вещества внутри ядра становилась лимитирующим этапом процесса высвобождения. Для преодоления данного ограничения была разработана система PPOP, впервые описанная в работе R. Cortese, F. Theeuwes.

PPOP представлял собой двухслойную осмотическую систему (рисунок 3, Б), состоящую из лекарственного слоя и выталкивающего слоя, содержащего высокомолекулярные гидрофильные полимеры [20]. После поступления воды через полупроницаемую мембрану происходит постепенное набухание выталкивающего слоя и создается механическое давление на лекарственный слой, обеспечивая высвобождение АФИ в виде суспензии или вязкой дисперсии [21]. Использование подобной конструкции позволило существенно расширить спектр лекарственных субстанций, пригодных для осмотической доставки, включая соединения с низкой растворимостью в воде [22].

Дальнейшее развитие осмотических платформ было связано с необходимостью упрощения технологии производства. Одним из наиболее сложных этапов производства EOP и PPOP являлось лазерное формирование выходного отверстия, требовавшее высокой точности и специализированного оборудования [23]. Для устранения данного ограничения Zentner и соавторы разработали осмотическую систему с контролируемой пористостью (controlled porosity osmotic pump (CPOP)).

Ключевой особенностью CPOP стало введение в состав полупроницаемой мембраны водорастворимых порообразователей, постепенно вымывающихся после контакта системы с биологическими жидкостями (рисунок 3, В). В результате в структуре мембраны формировалась сеть микропор, через которые происходило контролируемое высвобождение субстанции. Использование CPOP позволило отказаться от стадии лазерного сверления и упростить масштабирование промышленного производства [24].

Несмотря на общность принципа действия, представленные OROS-платформы существенно различаются по области применения и технологическим возможностям. Элементарный осмотический насос (EOP) характеризуется наиболее простой конструкцией и высокой воспроизводимостью процесса высвобождения, однако его применение ограничивается преимущественно хорошо растворимыми лекарственными веществами. Напротив, система PPOP за счет наличия дополнительного выталкивающего слоя позволяет осуществлять доставку малорастворимых АФИ в виде суспензий, что существенно расширяет область ее применения. Вместе с тем использование многослойной конструкции сопровождается повышением сложности технологического процесса и необходимостью строгого контроля параметров производства.

Система CPOP занимает промежуточное положение между EOP и PPOP, сочетая относительно простую конструкцию с возможностью модификации характеристик мембраны путем изменения содержания порообразующих компонентов. Отсутствие необходимости лазерного формирования выходного отверстия позволяет упростить масштабирование технологии и снизить производственные затраты. В связи с этим выбор конкретной OROS-платформы определяется физико-химическими свойствами АФИ, требуемым профилем высвобождения и особенностями технологического процесса. Для разработки таких систем требуется конструктивный подход с учетом основных факторов, влияющих на кинетику высвобождения этих систем. Далее в статье они будут рассмотрены подробнее.

Факторы, определяющие скорость высвобождения из OROS

Осмотический градиент как движущая сила высвобождения

В OROS-платформах основным фактором, регулирующим кинетику высвобождения, является величина осмотического градиента между внутренним содержимым лекарственной формы и окружающей средой [1, 17]. Возникающая разность осмотического давления обеспечивает поступление воды через полупроницаемую мембрану и определяет скорость набора внутреннего давления системы.

Осмотическое давление раствора описывается уравнением Вант-Гоффа:

$$\pi = iCRT,$$

где π – осмотическое давление; i – коэффициент Вант-Гоффа; C – концентрация растворенных веществ; R – универсальная газовая постоянная; T – абсолютная температура.

Из данного соотношения следует, что увеличение концентрации осмотически активных компонентов приводит к росту осмотического давления внутри системы. Данное явление используется для управления скоростью проникновения воды через мембрану и последующего контроля скорости высвобождения лекарственного вещества. В таблице 2 приведены наиболее часто используемые осмотические агенты и величины их осмотических давлений [25].

Скорость поступления воды через полупроницаемую мембрану может быть описана следующим выражением:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{Ak}{h}\Delta\pi,$$

где dV/dt – скорость поступления жидкости; A – площадь поверхности мембраны; k – коэффициент проницаемости мембраны; h – толщина мембраны; Δ – разность осмотического давления между внутренней и внешней средой.

Таблица 2. Осмотическое давление насыщенных растворов широко применяемых фармацевтических соединений

Table 2. Osmotic pressure of saturated solutions of common pharmaceutical solutes

Соединение или смесь Compound or mixture	Осмотическое давление, атм Osmotic pressure, atm
Лактоза – фруктоза Lactose – fructose	500
Декстроза – фруктоза Dextrose – fructose	450
Сахароза – фруктоза Sucrose – fructose	430
Маннитол – фруктоза Mannitol – fructose	415
Хлорид натрия Sodium chloride	356
Фруктоза Fructose	335
Лактоза – сахароза Lactose – sucrose	250
Хлорид калия Potassium chloride	245
Лактоза – декстроза Lactose – dextrose	225
Маннитол – декстроза Mannitol – dextrose	225
Декстроза – сахароза Dextrose – sucrose	190
Маннитол – сахароза Mannitol – sucrose	170
Сахароза Sucrose	150
Маннитол – лактоза Mannitol – lactose	130
Декстроза Dextrose	82
Сульфат калия Potassium sulfate	39
Маннитол Mannitol	38
Фосфат натрия трехзамещенный 12-водный Sodium phosphate tribasic · $12H_2O$	36
Фосфат натрия двухзамещенный 7-водный Sodium phosphate dibasic · $7H_2O$	31
Фосфат натрия двухзамещенный 12-водный Sodium phosphate dibasic · $12H_2O$	31
Фосфат натрия двухзамещенный безводный Sodium phosphate dibasic anhydrous	29
Фосфат натрия однозамещенный моногидрат Sodium phosphate monobasic · H_2O	28

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Из представленного уравнения следует, что увеличение осмотического давления и площади мембраны сопровождается повышением скорости поступления воды, тогда как увеличение толщины мембраны приводит к снижению данного показателя. Вследствие этого изменение состава ядра и характеристик мембраны рассматривается как один из основных инструментов регулирования профиля высвобождения в осмотических системах [1, 24]. Кроме того, уравнение подчеркивает важность такого параметра, как растворимость АФИ, при выборе подходящего типа осмотической системы, поскольку она, наряду с осмогенами, влияет на формирование внутреннего осмотического давления и способность системы поддерживать постоянную скорость высвобождения препарата. При недостаточном растворении активного вещества уменьшается концентрация растворенных частиц, вследствие чего снижается градиент осмотического давления и уменьшается скорость поступления воды внутрь системы.

Несмотря на различия в конструкции EOP, PPOP и CPOP, влияние осмотического давления на процесс высвобождения носит универсальный характер. В системах EOP увеличение концентрации осмогенов способствует ускорению образования насыщенного раствора и увеличению скорости его выведения через выходное отверстие. Однако чрезмерное повышение осмотического давления может приводить к нарушению линейности профиля высвобождения и быстрому истощению лекарственного ядра [7].

В системах PPOP осмотический градиент влияет не только на поступление воды, но и на степень гидратации выталкивающего слоя. Скорость набухания полимера определяет интенсивность механического давления, возникающего внутри системы, вследствие чего изменение концентрации осмотически активных веществ и молекулярной массы набухающих полимеров может существенно изменять профиль высвобождения лекарственного вещества [21].

В случае CPOP дополнительное влияние оказывает структура полупроницаемой мембраны. Изменение концентрации порообразующих веществ влияет на количество и размеры образующихся пор, что определяет скорость проникновения воды и дальнейшее высвобождение АФИ. Увеличение содержания порообразователей сопровождается ростом проницаемости мембраны и, как следствие, ускорением высвобождения лекарственного вещества [9, 23, 24].

Таким образом, регулирование скорости высвобождения в OROS-системах основано не только на величине осмотического давления, но и на комплексном взаимодействии параметров ядра и мембраны. Контроль концентрации осмотически активных компонентов, характеристик полимеров и свойств мембраны позволяет получать прогнозируемый профиль высвобождения, приближающийся к кинетике нулевого порядка.

Полупроницаемая мембрана

Полупроницаемая мембрана в осмотических системах действует как селективный барьер, обеспечивая транспорт воды при одновременном ограничении выхода растворенных компонентов ядра.

Анализ ранних патентов ALZA показывает, что на начальных этапах разработки рассматривался широкий спектр мембранообразующих материалов, включая производные целлюлозы, полиамиды, полиуретаны и сульфированные полистирольные соединения [3]. Однако последующее развитие технологии продемонстрировало, что оптимальные характеристики демонстрируют производные целлюлозы, включая целлюлозы ацетат, этилцеллюлозу, целлюлозы диацетат, целлюлозы триацетат, целлюлозы пропионат и целлюлозы ацетат-бутират [26, 27]. Наибольшее практическое значение имеет ацетат целлюлозы [28, 29], который впоследствии стал практически промышленным стандартом для большинства коммерческих OROS-препаратов (Procardia XL®, Concerta®, Glucotrol XL® и др.)[1].

Преимущества ацетата целлюлозы (АЦ) связаны с высокой механической прочностью, воспроизводимым формированием тонких пленок и регулируемой водопроницаемостью [1]. Наряду с классическими мембранами на основе ацетата целлюлозы применяются и водные полимерные дисперсии, например покрытия на основе Eudragit® RL 30D / RS 30D и Kollicoat® SR 30D. Такие системы рассматриваются прежде всего как технологическая альтернатива покрытиям из органических растворителей, поскольку позволяют снизить токсикологические и экологические риски, связанные с применением ацетона или этанола. При этом показано, что водно-дисперсионные покрытия могут формировать профили высвобождения, сопоставимые с мембранами из ацетата целлюлозы [27].

В большинстве OROS-систем полупроницаемая мембрана представляет собой многокомпонентную композицию, содержащую мембранообразующий полимер, пластификатор и регуляторы проницаемости [3, 30]. Пластификаторы выполняют функцию регулирования механических и транспортных свойств мембраны. Наиболее широко используемыми пластификаторами являются полиэтиленгликоль (ПЭГ-400 – ПЭГ-6000), триацетин (ТА), триэтилцитрат, дибутилфталат, пропиленгликоль и др. [31]. Полиэтиленгликоль (ПЭГ) не только повышает эластичность покрытия, но и участвует в формировании дополнительных транспортных путей после частичного вымывания из мембраны[2] (рисунок 4) [32].

[1] Jiang Q., Yi W., Liu Q., Yang W., Zheng J. Osmotic pump controlled release tablet and preparation method thereof. European Patent EP2478919A1. 25.07.2012. Available at: https://patents.google.com/patent/EP2478919A1/en Accessed: 19.07.2026.

[2] Seminoff L. A., Zentner G. M. Cellulosic coating. United States Patent US5126146A. 30.06.1992. Available at: https://patents.google.com/patent/US5126146A/en Accessed: 19.07.2026.

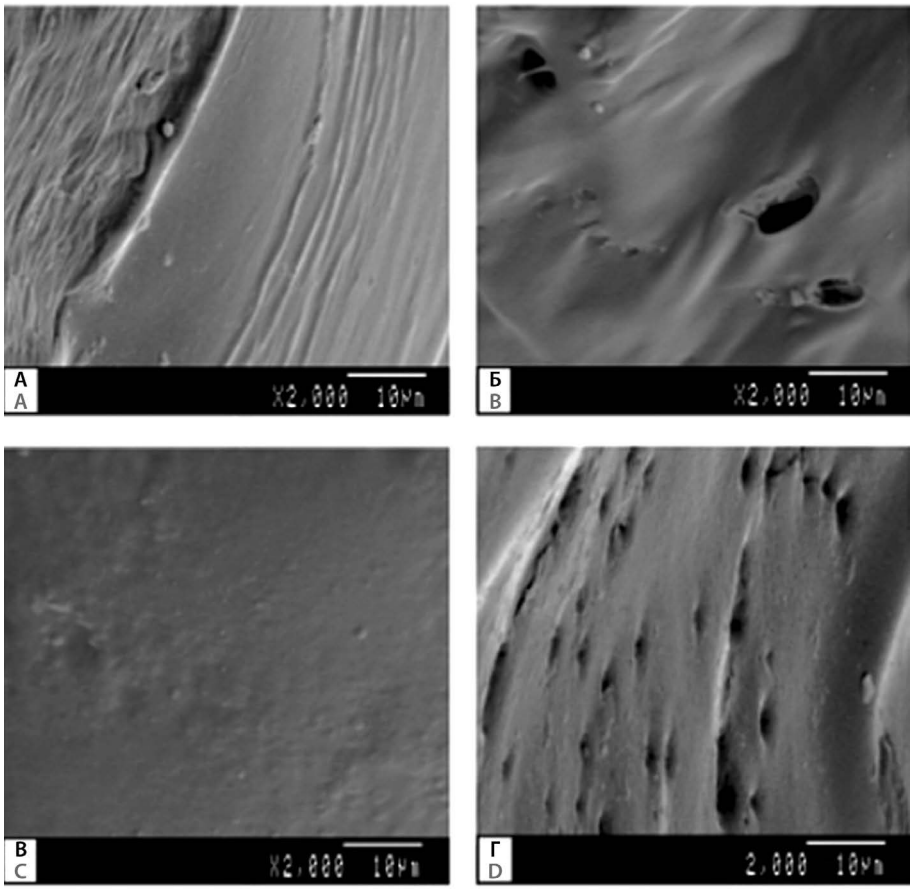


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Сканирующие электронные микрофотографии поперечного сечения полупроницаемой (АЦ + ТА) и микропористой (АЦ + ПЭГ-400) мембран до и после растворения:

А – полупроницаемая мембрана до растворения; Б – полупроницаемая мембрана после растворения; В – микропористая мембрана до растворения; Г – микропористая мембрана после растворения

Figure 4. Scanning electron micrographs of cross-sections of semipermeable (cellulose acetate + triacetin) and microporous (cellulose acetate + PEG 400) membranes before and after dissolution:

A – semipermeable membrane before dissolution; B – semipermeable membrane after dissolution; C – microporous membrane before dissolution; D – microporous membrane after dissolution

Благодаря этой способности ПЭГ в CPOP-системах может одновременно выполнять функции пластификатора и порообразующего компонента, в них он обычно применяется в более высоких концентрациях, чем в EOP- и PPOP-системах. Помимо ПЭГ, в CPOP-системах широко используются и другие водорастворимые соединения, формирующие пористую структуру покрытия после контакта с жидкой средой, такие как сорбитол, мочевина, поливинилпирролидон, сахароза и др. [9, 23, 33]. Увеличение содержания порообразователя повышает пористость мембраны и скорость высвобождения, однако при его избытке возможно чрезмерное увеличение проницаемости, снижение механической прочности покрытия и рост вклада диффузионного транспорта, поэтому данный параметр требует экспериментальной оптимизации [34–37].

Роль выходного отверстия и методы его формирования

Выходное отверстие представляет собой один из критических конструктивных элементов осмотических систем доставки, регулирующий гидродинамику системы и обеспечивающий поддержание профиля высвобождения. Скорость выхода лекарственного вещества определяется балансом между поступлением воды через полупроницаемую мембрану и сопротивлением потоку через отверстие.

Геометрические параметры выходного отверстия непосредственно определяют профиль высвобождения препарата. При уменьшении диаметра отверстия возрастает гидростатическое давление внутри таблетки, что может приводить к увеличению времени задержки высвобождения и затруднению продвиже-

ния лекарственной массы через выходной канал. Напротив, чрезмерное увеличение диаметра отверстия может приводить к снижению вклада осмотического механизма и увеличению роли диффузионного транспорта, что нарушает кинетику контролируемого высвобождения [38].

Диаметр выходного отверстия обычно варьируется в диапазоне 500–1000 мкм, однако конкретные значения определяются составом ядра, типом осмотического агента, вязкостью полимеров и требуемой скоростью доставки препарата [38]. Как правило, увеличение диаметра выходного отверстия приводит к повышению общей степени высвобождения и увеличению скорости выхода препарата.

Наиболее распространенным методом получения отверстий в промышленном производстве является лазерная микроперфорация, впервые подробно описанная Theeuwes и соавт.[1] [25, 39].

Метод предусматривает формирование отверстий после нанесения полупроницаемой мембраны с использованием сфокусированного лазерного луча. В производственных условиях обычно применяют CO_2-лазеры, позволяющие получать микроотверстия с высокой точностью и воспроизводимостью.

Использование лазерной микроперфорации имеет ряд преимуществ:

- ✓ высокая точность позиционирования;
- ✓ отсутствие механического контакта с поверхностью таблетки;
- ✓ высокая воспроизводимость размеров отверстий;
- ✓ возможность автоматизации процесса;
- ✓ пригодность для масштабирования промышленного производства.

Помимо лазерной перфорации, в литературе и патентной документации описаны альтернативные подходы. К ним относятся механическое сверление, использование модифицированных пуансонов с формированием углубления в ядре, а также методы, при которых участок будущего отверстия остается непокрытым во время нанесения мембраны[2] [1, 3]. Однако такие подходы менее универсальны для промышленного производства по сравнению с лазерным методом и сопровождаются плохой воспроизводимостью.

В рамках текущего исследования по разработке двухслойной осмотической системы для субстанции диклофенака натрия формирование выходного отверстия проводилось совместно с кафедрой лазерной химии и лазерного материаловедения Института химии Санкт-Петербургского государственного университета методом лазерной микроперфорации с использованием сфокусированного излучения третьей гармоники Nd:YAG лазера (Surelite-I, Continuum) с модуляцией добротности при следующих условиях: длина волны излучения – 355 нм, частота следования импульсов – 8 кГц, длительность импульса – 20 нс, мощность излучения – 150–180 мВт, фокусное расстояние линзы – 25 мм.

Результаты микроскопического исследования (рисунок 5) показали наличие четких границ отверстий без выраженного разрушения прилегающих участков мембраны, что свидетельствует о возможности воспроизводимого формирования выходных каналов с сохранением структурной целостности покрытия.

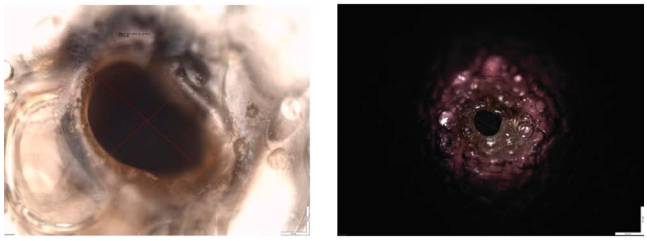


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. Микроскопические изображения выходных микроотверстий, сформированных методом лазерной микроперфорации в полупроницаемой мембране двухслойной осмотической системы

Figure 5. Microscopic images of delivering orifices formed by laser microperforation in the semipermeable membrane of a bilayer osmotic system

Таким образом, выходное отверстие является не просто элементом конструкции осмотической таблетки, а одним из основных факторов, определяющих кинетику высвобождения лекарственного вещества. Метод его формирования, геометрия и размер напрямую влияют на эффективность функционирования OROS-систем.

Полимеры выталкивающего слоя в двухслойных осмотических системах

Выталкивающий слой является характерной составляющей именно PPOP. Как уже было отмечено выше в статье, этот слой расширяется при гидратации и направляет лекарственную суспензию или раствор к выходному отверстию. Такой слой обычно состоит из одного или нескольких гидрофильных полимеров и осмотически активных агентов.

Наиболее типичным полимером выталкивающего слоя является высокомолекулярный полиэтиленоксид (ПЭО). Его применение связано с высокой способностью к гидратации, формированием вязкого гидрогеля и достаточной механической прочно-

[1] Theeuwes F., Saunders R. J., Mefford W. S. Process for forming outlet passageways in pills using a laser. United States Patent US4088864A. 09.05.1978. Available at: https://patents.google.com/patent/US4088864A/en Accessed: 19.07.2026.

[2] Ayer A. D., Balkie H. H. Method and apparatus for forming a hole in a drug dispensing device. United States Patent US5071607A. 10.12.1991. Available at: https://patents.google.com/patent/US5071607A/en Accessed: 19.07.2026.

стью [1, 3]. Помимо ПЭО, в литературе и патентах упоминаются гидроксипропилметилцеллюлоза, карбомеры, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, полиакриламиды и другие гидрофильные набухающие полимеры. Однако обоснованным и часто встречающимся материалом остается ПЭО, который в основном применятся с молекулярной массой порядка $3 \cdot 10^6$ – $8 \cdot 10^6$ г/моль, при этом наиболее типичным является диапазон около $5 \cdot 10^6$ г/моль и выше. Важно не путать его с низкомолекулярным ПЭО, который может использоваться в лекарственном слое как суспендирующий или деформирующий компонент, но не выполняет полноценную функцию выталкивающего гидрогеля [40, 41].

Масса лекарственного слоя в PPOP-системе обычно составляет около 60–80 % массы таблетки, тогда как осмотический полимерный слой – около 20–40 % [42]. Это соотношение важно технологически: при недостаточной доле выталкивающего слоя не формируется достаточное давление для полного вытеснения лекарственной массы; при чрезмерном содержании набухающего полимера возрастает риск деформации ядра, повышения задержки высвобождения, закупоривания отверстия или нарушения целостности мембраны [41, 43].

Содержание полимера в выталкивающем слое оказывает существенное влияние на скорость высвобождения. Увеличение количества набухающего полимерного компонента повышает скорость и суммарную степень высвобождения, поскольку возрастает давление, передаваемое на лекарственный слой. Однако этот эффект имеет предел: высокая когезия набухших полимерных частиц приводит к формированию плотного полимерного агломерата, снижению эффективности выталкивания и удержанию части лекарственного вещества внутри таблетки [21].

Моделирование и прогнозирование высвобождения из пероральных осмотических систем. Биофармацевтическая оценка

Современные подходы к моделированию и прогнозированию высвобождения из пероральных осмотических систем направлены на переход от эмпирического подбора состава к обоснованному управлению критическими факторами лекарственной формы: составом ядра, количеством осмогена, свойствами полупроницаемой мембраны, приростом массы покрытия, диаметром выходного отверстия и поведением набухающих полимеров. Для этого применяют подход «качество через разработку» (Quality by Design (QbD)) и статистическое планирование эксперимента, как показано на примере элементарной осмотической системы на основе метоклопрамида гидрохлорида, где концентрация осмогена, размер отверстия и масса покрытия определяли профиль высвобождения [44]. Более современные работы дополняют этот подход машинным обучением, физиологически обоснованным фармакокинетическим моделированием, механистическими моделями, методом дискретных элементов и визуализацией внутренней структуры таблетки [21, 28, 45]. Такие исследования показывают, что высвобождение из осмотических систем определяется не только осмотическим градиентом, но и гидратацией ядра, набуханием полимеров, внутренним давлением, геометрией таблетки, межчастичным взаимодействием и перемещением лекарственного слоя к выходному отверстию [21, 28, 47]. Биопредиктивные испытания растворения с применением магнитно-резонансной томографии и физиологически обоснованного биофармацевтического моделирования дополнительно позволяют оценивать связь между профилем высвобождения *in vitro* и предполагаемым поведением лекарственной формы *in vivo* [46].

Более предсказуемое поведение осмотических систем и относительная независимость высвобождения от физиологических факторов создают предпосылки для более устойчивой связи между профилем растворения *in vitro* и фармакокинетическим поведением *in vivo*. В обзоре [17] отмечено, что для ряда осмотических систем была показана линейная корреляция *in vitro / in vivo* (IVIVC), тогда как для гидрофильных матричных таблеток с теми же веществами и близкой скоростью высвобождения такая корреляция отсутствовала. Экспериментальные данные из исследования Cheng и соавт. по осмотическим таблеткам пропранолола гидрохлорида также подтверждают высокую связь между высвобождением *in vitro* и абсорбцией *in vivo* [27].

Клинические данные по OROS-гидроморфону и OROS-метопрололу дополнительно показывают минимальное влияние пищи на биодоступность для гидроморфона, а для метопролола не выявлено значимых различий между приемом натощак и после завтрака [10, 48]. Современные исследования подтверждают, что устойчивость механизма высвобождения в условиях, приближенных к физиологическим, позволяет прогнозировать влияние различий *in vitro* на плазменные концентрации и оценивать их потенциальную клиническую значимость [46].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных и патентных решений показывает, что OROS-системы следует рассматривать не как универсальную платформу для любых действующих веществ, а как технологически сложный вариант пероральной системы контролируемого высвобождения, применение которого должно быть обосновано. Именно конструктивная сложность таких систем формирует ряд барьеров, которые могут ограничивать их вывод на рынок.

Одним из ключевых барьеров является необходимость высокой воспроизводимости сразу нескольких взаимосвязанных элементов лекарственной формы: состава ядра, содержания осмотически активных веществ, свойств набухающих полимеров, толщины и пористости полупроницаемой мембраны, а также диаметра и расположения выходного отверстия. Нарушение любого конструктивного элемента может привести к изменению скорости поступления воды, внутреннего давления, полноты высвобождения или остаточного содержания действующего вещества в лекарственной форме. Поэтому для практического применения необходимо подтвердить технологическую устойчивость системы при масштабировании.

Преимущества пероральных осмотических систем сопровождаются более высокой стоимостью и сложностью производства, необходимостью специального оборудования, повышенными требованиями к контролю качества, а также большим количеством потенциальных точек риска. Поэтому конкурентное преимущество OROS проявляется прежде всего для тех АФИ, для которых возможность формирования предсказуемого и близкого к нулевому порядку профиля высвобождения, снижение влияния pH среды, гидродинамических условий и приема пищи на скорость высвобождения, а также поддержание более стабильных концентраций действующего вещества в плазме крови имеют принципиальное клиническое значение.

OROS остается важным направлением в технологии модифицированного высвобождения, поскольку позволяет заранее программировать профиль доставки лекарственного вещества за счет конструктивных параметров самой системы. Именно предсказуемость и воспроизводимость высвобождения отличают осмотические системы от многих традиционных систем и делают их особенно интересными для препаратов, требующих длительного поддержания терапевтической концентрации.

Наибольшее практическое значение имеют EOP, PPOP и CPOP, поскольку каждая из этих систем решает отдельную технологическую задачу: проблему доставки растворимых веществ, высвобождения малорастворимых АФИ за счет выталкивающего слоя или исключения стадии лазерного формирования отверстия за счет микропористой мембраны.

Интерес к OROS-технологии сохраняется благодаря ее клинической и технологической ценности, в то же время в Российской Федерации такие системы не получили широкого распространения ввиду вышеперечисленных ограничений.

Таким образом, дальнейшее развитие OROS-систем в отечественной фармацевтической практике представляется перспективным, но требует не простого переноса известных решений, а системного подхода к разработке: выбора подходящего типа осмотической платформы под свойства АФИ, обоснования состава мембраны и ядра, контроля микроотверстия и подтверждения воспроизводимости высвобождения. Именно такой подход может обеспечить практическую применимость OROS-технологии при создании современных препаратов с управляемым высвобождением.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Verma R. K., Krishna D. M., Garg S. Formulation aspects in the development of osmotically controlled oral drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*. 2002;79(1–3):7–27. https://doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00550-8
2. Леонова М. В. Новые лекарственные формы и системы доставки лекарственных средств: особенности пероральных лекарственных форм. Часть 2. *Лечебное дело*. 2009;(3):18–26. [Leonova M. V. New medicines and drug delivery systems: the peculiarities of oral forms. Part 2. *Lechebnoe delo*. 2009;(3):18–26. (In Russ.)]
3. Santus G., Baker R. W. Osmotic drug delivery: a review of the patent literature. *Journal of Controlled Release*. 1995;35(1):1–21. https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00013-x
4. Siepmann J., Peppas N. A. Hydrophilic matrices for controlled drug delivery: an improved mathematical model to predict the resulting drug release kinetics (the "sequential layer" model). *Pharmaceutical Research*. 2000;17(10):1290–1298. https://doi.org/10.1023/A:1026455822595
5. Colombo P., Bettini R., Santi P., Peppas N. A. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. *Pharmaceutical Science & Technology Today*. 2000;3(6):198–204. https://doi.org/10.1016/S1461-5347(00)00269-8
6. Siepmann J., Kranz H., Bodmeier R., Peppas N. A. HPMC-matrices for controlled drug delivery: a new model combining diffusion, swelling, and dissolution mechanisms and predicting the release kinetics. *Pharmaceutical Research*. 1999;16(11):1748–1756. https://doi.org/10.1023/A:1018914301328
7. Kumaravelrajan R., Narayanan N., Suba V., Bhaskar K. Simultaneous delivery of nifedipine and metoprolol tartarate using sandwiched osmotic pump tablet system. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010;399(1–2):60–70. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.08.003
8. Theeuwes F. Elementary osmotic pump. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1975;64(12):1987–1991. https://doi.org/10.1002/jps.2600641218
9. Zentner G. M., Rork G. S., Himmelstein K. J. Osmotic flow through controlled porosity films: an approach to delivery of water soluble compounds. *Journal of Controlled Release*. 1985;2:217–229. https://doi.org/10.1016/0168-3659(85)90047-1
10. Sathyan G., Chancellor M. B., Gupta S. K. Effect of OROS® controlled-release delivery on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oxybutynin chloride. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2001;52(4):409–417. https://doi.org/10.1046/j.0306-5251.2001.01463.x
11. Verma R. K., Garg S. Current status of drug delivery technologies and future directions. *Pharmaceutical Technology On-Line*. 2001;25(2):1–14.
12. Swanson D. R., Barclay B. L., Wong P. S. L., Theeuwes F. Nifedipine gastrointestinal therapeutic system. *The American Journal of Medicine*. 1987;83(6):3–9. https://doi.org/10.1016/0002-9343(87)90629-2

13. Missaghi S., Patel P., Farrell T. P., Huatan H., Rajabi-Siahboomi A. R. Investigation of critical core formulation and process parameters for osmotic pump oral drug delivery. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15(1):149–160. https://doi.org/10.1208/s12249-013-0040-4
14. Qiu X., Shu J., Chen Y., Min Q., Bai Y., Yao H., Qin S. Oral osmotic pump drug delivery systems: a narrative review of structural designs, functional mechanisms and emerging applications. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2026;39(7):1901–1916. https://doi.org/10.36721/PJPS.2026.39.7.181.1
15. Almoshari Y. Osmotic pump drug delivery systems—A comprehensive review. *Pharmaceuticals*. 2022;15(11):1430. https://doi.org/10.3390/ph15111430
16. Dasankoppa F. S., Ningangowdar M., Sholapur H. Formulation and evaluation of controlled porosity osmotic pump for oral delivery of ketorolac. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 2012;4(1):2–9. https://doi.org/10.4103/0976-0105.109398
17. Malaterre V., Ogorka J., Loggia N., Gurny R. Oral osmotically driven systems: 30 years of development and clinical use. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2009;73(3):311–323. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.07.002
18. Ogueri K. S., Shamblin S. L. Osmotic-controlled release oral tablets: technology and functional insights. *Trends in Biotechnology*. 2022;40(5):606–619. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.10.001
19. Navarro-Tumar D., García-Merino B., González-Fernández C., Ortiz I., San-Román M.-F., Bringas E. Novel applications in controlled drug delivery systems by integrating osmotic pumps and magnetic nanoparticles. *Sensors*. 2024;24(21):7042. https://doi.org/10.3390/s24217042
20. Liu L., Ku J., Khang G., Lee B., Rhee J. M., Lee H. B. Nifedipine controlled delivery by sandwiched osmotic tablet system. *Journal of Controlled Release*. 2000;68(2):145–156. https://doi.org/10.1016/s0168-3659(00)00243-1
21. Hu J., Zhang L., Li W., He Y., Wu C.-Y. Modelling the controlled drug release of push-pull osmotic pump tablets using DEM. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;660:124316. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124316
22. Thombre A. G., Cardinal J. R., DeNoto A. R., Herbig S. M., Smith K. L. Asymmetric membrane capsules for osmotic drug delivery: I. Development of a manufacturing process. *Journal of Controlled Release*. 1999;57(1):55–64. https://doi.org/10.1016/S0168-3659(98)00100-X
23. Makhija S. N., Vavia P. R. Controlled porosity osmotic pump-based controlled release systems of pseudoephedrine: I. Cellulose acetate as a semipermeable membrane. *Journal of Controlled Release*. 2003;89(1):5–18. https://doi.org/10.1016/s0168-3659(02)00482-0
24. Sahoo C. K., Sahoo N. K., Rao S. R. M., Sudhakar M., Satyanarayana K. A review on controlled porosity osmotic pump tablets and its evaluation. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*. 2015;53(2):195–205. https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2015.10.004
25. Singla D., Hari Kumar S. L., Nirmala. Osmotic pump drug delivery—A novel approach. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*. 2012;2(2):661–670.
26. Bansode A. S., Sarvanan K. Review on novel osmotic drug delivery system. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2018;8(5-s):87–93. https://doi.org/10.22270/jddt.v8i5-s.1961
27. Cheng L., Gai X., Wen H., Liu D., Tang X., Wang Y., Wang T., Pan W., Yang X. Aqueous polymer dispersion coating used for osmotic pump tablets: membrane property investigation and IVIVC evaluation. *AAPS PharmSciTech*. 2018;19(1):242–250. https://doi.org/10.1208/s12249-017-0837-7
28. Singh Tomar B., Tirumkudulu M. S., Yu W., Berchielli A., Doshi P. Osmotic tablet coatings: drying stress, mechanical properties and microstructure. *International Journal of Pharmaceutics*. 2022;617:121611. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121611
29. Ma C., Huang Z., Zhu Y., Chen X., Singh V., Huang Y., Pan X., Wu C. Production and *in vitro* evaluation of a lamotrigine extended release tablet based on a controlled-porosity osmotic pump system. *Die Pharmazie*. 2017;72(9):511–517. https://doi.org/10.1691/ph.2017.7054
30. Gupta B. P., Thakur N., Jain N. P., Banweer J., Jain S. Osmotically controlled drug delivery system with associated drugs. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2010;13(4):571–588. https://doi.org/10.18433/J38W25
31. Keraliya R. A., Patel C., Patel P., Keraliya V., Soni T. G., Patel R. C., Patel M. M. Osmotic drug delivery system as a part of modified release dosage form. *ISRN Pharmaceutics*. 2012;2012:528079. https://doi.org/10.5402/2012/528079
32. Emara L. H., Taha N. F., Badr R. M., Mursi N. M. Development of an osmotic pump system for controlled delivery of diclofenac sodium. *Drug Discoveries & Therapeutics*. 2012;6(5):269–277. https://doi.org/10.5582/ddt.2012.v6.5.269
33. Thombre A. G., Zentner G. M., Himmelstein K. J. Mechanism of water transport in controlled porosity osmotic devices. *Journal of Membrane Science*. 1989;40(3):279–310. https://doi.org/10.1016/S0376-7388(00)81152-7
34. Herbig S. M., Cardinal J. R., Korsmeyer R. W., Smith K. L. Asymmetric-membrane tablet coatings for osmotic drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 1995;35(2–3):127–136. https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00028-7
35. Lindstedt B., Ragnarsson G., Hjärtstam J. Osmotic pumping as a release mechanism for membrane-coated drug formulations. *International Journal of Pharmaceutics*. 1989;56(3):261–268. https://doi.org/10.1016/0378-5173(89)90023-9
36. Prabakaran D., Singh P., Kanaujia P., Jaganathan K. S., Rawat A., Vyas S. P. Modified push–pull osmotic system for simultaneous delivery of theophylline and salbutamol: development and in vitro characterization. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004;284(1–2):95–108. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.07.015
37. Shahi S. R., Zadbuke N. S., Gulecha B., Shivanikar S. S., Shinde S. B. Design and development of controlled porosity osmotic tablet of diltiazem hydrochloride. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2012;3(4):229–236. https://doi.org/10.4103/2231-4040.104714
38. Nokhodchi A., Momin M. N., Shokri J., Shahsavari M., Rashidi P. A. Factors affecting the release of nifedipine from a swellable elementary osmotic pump. *Drug Delivery*. 2008;15(1):43–48. https://doi.org/10.1080/10717540701829028
39. Gaebler F., Coffee G. Laser drilling enables advanced drug delivery systems. *Pharmaceutical Manufacturing*. 2007:1–7.
40. Nakajima T., Takeuchi I., Ohshima H., Terada H., Makino K. Push-pull controlled drug release systems: effect of molecular weight of polyethylene oxide on drug release. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018;107(7):1896–1902. https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.02.022

41. Verma R. K., Mishra B., Garg S. Osmotically controlled oral drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2000;26(7):695–708. https://doi.org/10.1081/DDC-100101287
42. Conley R., Gupta S. K., Sathyan G. Clinical spectrum of the osmotic-controlled release oral delivery system (OROS), an advanced oral delivery form. *Current Medical Research and Opinion*. 2006;22(10):1879–1892. https://doi.org/10.1185/030079906X132613
43. Mohanty A., Tirumkudulu M. S., Tomar B. S., Doshi P., Yu W., Berchielli A., Manthena S., Mao Y., Ogueri K. S. Drug release in bilayer osmotic tablets at high loadings. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2025;114:107374. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.107374
44. Farooqi S., Yousuf R. I., Shoaib M. H., Ahmed K., Ansar S., Husain T. Quality by Design (QbD)-based numerical and graphical optimization technique for the development of osmotic pump controlled-release metoclopramide HCl tablets. *Drug Design, Development and Therapy*. 2020;14:5217–5234. https://doi.org/10.2147/DDDT.S278918
45. Saleem M. T., Shoaib M. H., Yousuf R. I., Siddiqui F. RSM and AI based machine learning for quality by design development of rivaroxaban push-pull osmotic tablets and its PBPK modeling. *Scientific Reports*. 2025;15:7922. https://doi.org/10.1038/s41598-025-91601-z
46. Danielak D., Paszkowska J., Martin L., Gimbel J., Ferrizzi D., Dobosz J., Romański M., Baran E., Kulinowski P., Winiarski M., Smoleński M., Staniszewska M., Myslitska D., Rajabi-Siahboomi A., Garbacz G. Comprehensive evaluation of push–pull osmotic pump tablets using biopredictive dissolution tests in advanced modular platform, MRI visualizations, and pharmacokinetic simulations. *Molecular Pharmaceutics*. 2025;22(9):5576–5591. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5c00612
47. Maharjan A., Sun H., Cao Z., Li K., Liu J., Liu J., Xiao T., Peng G., Ji J., York P., Regmi B., Yin X., Zhang J., Wu L. Redefinition to bilayer osmotic pump tablets as subterranean river system within mini-earth *via* three-dimensional structure mechanism. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2022;12(5):2568–2577. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.11.008
48. van den Berg G., van Steveninck F., Gubbens-Stibbe J. M., Schoemaker H. C., de Boer A. G., Cohen A. F. Influence of food on the bioavailability of metoprolol from an OROS system; a study in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1990;39(3):315–316. https://doi.org/10.1007/BF00315121

Обзорная статья / Review article

УДК 615.1

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2417

Check for updates

CC BY 4.0

Гелевые и гидрогелевые повязки с антибактериальными и репаративными свойствами на основе материалов животного сырья: фармацевтико-технологические и регистрационные аспекты (обзор)

Н. С. Холопов[1]✉, А. Е. Суханов[1], В. В. Сепп[2], К. С. Бакулин[2], Е. Д. Кубасова[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России). 163000, Россия, Архангельская область, г. Архангельск, проспект Троицкий, д. 51

[2] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет)). 117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 6

✉ **Контактное лицо:** Суханов Антон Евгеньевич. **E-mail:** docpharmanton@hotmail.com

Резюме

Введение. Хронические, ожоговые, послеоперационные и инфицированные раны требуют раневых покрытий, которые не только поддерживают влажную среду, но и помогают контролировать бактериальную обсемененность, воспаление, экссудацию и регенерацию тканей. Гелевые и гидрогелевые повязки на основе биополимеров животного происхождения представляют особый интерес для фармацевтической отрасли, поскольку их свойства можно регулировать за счет выбора сырья, метода сшивки, состава матрицы и различных модификаций.

Текст. В обзоре рассмотрены шесть биополимерных платформ: коллаген, желатин, хитозан, гиалуроновая кислота, кератин и шелковый фиброин. Основное внимание уделено не только их антибактериальным и репаративным свойствам, но и технологическим параметрам, которые определяют возможность практического применения: молекулярной массе, степени модификации, времени гелеобразования, набуханию, механической прочности, адгезии к влажной ткани, профилю высвобождения, биодеградации, стерильности, стабильности и цитосовместимости. Отдельно рассмотрены методы сшивки, подходы к стандартизации сырья, выбор метода стерилизации, контроль качества, а также регистрационные особенности медицинских изделий и комбинированных продуктов.

Заключение. Перспективность гидрогелевой повязки определяется не только биологической активностью материала, но и воспроизводимостью ее критических показателей качества. Наиболее значимыми для дальнейшей разработки являются платформы, в которых состав, технология получения, стерилизация, высвобождение активных компонентов, безопасность и предполагаемое клиническое применение связаны уже на этапе проектирования изделия.

Ключевые слова: гидрогель, гелевая повязка, раневое покрытие, коллаген, желатин, хитозан, гиалуроновая кислота, кератин, шелковый фиброин, высвобождение, стерилизация, стабильность

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

Вклад авторов. Н. С. Холопов проводил сбор и систематизацию материала, осуществлял работу с табличными материалами, отвечал за подготовку рукописи. А. Е. Суханов отвечал за редактирование текста статьи, научное консультирование и формулирование концептуальной идеи публикации. В. В. Сепп, К. С. Бакулин и Е. Д. Кубасова участвовали в анализе источников, обсуждении структуры обзора и подготовке финальной редакции.

Для цитирования: Холопов Н. С., Суханов А. Е., Сепп В. В., Бакулин К. С., Кубасова Е. Д. Гелевые и гидрогелевые повязки с антибактериальными и репаративными свойствами на основе материалов животного сырья: фармацевтико-технологические и регистрационные аспекты. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):134–152. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2417

Поступила в редакцию: 08.07.2026
Поступила после рецензирования: 04.08.2026
Принята к публикации: 21.08.2026

© Холопов Н. С., Суханов А. Е., Сепп В. В., Бакулин К. С., Кубасова Е. Д., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Kholopov N. S., Sukhanov A. E., Sepp V. V., Bakulin K. S., Kubasova E. D., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Gel and hydrogel dressings with antibacterial and reparative properties based on animal-derived materials: pharmaceutical-technological and regulatory aspects (review)

Nikita S. Kholopov[1]✉, Anton E. Sukhanov[1], Vladimir V. Sepp[2], Konstantin S. Bakulin[2], Elena D. Kubasova[1]

[1] Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «North State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation». 51, Troitsky prospekt, Arkhangelsk, Arkhangelsk Region, 163000,, 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). 1/6, Ostrovityanova str., Moscow, 117513, Russia

✉ **Corresponding author:** Anton E. Sukhanov. **E-mail:** docpharmanton@hotmail.com

Abstract

Introduction. Chronic, burn, postoperative and infected wounds require dressings that not only maintain a moist environment, but also help control bacterial contamination, inflammation, exudation and tissue regeneration. Gel and hydrogel dressings based on animal-derived biopolymers are of interest for pharmaceutical industry because their properties can be adjusted through the choice of raw material, crosslinking method, matrix composition and various modifications.

Text. This review discusses six biopolymer platforms: collagen, gelatin, chitosan, hyaluronic acid, keratin and silk fibroin. The focus is placed not only on their antibacterial and reparative properties, but also on the technological parameters that determine their practical applicability: molecular weight, degree of modification, gelation time, swelling, mechanical strength, adhesion to wet tissue, release profile, biodegradation, sterility, stability and cytocompatibility. Crosslinking methods, approaches to raw material standardization, choice of sterilization method, quality control, the level of preclinical and clinical evidence, and regulatory aspects of medical devices and combination products are also considered.

Conclusion. The potential of a hydrogel dressing is determined not only by the biological activity of the material, but also by the reproducibility of its critical quality attributes. The most relevant platforms for further development are those in which composition, manufacturing technology, sterilization, release of active components, safety and intended clinical use are linked at the design stage.

Keywords: hydrogel, gel dressing, wound dressing, collagen, gelatin, chitosan, hyaluronic acid, keratin, silk fibroin, release, sterilization, stability

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

Contribution of the authors. Nikita S. Kholopov collected and systematized the literature, prepared the tables, and drafted the manuscript. Anton E. Sukhanov edited the manuscript, provided scientific consulting, and formulated the conceptual framework of the review. Vladimir V. Sepp, Konstantin S. Bakulin, and Elena D. Kubasova participated in source analysis, discussion of the review structure, and preparation of the final version.

For citation: Kholopov N. S., Sukhanov A. E., Sepp V. V., Bakulin K. S., Kubasova E. D. Gel and hydrogel dressings with antibacterial and reparative properties based on animal-derived materials: pharmaceutical-technological and regulatory aspects. *Drug development & registration*. 2026;15(3):134–152. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2417

Received: 08.07.2026
Revised: 04.08.2026
Accepted: 21.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Хронические и инфицированные раны остаются значимой клинико-экономической проблемой, поскольку длительное воспаление, бактериальная контаминация, избыток протеаз и нарушение формирования внеклеточного матрикса приводят к затяжному течению заживления, рецидивам и повышению расходов на лечение [1–3]. Современное раневое покрытие уже не может рассматриваться только как физический барьер. Оно должно поддерживать влажную среду, обеспечивать газообмен, сорбировать экссудат, снижать микробную нагрузку, не повреждать грануляционную ткань при смене повязки и при необходимости служить локальной системой доставки активных веществ [4–6].

По современным оценкам, хронические раны встречаются примерно у 2 % взрослого населения, а экономическая нагрузка, связанная с их лечением,

измеряется десятками миллиардов долларов США в год [1, 2]. Даже при адекватной санации и антисептической терапии нарушение баланса между воспалением, микробной контаминацией и регенерацией нередко приводит к затяжному течению восстановления раневой поверхности, образованию грубой рубцовой ткани и возможным повторным инфекционным заражениям и связанным с ними осложнениям.

Гелевые и гидрогелевые повязки соответствуют этим требованиям лучше традиционных марлевых материалов благодаря трехмерной водонасыщенной структуре. В зависимости от состава и способа сшивки они могут быть листовыми, пленочными, губчатыми, инъекционными, формирующимися непосредственно на месте применения, термочувствительными, адгезивными, самовосстанавливающимися, электропроводящими или фототермически активируемыми [5, 7, 8]. Однако для фармацевтической разработки важен не сам факт образования геля, а воспроизводимость критических свойств: времени гелеобразования, степени набухания, прочности, адгезии, стерильности, скорости высвобождения активных компонентов, биодеградации и стабильности при хранении.

Биополимеры животного происхождения и родственные им природные матрицы занимают особое место в разработке раневых покрытий. Коллаген и желатин содержат клеточно-адгезивные мотивы и имитируют дермальный матрикс; хитозан сочетает гемостатические, мукоадгезивные и антимикробные свойства; гиалуроновая кислота регулирует гидратацию и клеточную миграцию; кератин и шелковый фиброин формируют прочные биодеградируемые каркасы [8–11]. Вместе с тем именно эти материалы наиболее чувствительны к вариабельности сырья, способу выделения, остаточным примесям, стерилизации и условиям масштабирования.

Цель настоящего обзора – рассмотреть гелевые и гидрогелевые повязки на основе материалов животного сырья как объект фармацевтической технологии и регистрации, а не только как биомедицинские экспериментальные системы. В связи с этим акцент сделан на критическом сопоставлении шести биополимерных платформ, технологических методов сшивки, требований к контролю качества, стерилизации, стабильности, доклинической и клинической доказательности, а также регистрационных особенностей медицинских изделий и комбинированных продуктов.

Методы поиска и оценки литературы. Поиск проводили по научным публикациям 2015–2025 гг. в базах PubMed, Scopus, Web of Science и ClinicalTrials.gov. Использовали русские и английские эквиваленты терминов: «гидрогелевая раневая повязка», «гелевая раневая повязка», «коллагеновый гидрогель», «метакрилированный желатин», «хитозановый гидрогель», «гидрогель гиалуроновой кислоты», «кератиновый гидрогель», «шелковый фиброин», «заживление ран», «антибактериальная активность», «высвобождение», «стерилизация», «стабильность», «медицинское изделие» и «комбинированный продукт». Дополнительно анализировали актуальные стандарты ISO 10993[1], ISO 14971[2], ISO 11137[3], Регламент (EU) 2017/745[4], российские и евразийские правила регистрации медицинских изделий.

Включали научные публикации, где были указаны: состав матрицы, способ сшивки, параметры сырья, хотя бы один количественный технологический показатель и биологическая оценка. Исключали работы, в которых материал описывался только как «эффективный» или «перспективный» без состава, методики получения, контроля набухания, высвобождения, механики или цитосовместимости.

Фармацевтическая логика разработки гидрогелевой повязки. С позиции фармацевтической технологии гидрогелевая повязка представляет собой не просто смесь полимера и воды, а лекарственно-технологическую платформу с набором критических показателей качества. К ним относятся идентичность и чистота полимера, молекулярно-массовое распределение, степень модификации, остаточные реагенты и эндотоксины, pH, осмолярность, содержание воды, степень набухания, скорость гелеобразования, вязкоупругие характеристики, адгезия к влажной ткани, устойчивость к экссудату, профиль высвобождения активного компонента, микробиологическая чистота или стерильность, а также сохранение свойств после стерилизации и хранения.

Основная ошибка многих экспериментальных работ заключается в том, что биологический эффект рассматривается отдельно от технологии. Например, высокий антибактериальный эффект серебра, хлоргексидина или фототермических наночастиц не имеет самостоятельной ценности, если он сопровождается цитотоксичностью, разрушением геля после стерилизации или неконтролируемым начальным выбросом действующего вещества. Напротив, умеренная антимикробная активность может быть технологически предпочтительнее, если она воспроизводима, безопасна для фибробластов и кератиноцитов, со-

[1] Regulation (EU) 2017/745 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on medical devices. Available at: https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/745/oj/eng Accessed: 01.07.2026.

[2] ISO 11137-1:2025. Sterilization of health care products – Radiation – Part 1: Requirements for development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices. Available at: https://www.iso.org/standard/81721.html Accessed: 01.07.2026.

[3] ISO 14971:2019. Medical devices – Application of risk management to medical devices. Available at: https://www.iso.org/standard/72704.html Accessed: 01.07.2026.

[4] ISO 10993-1:2025. Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing within a risk management process. Available at: https://www.iso.org/standard/10993-1 Accessed: 01.07.2026

храняется при промышленной стерилизации и подтверждается моделью высвобождения.

Для раневых покрытий особенно важен баланс между прочностью и биодеградацией. Слишком рыхлая сеть быстро разрушается в экссудативной среде, теряет контакт с раной и приводит к неконтролируемому высвобождению активных веществ.

Стандартизация сырья – основа воспроизводимости. Для коллагена критичны вид животного, тканевый источник, тип коллагена, метод экстракции, остаточные телопептиды, степень сохранения тройной спирали и риск иммуногенности. Материалы рыбного происхождения могут снижать часть зоонозных ограничений, но имеют более низкую температуру денатурации; коллаген крупного рогатого скота технологически доступен, но требует более строгого контроля вирусной и прионной безопасности. Для желатина важны сила геля, температура гелеобразования, вязкость раствора, аминокислотный профиль и остаточные сшивающие агенты. Для хитозана ключевыми параметрами являются степень деацетилирования, молекулярная масса, распределение по фракциям, растворимость при физиологическом pH, зольность, остаточный белок, тяжелые металлы и микробиологическая чистота. Именно эти показатели определяют заряд полимера, мукоадгезию, гемостатическую активность, способность к образованию оснований Шиффа и реальную антимикробную активность [10–12].

Гиалуроновая кислота стандартизуется по молекулярной массе, полидисперсности, источнику получения, содержанию белков и нуклеиновых кислот, эндотоксинам и степени химической модификации. Низкомолекулярные фракции быстрее диффундируют и деградируют, но могут по-иному влиять на воспаление; высокомолекулярные фракции улучшают вязкоупругость и гидратацию, но требуют контролируемой сшивки для устойчивости в раневой среде [13–19].

Кератин, получаемый из шерсти, волос или перьев, нуждается в контроле степени восстановления дисульфидных связей, содержания цистеина, остаточных восстановителей, запахообразующих примесей и растворимости.

Для шелкового фиброина критичны источник шелка, степень удаления серцина, молекулярная масса, содержание β-листов, остаточный литий-бромид или другие растворители, а также способность к стерилизации без потери механических свойств [20–22].

Конструкционные и функциональные различия основных биополимерных платформ представлены на рисунке 1, а параметры стандартизации сырья – в таблице 1.

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Конструкционные и технологические различия биополимерных платформ для гидрогелевых раневых повязок

Figure 1. Structural and technological distinctions of biopolymer platforms for hydrogel wound dressings

Таблица 1. **Практические параметры стандартизации биополимерного сырья для гидрогелевых повязок**

Table 1. **Practical standardization parameters for biopolymer raw materials used in hydrogel dressings**

Биологическая матрица Biological matrix	**Критические параметры сырья** Critical raw-material parameters	**Практический диапазон / ориентир** Practical range / benchmark	**Методы контроля** Control methods	**Технологическое значение** Technological significance	**Источники** References
Коллаген Collagen	Типы I/III, источник, денатурация, остаточные телопептиды, бионагрузка Types I/III, source, denaturation, residual telopeptides, bioburden	Температура денатурации выше температуры раневой поверхности; минимизация телопептидов; нормируемая бионагрузка до стерилизации Denaturation temperature above wound-surface temperature; minimized telopeptides; specified pre-sterilization bioburden	Дифференциальная сканирующая калориметрия, SDS-ПААГ, аминокислотный профиль, бионагрузка, эндотоксины Differential scanning calorimetry, SDS-PAGE, amino-acid profile, bioburden, endotoxins	Определяет иммуногенность, прочность, деградацию и совместимость со стерилизацией Determines immunogenicity, strength, degradation, and sterilization compatibility	[23, 27–29]
Желатин / метакрилированный желатин (GelMA) Gelatin / gelatin methacryloyl (GelMA)	Сила геля по Блуму, вязкость, степень метакрилирования, остаточные реагенты и фотоинициатор Bloom strength, viscosity, degree of methacrylation, residual reagents, and photoinitiator	Сила геля по Блуму ≥200; степень модификации обычно 5–25 %, для фотогелей часто около 15 ± 3 % Bloom strength ≥200; modification commonly 5–25 %, often about 15 ± 3 % for photogels	^{1}H-ЯМР, эксклюзионная/гель-проникающая хроматография, ИК-фурье-спектроскопия, реология, экстрагируемые вещества ^{1}H NMR, size-exclusion/gel-permeation chromatography, FTIR spectroscopy, rheology, extractables	Определяет фотосшивку, глубину полимеризации, набухание и токсичность экстрактов Determines photocrosslinking, polymerization depth, swelling, and extract toxicity	[24, 30–32]
Хитозан Chitosan	Степень деацетилирования, средневесовая молекулярная масса, зольность, остаточный белок, растворимость, тяжелые металлы Degree of deacetylation, weight-average molecular weight, ash, residual protein, solubility, heavy metals	Степень деацетилирования 70–85 %; молекулярная масса 50–300 кДа; зольность <1 %; положительный ζ-потенциал Degree of deacetylation 70–85 %; molecular weight 50–300 kDa; ash <1 %; positive ζ-potential	Потенциометрия, эксклюзионная хроматография, элементный анализ, ζ-потенциал, лимулус-амебоцитный тест Potentiometry, size-exclusion chromatography, elemental analysis, ζ-potential, Limulus amebocyte lysate test	Определяет катионный заряд, гемостаз, антимикробность, pH-зависимость и цитосовместимость Determines cationic charge, hemostasis, antimicrobial activity, pH dependence, and cytocompatibility	[8–12, 34–37]
Гиалуроновая кислота Hyaluronic acid	Средневесовая молекулярная масса, индекс полидисперсности, источник, эндотоксины, степень окисления/метакрилирования Weight-average molecular weight, polydispersity index, source, endotoxins, degree of oxidation/methacrylation	Молекулярная масса 300–1500 кДа; индекс полидисперсности ≤2,0; эндотоксины <0,5 ЕЭ/мг Molecular weight 300–1500 kDa; polydispersity index ≤2.0; endotoxins <0.5 EU/mg	Эксклюзионная хроматография с многоугловым светорассеянием, лимулус-амебоцитный тест, ЯМР, ИК-фурье-спектроскопия, вязкость SEC with multi-angle light scattering, Limulus amebocyte lysate test, NMR, FTIR, viscosity	Определяет гидратацию, ферментативную деградацию, реологию и клеточную миграцию Determines hydration, enzymatic degradation, rheology, and cell migration	[13–15, 35–37]

Окончание таблицы 1

Биологическая матрица Biological matrix	**Критические параметры сырья** Critical raw-material parameters	**Практический диапазон / ориентир** Practical range / benchmark	**Методы контроля** Control methods	**Технологическое значение** Technological significance	**Источники** References
Кератин Keratin	Дисульфидные связи, содержание цистеина, остаточные восстановители, запах, цвет Disulfide bonds, cysteine content, residual reducing agents, odor, color	Сохранение дисульфидной сети; остаточные восстановители ниже установленной спецификации Preserved disulfide network; residual reducing agents below the established specification	ИК-фурье-спектроскопия, метод Эллмана, аминокислотный анализ, эксклюзионная хроматография, органолептика FTIR spectroscopy, Ellman assay, amino-acid analysis, size-exclusion chromatography, organoleptic testing	Определяет растворимость, антиоксидантный потенциал, стабильность и безопасность деградации Determines solubility, antioxidant potential, stability, and degradation safety	[16–19]
Шелковый фиброин Silk fibroin	Удаление серцина, β-слои, средневесовая молекулярная масса, остаточные соли и растворители Sericin removal, β-sheets, weight-average molecular weight, residual salts and solvents	Доля β-слоев как управляемый параметр; остаточный бромид лития ниже аналитического предела спецификации β-sheet content as a controlled parameter; residual lithium bromide below the analytical limit of the specification	Широкоугловое рентгеновское рассеяние, ИК-фурье-спектроскопия, эксклюзионная хроматография, ICP-OES, анализ серцина Wide-angle X-ray scattering, FTIR, size-exclusion chromatography, ICP-OES, sericin assay	Определяет прочность, хрупкость, скорость деградации и совместимость со стерилизацией Determines strength, brittleness, degradation rate, and sterilization compatibility	[20–22, 33, 38, 39]

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Методы сшивки и архитектура гидрогелевой сети. Физическая сшивка основана на водородных связях, гидрофобных взаимодействиях, ионных комплексах, кристаллизации или термоиндуцированном переходе золь – гель. Ее преимущество заключается в отсутствии токсичных ковалентных реагентов, но такие системы часто менее стабильны в экссудате и сильнее зависят от температуры, pH и ионной силы. Для гелевых повязок это означает необходимость проверки не только в воде или фосфатном буфере, но и в модельной раневой жидкости.

Ковалентная сшивка повышает механическую прочность и управляемость деградации. Наиболее актуальны мягкие динамические связи: шиффовы основания, гидразоновые, боронатные, дисульфидные и ферментативные связи. Они позволяют получать самовосстанавливающиеся и инъекционные гидрогели, однако требуют контроля остаточных альдегидов, окислителей, фотосенсибилизаторов и инициаторов [11, 18, 23]. Для белковых матриц особенно перспективна фотоинициируемая сшивка, в том числе на основе метакрилированного желатина и фиброина, но ее масштабирование зависит от глубины проникновения света, геометрии изделия и равномерности дозы.

Ионная сшивка применима для композиций с альгинатом, хитозаном и гиалуроновой кислотой. Она технологически проста, но может приводить к быстрой ионообменной деградации в присутствии ионов натрия и белков экссудата. Поэтому для клинически значимых повязок чаще используются двойные сети: физическая сшивка обеспечивает мягкую адаптацию к ткани, а ковалентные или ферментативные связи формируют долговременную устойчивость.

Для промышленной разработки выбор метода сшивки должен быть связан с финальной лекарственной формой. Листовая стерильная повязка требует стабильности формы и упаковки; инъекционный непосредственно на месте применения гель – воспроизводимого времени гелеобразования при 32–37 °C; система, созданная с помощью трехмерной печати, – реологических характеристик биочернил; гидрогель с лекарственным веществом – совместимости с активным компонентом и сохранения профиля высвобождения после стерилизации.

Технологические способы формирования гидрогелевой сети относительно способа формирования сети представлены в таблице 2.

Стерилизация, стабильность и масштабирование. Раневые покрытия, контактирующие с поврежденной кожей, должны рассматриваться как изделия с высокими требованиями к микробиологической безопасности. Выбор стерилизации является одним из наиболее критичных этапов разработки. Гамма-излучение и электронный пучок технологически удобны для готовых упакованных изделий, но способны вызывать разрыв полисахаридных цепей, окисление белков, изменение цвета, снижение вязкости и ускорение деградации. Этиленоксид эффективен для термолабильных материалов, но требует контроля остаточного этиленоксида, этиленхлоргидрина и этиленгликоля. Асептическое производство и фильтрационная стерилизация применимы преимущественно для растворов-предшественников, но не для готовых сшитых гидрогелей.

Для белковых и полисахаридных матриц нельзя переносить режим стерилизации из справочника без экспериментальной проверки. Один и тот же метод может по-разному влиять на коллаген, хитозан и фиброин: у коллагена нарушается надмолекулярная структура, у хитозана меняется молекулярная масса, у фиброина увеличивается доля β-листов или хрупкость. Следовательно, валидация должна включать сравнение до и после стерилизации по механическим свойствам, набуханию, высвобождению, цитосовместимости и антибактериальной активности.

Стабильность гидрогелей определяется содержанием воды, активностью воды, pH, упаковкой, риском гидролиза, окисления, потери летучих компонентов и микробной контаминации. Для готовых водонасыщенных повязок существенны барьерные свойства упаковки и сохранение стерильности; для лиофилизированных или сухих прекурсоров – время регидратации, воспроизводимость гелеобразования и отсутствие необратимой агрегации. Ускоренные испытания стабильности должны дополняться реальными условиями хранения, поскольку механическая деградация и изменение высвобождения не всегда корректно прогнозируются только температурным стрессом.

Масштабирование связано с переходом от лабораторного смешивания к контролируемому производственному процессу. Критичны порядок внесения компонентов, скорость перемешивания, удаление пузырьков, температура, pH, время выдержки, толщина слоя, дозирование в первичную упаковку, однородность сшивки и валидация очистки оборудования. При наличии активного вещества необходимо дополнительно доказать однородность распределения и отсутствие несовместимости с полимером, упаковкой и методом стерилизации. Методы стерилизации относительно типов изделий из животного сырья представлены в таблице 3.

Выбор метода стерилизации должен быть сделан до фиксации финальной формулы. Для белковых и полисахаридных гидрогелей стерилизацию нельзя считать нейтральным этапом: она может менять молекулярную массу, вязкоупругость, набухание, цвет, скорость высвобождения и цитосовместимость. Поэтому в спецификацию необходимо включать сравнение показателей до и после стерилизации, а не только факт прохождения теста на стерильность.

Таблица 2. Технологические способы формирования гидрогелевой сети, практические метрики и риски разработки

Table 2. Technological methods of hydrogel network formation, practical metrics, and development risks

Способ формирования сети Network formation method	Типичные материалы Typical materials	Практические метрики Practical metrics	Ключевые риски Key risks	Контрольные показатели Control attributes	Источники References
Физическая/термическая сшивка Physical/thermal crosslinking	Желатин, фиброин, полоксамер-композиты Gelatin, fibroin, poloxamer composites	Гелеобразование в диапазоне 25–32 °C; для мягких гелей модуль накопления порядка 0,8–2 кПа Gelation at 25–32 °C; storage modulus of soft gels commonly around 0.8–2 kPa	Потеря формы и прочности в экссудате; температурная зависимость Loss of shape and strength in exudate; temperature dependence	Время гелеобразования, модули накопления и потерь, вязкость, распад в модельной раневой жидкости Gelation time, storage and loss moduli, viscosity, disintegration in simulated wound fluid	[5–7, 40–42]
Ионная сшивка Ionic crosslinking	Хитозан, альгинатные композиты, гиалуроновая кислота Chitosan, alginate composites, hyaluronic acid	Ионообмен с натрием и белками экссудата может быстро снижать прочность ионной сети Ion exchange with sodium and exudate proteins may rapidly reduce ionic-network strength	Неоднородность сшивки, вымывание ионов, pH-зависимость Crosslinking heterogeneity, ion leaching, pH dependence	Набухание, прочность, высвобождение ионов, потеря массы Swelling, strength, ion release, mass loss	[8–15, 35–37, 40–42]
Основания Шиффа / гидразоны Schiff bases / hydrazones	Окисленная гиалуроновая кислота, хитозан, желатин Oxidized hyaluronic acid, chitosan, gelatin	Для отдельных динамических сетей восстановление структуры достигает ≥90 % за 10 мин при pH около 6,8 For selected dynamic networks, structural recovery reaches ≥90 % within 10 min at pH around 6.8	Остаточные альдегиды, нестабильность связи при изменении pH Residual aldehydes, bond instability with pH changes	Остаточные реагенты, время гелеобразования, цитотоксичность, самовосстановление Residual reagents, gelation time, cytotoxicity, self-healing	[8, 13–15, 23]
Фотосшивка Photocrosslinking	GelMA, метакрилированная гиалуроновая кислота, фиброин GelMA, methacrylated hyaluronic acid, fibroin	Для GelMA-систем: 405 нм, 30 с; прочность при сжатии 2,054 ± ± 0,07 кПа; гемолиз <2 % For GelMA systems: 405 nm, 30 s; compressive strength 2.054 ± 0.07 kPa; hemolysis <2 %	Неполная конверсия, остаточный инициатор, ограничение толщины изделия Incomplete conversion, residual initiator, limitation of product thickness	Степень конверсии, глубина сшивки, экстрагируемые вещества, гемолиз Degree of conversion, crosslinking depth, extractables, hemolysis	[24]
Ферментативная сшивка Enzymatic crosslinking	Коллаген, желатин, фиброин Collagen, gelatin, fibroin	Мягкие условия; остаточная активность фермента должна соответствовать спецификации Mild conditions; residual enzyme activity must meet the specification	Стоимость, вариабельность фермента, сложность инактивации Cost, enzyme variability, inactivation complexity	Остаточная активность, однородность, стабильность, биосовместимость Residual activity, uniformity, stability, biocompatibility	[23, 38, 40–42]
Двойные динамические сети Double dynamic networks	Хитозан / гиалуроновая кислота, фиброин / проводящие компоненты Chitosan / hyaluronic acid, fibroin / conductive components	Модуль может возрастать в 4–6 раз при сохранении набухания не менее 250 % The modulus may increase 4–6-fold while maintaining swelling of at least 250 %	Сложная спецификация, трудная валидация масштабирования Complex specification, difficult scale-up validation	Модуль, усталостная прочность, деградация, высвобождение, межсерийная воспроизводимость Modulus, fatigue strength, degradation, release, batch-to-batch reproducibility	[8, 13–15, 20, 27, 28, 38, 39]

Таблица предоставлена авторами

The table was provided by the authors

Таблица 3. Стерилизация гидрогелевых повязок: технологические преимущества, риски и контроль

Table 3. Sterilization of hydrogel dressings: technological advantages, risks, and controls

Метод стерилизации Sterilization method	Типичный режим Typical mode	Подходит для Suitable for	Основной риск Main risk	Обязательный контроль Required control	Источники References
Гамма-излучение / электронный пучок Gamma irradiation / electron beam	10–25 кГр; режим валидируют по ISO 11137-1 10–25 kGy; the mode is validated according to ISO 11137-1	Готовые упакованные изделия, сухие или устойчивые гидрогели Finished packaged products, dry or robust hydrogels	Разрыв цепей, снижение средневесовой молекулярной массы, изменение модуля накопления, ускорение деградации Chain scission, reduced weight-average molecular weight, altered storage modulus, accelerated degradation	Молекулярная масса, модули накопления и потерь, набухание, высвобождение, цвет, цитосовместимость до и после стерилизации Molecular weight, storage and loss moduli, swelling, release, color, cytocompatibility before and after sterilization	ISO 11137-1:2025; [5–7, 40–42]
Этиленоксид Ethylene oxide	Низкотемпературный цикл с последующей аэрацией Low-temperature cycle followed by aeration	Термолабильные и влагочувствительные изделия Thermolabile and moisture-sensitive products	Остаточный этиленоксид, этиленхлоргидрин, этиленгликоль Residual ethylene oxide, ethylene chlorohydrin, ethylene glycol	Остаточные агенты, биосовместимость, целостность упаковки, высвобождение Residual agents, biocompatibility, package integrity, release	[5–7, 40–42]
Асептическое производство + фильтрация растворов Aseptic manufacturing + solution filtration	Фильтрация 0,22 мкм для растворов-предшественников 0.22-μm filtration for precursor solutions	Системы, формирующиеся на месте применения, и растворы до сшивки In situ-forming systems and pre-crosslinking solutions	Неприменимо к готовому сшитому гелю; риск контаминации при смешивании Not applicable to finished crosslinked gels; contamination risk during mixing	Валидация асептики, бионагрузка, стерильность, время гелеобразования Aseptic-process validation, bioburden, sterility, gelation time	[5–7, 40–42]
Паровая стерилизация Steam sterilization	121 °C, если матрица термостойкая 121 °C if the matrix is heat-resistant	Только стабильные водные или сухие системы Only stable aqueous or dry systems	Денатурация белков, гидролиз полисахаридов, изменение вязкости Protein denaturation, polysaccharide hydrolysis, viscosity changes	Структура белка, молекулярная масса, прочность, набухание, внешний вид Protein structure, molecular weight, strength, swelling, appearance	[5–7, 40–42]

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Контроль качества и фармакопейные подходы. Для гидрогелевых повязок целесообразно формировать спецификацию по принципу «сырье – полуфабрикат – готовое изделие». На уровне сырья оценивают идентичность, чистоту, молекулярные характеристики и биобезопасность. На уровне полуфабриката контролируют pH, вязкость, содержание сухого остатка, отсутствие пузырьков, время гелеобразования, степень сшивки и однородность распределения активных компонентов. На уровне готового изделия оценивают внешний вид, размеры, массу, водопоглощение, прочность, адгезию, высвобождение, стерильность, биосовместимость и сохранение функциональных свойств.

Фармакопейная логика контроля должна быть дополнена методами, специфичными для медицинских изделий. Для раневых гидрогелей важны испытания набухания в модели раневой жидкости, скорость потери массы, газообмен, способность к сорбции экссудата, устойчивость к многократной деформации, адгезия к влажному субстрату и отсутствие травматизации при удалении. Антибактериальный эффект должен выражаться количественно: логарифмическое снижение, снижение колониеобразующих единиц (КОЕ), зона ингибирования, минимальная ингибирующая концентрация / минимальная бактерицидная концентрация (далее – МИК/МБК) для высвобождаемого агента, а не только качественными фразами «выраженная активность».

Кинетика высвобождения активных веществ должна описываться не одной точкой, а профилем во времени с расчетом начального выброса, периода поддерживающего высвобождения и остаточного содержания в матрице. Для нагруженных лекарственным средством повязок желательно сопоставлять кинетику с антибактериальным порогом и цитосовместимостью. Механические испытания должны проводиться в гидратированном состоянии, поскольку сухая прочность не отражает поведения повязки на раневой поверхности.

Критические показатели качества гидрогелевых повязок на основе материалов животного происхождения представлены в таблице 4.

Коллаген. Коллагеновые повязки имеют наиболее понятное биологическое обоснование, поскольку коллаген является естественным компонентом дермы и участвует в клеточной адгезии, миграции и ремоделировании. Клиническая база для коллагенсодержащих материалов шире, чем для большинства новых нанокомпозитных гидрогелей: опубликованы данные реальной клинической практики по фетальному бычьему коллагену и сравнительные обзоры по комбинации «коллаген – окисленная регенерированная целлюлоза» в лечении диабетических язв [25, 26]. Это повышает уровень доказательности коллагеновой платформы относительно систем, которые пока подтверждены только на доклинических моделях.

Главное технологическое ограничение коллагена – слабая механическая устойчивость и чувствительность к денатурации. Поэтому современная разработка должна уходить от простой коллагеновой губки к композитным сетям. В них коллаген обеспечивает биологическое сходство с дермальным матриксом, а второй компонент решает конкретную технологическую задачу: хитозан или катионно-модифицированный полимер может усиливать контактное антимикробное действие, проводящий полимер – обеспечивать электростимулирующий эффект, а динамическая сшивка – повышать прочность и самовосстановление сети [23, 27, 28]. Для регистрационного досье особенно важны источник сырья, вирусная безопасность, иммуногенность и доказательство сохранения структуры после стерилизации.

Количественные данные для коллагеновых матриц позволяют перевести оценку из биологического описания в технологический профиль качества. В коллагеновой тераностической повязке с бромтимоловым синим эффективность загрузки индикатора составляла около 99 мас.%, изменение цвета при имитации инфицированной среды происходило в течение 1 мин, а вариант с иммобилизацией методом нанесения капли удерживал до 85 мас.% индикатора после 96 ч в модельной раневой среде; при этом жизнеспособность L929-фибробластов в экстрактах сохранялась на уровне 92 % через 7 сут [29]. Для коллагеновой платформы эти цифры важны не только как демонстрация диагностической функции, но и как пример регуляторно значимого набора параметров: загрузка, удержание, время отклика, цитосовместимость и стабильность функционального компонента.

Желатин. Желатин технологичнее коллагена, легче растворяется и модифицируется, что делает его удобной основой для фотосшиваемых гидрогелей, инъекционных систем и трехмерной печати. Варианты метакрилированного желатина позволяют точно регулировать степень сшивки и механические свойства, а также включать антибактериальные пептиды, антибиотики и наночастицы [6, 30–33]. В то же время желатин быстро набухает и деградирует, поэтому без контролируемой сшивки он редко подходит для длительного контакта с экссудативной раной.

Для желатиновых систем критична оценка остаточных фотоинициаторов, степени метакрилирования, цитотоксичности продуктов деградации и глубины фотополимеризации. В научных публикациях нередко демонстрируется успешное закрытие раны на животных, но отсутствует сопоставление с промышленно достижимой толщиной изделия и равномерностью сшивки. Это ограничивает перенос лабораторных результатов в производство.

Таблица 4. **Рекомендуемые критические показатели качества гидрогелевых раневых повязок**

Table 4. **Recommended critical quality attributes of hydrogel wound dressings**

Блок контроля Control block	**Показатели** Attributes	**Практический ориентир** Practical benchmark	**Назначение** Purpose	**Риск без контроля** Risk without control	**Источники** References
Идентичность и чистота Identity and purity	ИК-фурье-спектроскопия, ЯМР, аминокислотный профиль, молекулярная масса, остаточные реагенты FTIR, NMR, amino-acid profile, molecular weight, residual reagents	Соответствие спецификации сырья и полуфабриката Compliance with raw-material and intermediate specifications	Подтверждение состава и воспроизводимости Confirmation of composition and reproducibility	Межсерийные различия свойств Batch-to-batch property differences	[8–24, 27–39]
Физико-химические свойства Physicochemical properties	pH, осмолярность, сухой остаток, вязкость, активность воды pH, osmolality, dry residue, viscosity, water activity	pH близок к раневой среде; активность воды обычно 0,90–0,97 для водонасыщенных систем pH close to the wound environment; water activity commonly 0.90–0.97 for water-rich systems	Совместимость с тканями и технологичность Tissue compatibility and processability	Раздражение, нестабильность, неоднородное нанесение Irritation, instability, nonuniform application	[5–7, 40–42]
Гидрогелевая сеть Hydrogel network	Гель-фракция, модули накопления и потерь, время гелеобразования, набухание, деградация Gel fraction, storage and loss moduli, gelation time, swelling, degradation	Набухание обеспечивает сорбцию экссудата без разрушения; для in-situ-систем время гелеобразования воспроизводимо при 32–37 °C Swelling enables exudate uptake without disintegration; for in situ systems, gelation time is reproducible at 32–37 °C	Прогноз поведения на влажной ране Prediction of behavior on a moist wound	Разрушение геля или чрезмерное уплотнение Gel disintegration or excessive densification	[5–7, 23, 24, 40–42]
Механика и адгезия Mechanics and adhesion	Растяжение/сжатие, прочность, отслаивание / липкость к влажной ткани Tension/compression, strength, peel / tack on wet tissue	Испытание в гидратированном состоянии; ориентир по отслаиванию 1–5 Н/см для адгезивных систем Testing in the hydrated state; peel benchmark of 1-5 N/cm for adhesive systems	Сохранение контакта с раной Maintenance of wound contact	Отслоение или травматичное удаление Detachment or traumatic removal	[6, 7, 23, 24, 27–39]
Высвобождение Release	Профиль высвобождения, начальный выброс, остаточное содержание, фактор сходства f2 между партиями Release profile, initial burst, residual content, similarity factor f2 between batches	f2 ≥50 между сериями; начальный выброс ограничен токсикологическим порогом f2 ≥50 between batches; initial burst limited by the toxicological threshold	Доза и длительность локального действия Dose and duration of local action	Токсичность или отсутствие терапевтического уровня Toxicity or failure to reach a therapeutic level	[13–15, 23, 24, 30–39]
Микробиология Microbiology	Стерильность, бионагрузка, эндотоксины, КОЕ / логарифмическое снижение, МИК/МБК Sterility, bioburden, endotoxins, CFU / log reduction, MIC/MBC	Для антимикробного заявления желательна редукция ≥3 log10 КОЕ за 24 ч For an antimicrobial claim, a reduction of ≥3 log10 CFU within 24 h is desirable	Безопасность и подтверждение заявленной активности Safety and substantiation of the claimed activity	Инфекционный риск или неподтвержденное заявление Infection risk or unsupported claim	[6, 8–12, 16–24, 27–39]

Окончание таблицы 4

Блок контроля **Control block**	**Показатели** **Attributes**	**Практический ориентир** **Practical benchmark**	**Назначение** **Purpose**	**Риск без контроля** **Risk without control**	**Источники** **References**
Биологическая безопасность Biological safety	Цитотоксичность, раздражение, сенсибилизация, гемосовместимость Cytotoxicity, irritation, sensitization, hemocompatibility	План испытаний по ISO 10993-1 с учетом контакта с поврежденной кожей Test plan according to ISO 10993-1 considering contact with breached skin	Регистрационное обоснование безопасности Regulatory substantiation of safety	Невозможность перехода к клиническому применению Failure to progress to clinical use	ISO 10993-1:2025
Стабильность Stability	Модуль накопления, высвобождение, pH, масса, содержание воды, стерильность после хранения Storage modulus, release, pH, mass, water content, sterility after storage	Отклонения модуля накопления и высвобождения остаются в спецификации; ускоренное старение подтверждают реальным хранением Changes in storage modulus and release remain within specification; accelerated aging is confirmed by real-time storage	Подтверждение срока годности Shelf-life substantiation	Потеря функции до окончания срока годности Loss of function before expiry	[5–7, 40–42]
Упаковка Packaging	Барьер для влаги и кислорода, совместимость, целостность шва Moisture and oxygen barrier, compatibility, seal integrity	Для чувствительных гелей предпочтительна упаковка с низкой кислородо- и паропроницаемостью For sensitive gels, packaging with low oxygen and water-vapor permeability is preferred	Сохранение стерильности и воды Maintenance of sterility and water content	Высыхание, окисление, нарушение стерильного барьера Drying, oxidation, breach of the sterile barrier	[5–7, 40–42]

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Для платформ на основе метакрилированного желатина показательна работа с антимикробным пептидом и максеном: при фотосшивке 405 нм в течение 30 с включение функциональных компонентов повышало максимальную компрессионную прочность с 1,020 ± 0,04 до 2,054 ± 0,07 кПа, тогда как равновесное набухание сохранялось в диапазоне 280–380 %, а гемолиз оставался ниже 2 %. В модели полнослойной раны закрытие дефекта на 14-е сутки достигало 99,1 % [24]. Следовательно, для желатина критерием перспективности является не сам факт образования геля, а сохранение баланса между фотополимеризацией, прочностью, набуханием, гемосовместимостью и репаративным эффектом.

Хитозан. Хитозан является наиболее технологически гибким полисахаридом для антибактериальных и гемостатических повязок. Его катионная природа обеспечивает взаимодействие с клеточными стенками бактерий, эритроцитами и белками экссудата; функциональные аминогруппы позволяют формировать динамические сети через шиффовы основания, ионные комплексы и ковалентные модификации [10–12, 34]. Современные хитозановые гидрогели часто объединяют самовосстановление, адгезию, антиоксидантную активность и контролируемое высвобождение.

Критически важно, что хитозан нельзя оценивать как единый материал. Степень деацетилирования, молекулярная масса и растворимость определяют как антимикробность, так и цитосовместимость. Чрезмерно катионные или плохо очищенные образцы могут быть токсичны для клеток кожи. Поэтому перспективны не максимально «активные», а сбалансированные композиции, где антибактериальное действие достигается без подавления пролиферации фибробластов и кератиноцитов [35–37].

В пленках хитозан / поливиниловый спирт с медом количественные показатели хорошо демонстрируют зависимость технологических свойств от состава: влагопоглощение составляло 11,35 ± 0,07 – 14,96 ± ± 0,06 %, скорость паропроницаемости – 1650,50 ± ± 35,86 – 2698,65 ± 76,29 г/м^2/сут, а зона ингибирования *Staphylococcus aureus* для выбранной серии достигала 5,01 ± 0,32 мм [38]. Высвобождение активного компонента для большинства составов лучше описывалось моделью Корсмейера – Пеппаса с $n = 0{,}359$–0,688, что указывает на необходимость рассматривать хитозановые повязки как системы контролируемого высвобождения, а не только как природно антибактериальный материал [34].

Гиалуроновая кислота. Гиалуроновая кислота обеспечивает гидратацию, миграцию клеток и вязкоупругость, но сама по себе не является сильным антибактериальным компонентом. По этой причине ее используют как биосовместимую основу для доставки антибиотиков, доноров оксида азота, антиоксидантов, фототермических агентов или кватернизированного хитозана [13–19]. В 2024 г. особенно активно развивались динамически сшитые и фототермические гидрогели на основе гиалуроновой кислоты для диабетических инфицированных ран [18, 19].

Основная технологическая проблема гиалуроновой кислоты – быстрая ферментативная деградация и зависимость свойств от молекулярной массы. Слишком быстрое разрушение приводит к потере покрытия и ускоренному высвобождению; чрезмерная сшивка снижает биологическую доступность и клеточную миграцию. Поэтому платформы на основе гиалуроновой кислоты требуют строгой спецификации молекулярной массы, степени окисления или метакрилирования и профиля деградации в среде с гиалуронидазой.

Композиция хитозан / гиалуроновая кислота / мед представляет интерес не только как смешанная матрица. Катионный хитозан и анионная гиалуроновая кислота способны образовывать интерполиэлектролитный комплекс (ИПЭК), в котором электростатическое взаимодействие между полимерами изменяет набухание, механическую устойчивость, адгезию и скорость высвобождения по сравнению с индивидуальными полиэлектролитами. Мед дополнительно обеспечивает осмотический и антимикробный вклад. В исследованных гидрогелях пористость составляла 13–16 %, пролиферация NIH-3T3-фибробластов в медсодержащих образцах достигала 144 %, а полное закрытие раны в экспериментальной модели отмечалось к 21-м суткам [37]. Эти данные показывают, что для ГК-повязок необходимо одновременно нормировать молекулярную массу и деградацию ГК, пористость, биологический ответ фибробластов и срок сохранения покрытия на ране.

Кератин. Кератиновые гидрогели и композиты притягивают внимание благодаря наличию цистеиновых остатков, адгезивных мотивов и возможности формирования сетей за счет дисульфидных взаимодействий. Они потенциально подходят для антиоксидантных и антибактериальных повязок, особенно при использовании хлоргексидина, оксида цинка, графеновых квантовых точек или других функциональных добавок [20–22, 38, 39].

Однако кератин остается менее популярной платформой по сравнению с коллагеном, хитозаном и гиалуроновой кислотой. Основные ограничения связаны с жесткими условиями выделения, вариабельностью сырья, остаточными восстановителями, запахом, цветом и сложностью стандартизации. Для повышения потенциала применения кератиновые разработки должны включать в себя не только скорость регенеративного процесса, но и контроль остаточных химических реагентов, стабильности дисульфидной сети и безопасности продуктов деградации.

В гидрогелях поли-N-изопропилакриламид (PNIPAAm) и кератин с двойной сеткой степень набухания возрастала примерно от 2600 до 4600 % по мере увеличения доли кератина, а антиоксидантная эф-

фективность составляла около 33,1 % против 18,2 % у PNIPAAm-геля без кератина [18]. Такое сопоставление показывает, что кератин может быть не просто белковым наполнителем, а функциональным модификатором водопоглощения и антиоксидантной активности, однако эти преимущества должны подтверждаться контролем остаточных реагентов и воспроизводимостью дисульфидной сети.

Шелковый фиброин. Шелковый фиброин отличается высокой механической прочностью, способностью формировать пленки, мембраны, губки и создаваемые с помощью трехмерной печати структуры, а также возможностью электропроводящих и фотосшиваемых модификаций. В 2024 г. опубликованы работы по фиброиновым повязкам с антибактериальными, противовоспалительными свойствами, способностью к самовосстановлению и высвобождению лекарств. Это делает фиброин одной из наиболее перспективных матриц для прочных и функциональных покрытий.

Технологическое ограничение фиброина – сложность получения раствора и необходимость удаления серцина и солей. Увеличение доли β-листов повышает прочность, но может замедлять деградацию и снижать эластичность. Поэтому для раневых гидрогелей оптимизация должна учитывать не только прочность, но и гибкость, площадь контакта с влажной тканью, скорость деградации и сохранение активности лекарственного компонента после стерилизации.

В фиброиновом нанокомпозитном гидрогеле способность восстановления формы составляла 97,7 ± ± 1,1 %, зоны ингибирования *S. aureus* – 34,00 ± 1,00 мм и *E. coli* – 27,60 ± 2,08 мм, а после добавления тетрациклина прирост зон ингибирования составлял примерно 45 и 27 % соответственно; при этом жизнеспособность L929-клеток превышала 90 % [39]. Эти цифры позволяют рассматривать фиброин как технологическую платформу для прочных повязок, но одновременно задают требования к контролю конечной формы, лекарственной нагрузки, антибактериального высвобождения и цитосовместимости.

Антибактериальная и репаративная функционализация. Антибактериальные свойства гидрогелей могут обеспечиваться тремя путями: собственной активностью матрицы, включением лекарственного или антисептического агента и созданием физико-химической среды, неблагоприятной для биопленки микроорганизмов. Хитозан частично реализует первый механизм; серебро, хлоргексидин, полигексаметиленбигуанид, ванкомицин и другие агенты – второй; фототермические, электропроводящие и высвобождающие оксид азота системы – третий [16–20].

При этом антимикробная активность должна быть сопоставлена с безопасностью. Для раневого покрытия недопустимо оценивать только зону ингибирования, поскольку сильная зона может отражать высокую диффузию цитотоксичного агента. Более информативна совокупность: логарифмическое снижение против *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *E. coli*, влияние на биопленку, цитосовместимость с фибробластами и кератиноцитами, воспалительный профиль макрофагов и скорость закрытия раны в условиях организма.

Репаративный эффект должен подтверждаться не только уменьшением площади раны. Значимыми маркерами являются скорость эпителизации, толщина грануляционной ткани, ангиогенез, соотношение коллагена I/III, экспрессия факторов роста эндотелия сосудов, трансформирующий фактор роста β, интерлейкин-6, матриксные металлопротеиназы и показатели ремоделирования рубца. Для клинического перехода необходимо заранее определить, какое заявление будет сделано: «барьерная повязка», «антимикробная повязка», «повязка с лекарственным веществом» или «изделие, способствующее заживлению».

Принципиальное различие между заявлениями определяется конечным назначением и основным механизмом действия продукта. Барьерная или влагоподдерживающая повязка действует преимущественно физически: закрывает дефект, поддерживает уровень влажности раневой среды и сорбирует экссудат; примером является стерильный листовой гидрогель без высвобождаемого активного вещества. Антимикробная повязка дополнительно заявляет снижение микробной нагрузки, которое может обеспечиваться собственной антимикробной активностью матрицы, например катионного хитозана. В повязке с лекарственным веществом высвобождаемый антибиотик, антисептик или иной агент оказывает фармакологическое действие; его роль – вспомогательная либо основная – определяет регистрационный маршрут. Заявление «изделие, способствующее заживлению» требует доказать не только создание благоприятной влажной среды, но и клинически значимое улучшение эпителизации, грануляции или срока закрытия раны по сравнению с контролем. Примеры и соответствующие требования приведены в таблице 5.

Клиническая доказательность и регистрационные аспекты. Клиническая доказательность остается наиболее слабым звеном большинства гидрогелевых разработок. Значительная часть публикаций ограничивается *in-vitro*-/*in-vivo*-моделями; такие данные важны для выбора состава, но недостаточны для обоснования эффективности у пациентов с диабетическими язвами, ожогами или пролежнями. Наиболее высокий уровень доказательности сегодня имеют отдельные коллагенсодержащие и коммерчески близкие повязки, по которым доступны сравнительные клинические данные и метаанализы [25, 26]. Для хитозана, ГК, кератина и фиброина доказательная база чаще остается доклинической или ранней клинической.

Таблица 5. Уровень доказательности и регистрационные акценты для разных типов гидрогелевых повязок

Table 5. Level of evidence and regulatory focus for different types of hydrogel dressings

Тип продукта/заявления Product/claim type	**Пример и типичные данные** Example and typical data	**Уровень доказательности** Level of evidence	**Регистрационный акцент** Regulatory focus	**Что требуется усилить** What should be strengthened	**Источники** References
Барьерная/влагоподдерживающая гидрогелевая повязка Barrier/moisture-maintaining hydrogel dressing	Стерильный листовой гидрогель без высвобождаемого активного вещества; физико-химические свойства, сорбция, биосовместимость Sterile sheet hydrogel without a releasable active substance; physicochemical properties, absorption, biocompatibility	Низкий – средний Low – moderate	Медицинское изделие: физический механизм, безопасность и функциональность Medical device: physical mechanism, safety, and functionality	Стерильность, стабильность, сорбция экссудата, отсутствие травматизации Sterility, stability, exudate absorption, atraumatic removal	[5, 40–42]
Антимикробная повязка без лекарственного вещества Antimicrobial dressing without a medicinal substance	Хитозановая или контактно-активная матрица; in vitro, биопленки, модели инфицированной раны Chitosan-based or contact-active matrix; in vitro tests, biofilms, infected-wound models	Средний Moderate	Подтверждение антимикробного заявления при отсутствии цитотоксичности Substantiation of the antimicrobial claim without cytotoxicity	КОЕ / логарифмическое снижение, МИК/МБК, сравнение с контролем и коммерческой повязкой CFU / log reduction, MIC/MBC, comparison with control and a commercial dressing	[6, 8–12, 16-22, 27–39]
Повязка с лекарственным веществом Dressing containing a medicinal substance	Гидрогель с антибиотиком, антисептиком или донором оксида азота; высвобождение, фармакодинамика, безопасность, *in vivo* Hydrogel with an antibiotic, antiseptic, or nitric-oxide donor; release, pharmacodynamics, safety, *in vivo* data	Средний – высокий Moderate – high	Комбинированный продукт или изделие с веществом вспомогательного действия; оценка основного механизма Combination product or device with an ancillary substance; assessment of the principal mode of action	Доза, начальный выброс, стабильность, остаточное содержание, клинические конечные точки Dose, initial burst, stability, residual content, clinical endpoints	[13–15, 23, 24, 30–39]
Изделие, способствующее заживлению Device intended to support wound healing	Матрица, для которой заявлено ускорение эпителизации/грануляции по сравнению с контролем Matrix claiming accelerated epithelialization / granulation versus control	Средний –высокий Moderate – high	Клиническое подтверждение заявленного эффекта сверх физического барьерного действия Clinical substantiation of an effect beyond the physical barrier function	Сравнительное исследование, время до закрытия раны, эпителизация, боль, качество рубца Comparative study, time to wound closure, epithelialization, pain, scar quality	[25, 26, 40–42]
Фототермическая или проводящая система Photothermal or conductive system	Доклинические модели, параметры световой или электрической активации Preclinical models, light- or electrical-activation parameters	Низкий – средний Low – moderate	Управление рисками, безопасность наноматериалов и энергии Risk management, safety of nanomaterials and energy delivery	Стандартизация режима активации, токсикология, контроль перегрева ткани Standardization of activation mode, toxicology, tissue-overheating control	[15, 20, 28, 38, 39]

Анализ ClinicalTrials.gov показывает тот же разрыв между лабораторными прототипами и клинической применимостью. В реестре встречаются исследования по гидрогелевым и гелевым повязкам, хитозановым гелям, коллагенсодержащим повязкам, порошково-гидрогелевым системам и повязкам с высвобождением оксида азота. Однако такие исследования часто включают разные конечные точки, разные типы ран и несопоставимые режимы лечения. Поэтому в обзоре нельзя переносить данные отдельной клинической серии на биополимерную платформу в целом.

Регистрационный маршрут зависит от заявленного основного механизма действия. Если повязка действует преимущественно как физический барьер, абсорбент, матрица или средство поддержания влажной среды, она обычно рассматривается как медицинское изделие. Если терапевтический эффект обусловлен фармакологическим, иммунологическим или метаболическим действием высвобождаемого вещества, возникает вопрос о лекарственном препарате или комбинированном продукте. В российской практике актуальны Правила государственной регистрации медицинских изделий, утвержденные постановлением Правительства РФ от 30.11.2024 № 1684[1], а также Правила регистрации и экспертизы безопасности, качества и эффективности медицинских изделий, утвержденные решением Совета ЕЭК от 12.02.2016 № 46.56[2].

Для повязок с антибиотиками, антисептиками, серебром, донорами оксида азота, факторами роста или клеточными компонентами необходимо заранее определить, является ли активное вещество вспомогательным по отношению к изделию или определяет основной механизм действия. Это влияет на состав досье, объем доклинических испытаний, требования к стабильности, контролю высвобождения и клиническим конечным точкам. При международной разработке дополнительно учитываются требования Регламента о медицинских изделиях (ед. эндотоксина) 2017/745, ISO 10993-1 по биологической оценке, ISO 14971 по управлению рисками и стандарты стерилизации, включая ISO 11137 для радиационной стерилизации. Уровень доказательности и регистрационные акценты для разных типов гидрогелевых повязок представлены в таблице 5.

Окончание таблицы 5

Тип продукта/заявления Product/claim type	**Пример и типичные данные** Example and typical data	**Уровень доказательности** Level of evidence	**Регистрационный акцент** Regulatory focus	**Что требуется усилить** What should be strengthened	**Источники** References
Биоактивные матриксы с клетками / факторами роста Bioactive matrices with cells / growth factors	Клинические данные для отдельных продуктов и данные реальной практики Clinical and real-world data for selected products	Средний – высокий Moderate – high	Повышенные требования к безопасности, производству и клинической оценке Enhanced requirements for safety, manufacturing, and clinical evaluation	Сравнительные исследования, иммуногенность, долгосрочное наблюдение Comparative studies, immunogenicity, long-term follow-up	[25, 26]
Патенты и прототипы Patents and prototypes	Описание состава и предполагаемого применения Description of composition and intended use	Не являются доказательством эффективности Do not constitute evidence of efficacy	Характеризуют технологическое поле, но не заменяют испытания Describe the technological landscape but do not replace testing	Независимые данные по критическим показателям качества, стерилизации, стабильности и клинике Independent data on critical quality attributes, sterilization, stability, and clinical performance	[43]

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

[1] Постановление Правительства Российской Федерации от 30.11.2024 № 1684 «Об утверждении Правил государственной регистрации медицинских изделий». Доступно по: http://government.ru/docs/all/156514/ Ссылка активна на 02.07.2026.

[2] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 12.02.2016 № 46 «О Правилах регистрации и экспертизы безопасности, качества и эффективности медицинских изделий». Доступно по: https://docs.eaeunion.org/documents/306/2370/ Ссылка активна на 02.07.2026.

Нерешенные вопросы и пути фармацевтического решения. Первый нерешенный вопрос – вариабельность биологического сырья. Фармацевтическое решение состоит не в отказе от природных полимеров, а в жесткой стандартизации: источник, метод выделения, молекулярные характеристики, остаточные примеси, бионагрузка, эндотоксины и функциональные тесты должны входить в спецификацию. Для хитозана обязательны степень деацетилирования и молекулярная масса; для кислоты гиалуроновой – молекулярная масса и эндотоксины; для фиброина – удаление серцина и остаточные соли; для коллагена – тип, денатурация и безопасность источника.

Второй вопрос – выбор стерилизации. Разработчик должен проводить сравнительный скрининг методов стерилизации на раннем этапе, а не после выбора финальной формулы. Стерилизация должна оцениваться как технологический фактор, влияющий на структуру сети, высвобождение, прочность и биологическую активность. Неприемлемо заявлять стерильное изделие без демонстрации сохранения свойств после выбранного режима.

Третий вопрос – разрыв между доклинической эффективностью и клинической применимостью. Для его преодоления необходимы унифицированные конечные точки: процент закрытия раны, время до полной эпителизации, частота инфекции, боль при смене повязки, потребность в системных антибиотиках, качество рубца и экономические показатели. В обзорах следует разделять патенты, *in vivo*, *in vitro*, ранние клинические исследования, рандомизированные испытания и данные реальной практики, не объединяя их в одну доказательную категорию.

Четвертый вопрос – масштабирование. Наиболее перспективными являются составы, которые можно производить с контролируемым смешиванием, дозированием, сшивкой, стерилизацией и упаковкой. Слишком сложные лабораторные композиции с несколькими нанокомпонентами, фототермическими агентами и нестабильными биомолекулами могут быть научно интересны, но технологически слабее простых систем с доказанной стабильностью и воспроизводимостью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гелевые и гидрогелевые повязки на основе материалов животного сырья являются перспективным направлением фармацевтической технологии, поскольку объединяют биосовместимость, сходство с внеклеточным матриксом, возможность локального высвобождения активных веществ и адаптацию к влажной раневой поверхности. Однако их дальнейшее развитие должно оцениваться не только по биологическим эффектам, но и по технологической воспроизводимости.

Коллаген имеет наиболее сильную клиническую аргументацию, но требует укрепления и контроля иммуногенности. Желатин удобен для фотосшивки и трехмерной печати, но нуждается в управлении деградацией. Хитозан технологически ценен благодаря гемостатическим и антимикробным свойствам, однако его активность напрямую зависит от степени деацетилирования и молекулярной массы. Гиалуроновая кислота является эффективной гидратирующей и доставочной матрицей, но требует сшивки и функционализации. Кератин перспективен, но пока ограничен сложностью стандартизации. Шелковый фиброин выделяется механической прочностью и возможностью создания современных, полученных с помощью трехмерной печати и проводящих систем, но требует строгого контроля очистки и структуры.

Для перехода к регистрации и клиническому применению таких материалов необходимо заранее формировать профиль качества: стандартизованное сырье, валидируемый метод сшивки, выбранный и подтвержденный способ стерилизации, стабильность, количественную антибактериальную активность, контролируемое высвобождение, механические испытания во влажном состоянии и биологическую безопасность. Именно такой подход позволяет перевести гидрогелевые повязки из области экспериментальной регенеративной биомедицины в область воспроизводимых фармацевтико-технологических продуктов.

Практически это означает следующий маршрут разработки: сначала задается профиль продукта и клинические показания; затем выбирается сырье с измеряемыми параметрами; после этого подбирается сшивка, совместимая со стерилизацией и упаковкой; далее строится спецификация на полуфабрикат и готовое изделие; только после подтверждения стабильности, высвобождения, механики и биобезопасности проводится доклиническая и клиническая оценка.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sen C. K. Human wound and its burden: updated 2022 compendium of estimates. *Advances in Wound Care*. 2023;12(12):657–670. https://doi.org/10.1089/wound.2023.0150
2. Martinengo L., Olsson M., Bajpai R., Soljak M., Upton Z., Schmidtchen A., Car J., Järbrink K. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Annals of Epidemiology*. 2019;29:8–15. https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.10.005
3. desJardins-Park H. E., Gurtner G. C., Wan D. C., Longaker M. T. From chronic wounds to scarring: the growing health care burden of under- and over-healing wounds. *Advances in Wound Care*. 2022;11(9):496–510. https://doi.org/10.1089/wound.2021.0039
4. Eriksson E., Liu P. Y., Schultz G. S., Martins-Green M. M., Tanaka R., Weir D., Gould L. J., Armstrong D. G., Gibbons G. W., Wolcott R., Olutoye O. O., Kirsner R. S., Gurtner G. C. Chronic wounds: treatment consensus. *Wound Repair and Regeneration*. 2022;30(2):156–171. https://doi.org/10.1111/wrr.12994

5. Surowiecka A., Strużyna J., Winiarska A., Korzeniowski T. Hydrogels in burn wound management – a review. *Gels*. 2022;8(2):122. https://doi.org/10.3390/gels8020122
6. Jia B., Li G., Cao E., Luo J., Zhao X., Huang H. Recent progress of antibacterial hydrogels in wound dressings. *Materials Today Bio*. 2023;19:100582. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100582
7. Butenko S., Nagalla R. R., Guerrero-Juarez C. F., Palomba F., David L.-M., Nguyen R. Q., Gay D., Almet A. A., Digman M. A., Nie Q., Scumpia P. O., Plikus M. V., Liu W. F. Hydrogel crosslinking modulates macrophages, fibroblasts, and their communication, during wound healing. *Nature Communications*. 2024;15:6820. https://doi.org/10.1038/s41467-024-50072-y
8. Yu Q., Yan Y., Huang J., Liang Q., Li J., Wang B., Ma B., Bianco A., Ge S., Shao J. A multifunctional chitosan-based hydrogel with self-healing, antibacterial, and immunomodulatory effects as wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;231:123149. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123149
9. Zhao J., Qiu P., Wang Y., Wang Y., Zhou J., Zhang B., Zhang L., Gou D. Chitosan-based hydrogel wound dressing: from mechanism to applications, a review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;244:125250. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125250
10. Yang Y., Ma Y., Wang H., Li C., Li C., Zhang R., Zhong S., He W., Cui X. Chitosan-based hydrogel dressings with antibacterial and antioxidant for wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;280:135939. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135939
11. Zhao X., Wu H., Guo B., Dong R., Qiu Y., Ma P. X. Antibacterial anti-oxidant electroactive injectable hydrogel as self-healing wound dressing with hemostasis and adhesiveness for cutaneous wound healing. *Biomaterials*. 2017;122:34–47. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.01.011
12. Guo W., Ding X., Zhang H., Liu Z., Han Y., Wei Q., Okoro O. V., Shavandi A., Nie L. Recent advances of chitosan-based hydrogels for skin-wound dressings. *Gels*. 2024;10(3):175. https://doi.org/10.3390/gels10030175
13. Watson A. L., Eckhart K. E., Wolf M. E., Sydlik S. A. Hyaluronic acid-based antibacterial hydrogels for use as wound dressings. *ACS Applied Bio Materials*. 2022;5(12):5608–5616. https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00647
14. Yang K., Yang J., Chen R., Dong Q., Yang H., Gu S., Zhou Y. Antibacterial hyaluronic acid hydrogels with enhanced self-healing properties via multiple dynamic bond crosslinking. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;256(Pt 2):128320. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128320
15. He C., Bi S., Zhang R., Chen C., Liu R., Zhao X., Gu J., Yan B. A hyaluronic acid hydrogel as a mild photothermal antibacterial, antioxidant, and nitric oxide release platform for diabetic wound healing. *Journal of Controlled Release*. 2024;370:543–555. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.05.011
16. Zhai M., Xu Y., Zhou B., Jing W. Keratin-chitosan/n-ZnO nanocomposite hydrogel for antimicrobial treatment of burn wound healing: characterization and biomedical application. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2018;180:253–258. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.018
17. Shang Y., Wang P., Wan X., Wang L., Liu X., Yuan J., Chi B., Shen J. Chlorhexidine-loaded polysulfobetaine/keratin hydrogels with antioxidant and antibacterial activity for infected wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;242(1):124754. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124754
18. Han X., Yang R., Wan X., Dou J., Yuan J., Chi B., Shen J. Antioxidant and multi-sensitive PNIPAAm/keratin double network gels for self-stripping wound dressing application. *Journal of Materials Chemistry B*. 2021;9(31):6212–6225. https://doi.org/10.1039/D1TB00702E
19. Ren Y., Yu X., Li Z., Liu D., Xue X. Fabrication of pH-responsive TA-keratin bio-composited hydrogels encapsulated with photoluminescent GO quantum dots for improved bacterial inhibition and healing efficacy in wound care management: in vivo wound evaluations. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2020;202:111676. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111676
20. Liu R., Bi S., Zhang L., Li X., Dai K., Wang H., Zhang Z., Gu J. Flexible and antibacterial conductive hydrogels based on silk fibroin/polyaniline/AgNPs for motion sensing and wound healing promotion under electrical stimulation. *Journal of Materials Chemistry B*. 2024;12(40):10346–10356. https://doi.org/10.1039/D4TB01505C
21. González-Restrepo D., Zuluaga-Vélez A., Orozco L. M., Sepúlveda-Arias J. C. Silk fibroin-based dressings with antibacterial and anti-inflammatory properties. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024;195:106710. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106710
22. Wang S.-L., Zhuo J.-J., Fang S.-M., Xu W., Yu Q.-Y. Silk sericin and its composite materials with antibacterial properties to enhance wound healing: a review. *Biomolecules*. 2024;14(6):723. https://doi.org/10.3390/biom14060723
23. Li J., Zhai Y.-N., Xu J.-P., Zhu X.-Y., Yang H.-R., Che H.-J., Liu C.-K., Qu J.-B. An injectable collagen peptide-based hydrogel with desirable antibacterial, self-healing and wound-healing properties based on multiple-dynamic crosslinking. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;259(Pt 1):129006. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.129006
24. Liang C., Wang H., Lin Z., Zhang C., Liu G., Hu Y. Augmented wound healing potential of photosensitive GelMA hydrogel incorporating antimicrobial peptides and MXene nanoparticles. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;11:1310349. https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1310349
25. Sabolinski M. L., Archambault T. Real-world data analysis of bilayered living cellular construct and fetal bovine collagen dressing treatment for pressure injuries: a comparative effectiveness study. *Journal of Comparative Effectiveness Research*. 2024;13(4):e230109. https://doi.org/10.57264/cer-2023-0109
26. Theodorakopoulos G., Armstrong D. G. Collagen-ORC versus standard treatment in diabetic foot ulcers: a systematic review and meta-analysis of randomised trials. *International Wound Journal*. 2025;22(11):e70782. https://doi.org/10.1111/iwj.70782
27. Wang X., Zhao D., Li Y., Zhou X., Hui Z., Lei X., Qiu L., Bai Y., Wang C., Xia J., Xuan Y., Jiang P., Wang J. Collagen hydrogel with multiple antimicrobial mechanisms as anti-bacterial wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;232:123413. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123413
28. Lin X., Yang X., Li P., Xu Z., Zhao L., Mu C., Li D., Ge L. Antibacterial conductive collagen-based hydrogels for accelerated full-thickness wound healing. *ACS Applied Ma-*

terials & Interfaces. 2023;15(19):22817–22829. https://doi.org/10.1021/acsami.2c22932
29. Brooker C., Tronci G. A collagen-based theranostic wound dressing with visual, long-lasting infection detection capability. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;236:123866. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123866
30. Gharibi R., Shaker A., Rezapour-Lactoee A., Agarwal S. Antibacterial and biocompatible hydrogel dressing based on gelatin- and castor-oil-derived biocidal agent. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2021;7(8):3633–3647. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.1c00706
31. Karamanlioglu M., Yesilkir-Baydar S. Characterization of gelatin-based wound dressing biomaterials containing increasing coconut oil concentrations. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2024;35(1):16–44. https://doi.org/10.1080/09205063.2023.2265624
32. Hoque J., Prakash R. G., Paramanandham K., Shome B. R., Haldar J. Biocompatible injectable hydrogel with potent wound healing and antibacterial properties. *Molecular Pharmaceutics*. 2017;14(4):1218–1230. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b01104
33. Bakadia B. M., Lamboni L., Ahmed A. A. Q., Zheng R., Boni B. O. O., Shi Z., Song S., Souho T., Mukole B. M., Qi F., Yang G. Antibacterial silk sericin/poly (vinyl alcohol) hydrogel with antifungal property for potential infected large burn wound healing: systemic evaluation. *Smart Materials in Medicine*. 2023;4:37–58. https://doi.org/10.1016/j.smaim.2022.07.002
34. Chopra H., Bibi S., Kumar S., Khan M. S., Kumar P., Singh I. Preparation and evaluation of chitosan/PVA based hydrogel films loaded with honey for wound healing application. *Gels*. 2022;8(2):111. https://doi.org/10.3390/gels8020111
35. Sayyar Z., Mahdavinia G. R., Khataee A. Dual-drug (Curcumin/Ciprofloxacin) loading and release from chitosan-based hydrogels embedded with magnetic Montmorillonite/Hyaluronic acid for enhancing wound healing. *Journal of Biological Engineering*. 2023;17:66. https://doi.org/10.1186/s13036-023-00385-1
36. Khaliq T., Sohail M., Minhas M. U., Mahmood A., Munir A., Qalawlus A. H. M., Jabeen N., Kousar M., Anwar Z. Hyaluronic acid/alginate-based biomimetic hydrogel membranes for accelerated diabetic wound repair. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;643:123244. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123244
37. Şalva E., Akdağ A. E., Alan S., Arısoy S., Akbuğa F. J. Evaluation of the effect of honey-containing chitosan/hyaluronic acid hydrogels on wound healing. *Gels*. 2023;9(11):856. https://doi.org/10.3390/gels9110856
38. Guo Z., Yan L., Zhou B., Zhao P., Wang W., Dong S., Cheng B., Yang J., Wang X., Li B. In situ photo-crosslinking silk fibroin based hydrogel accelerates diabetic wound healing through antibacterial and antioxidant. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;242(3):125028. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125028
39. Sheybanikashani S., Zandi N., Hosseini D., Lotfi R., Simchi A. A sustainable and self-healable silk fibroin nanocomposite with antibacterial and drug eluting properties for 3D printed wound dressings. *Journal of Materials Chemistry B*. 2024;12(3):784–799. https://doi.org/10.1039/D3TB02363J
40. Shu W., Wang Y., Zhang X., Li C., Le H., Chang F. Functional hydrogel dressings for treatment of burn wounds. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021;9:788461. https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.788461
41. Ning S., Zhang T., Lyu M., Wing J., Lam Y., Zhu D., Huang Q., Tang B. Z. A type I AIE photosensitiser-loaded biomimetic nanosystem allowing precise depletion of cancer stem cells and prevention of cancer recurrence after radiotherapy. *Biomaterials*. 2023;295:122034. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2023.122034
42. Baniasadi H. State-of-the-art in natural hydrogel-based wound dressings: design, functionalization, and fabrication approaches. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2025;342:103527. https://doi.org/10.1016/j.cis.2025.103527
43. Caló E., Khutoryanskiy V. V. Biomedical applications of hydrogels: a review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*. 2015;65:252–267. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.1; 615.4

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2351

Check for updates

CC BY 4.0

Сравнительное изучение адгезивных свойств трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом методом зондирования липкости

К. Д. Якимов[1]✉, У. В. Ногаева[1], Д. С. Гордеева[2], Р. И. Мустафин[2], Е. В. Флисюк[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

[2] Институт фармации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 420126, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Фатыха Амирхана, д. 16

✉ **Контактное лицо:** Якимов Кирилл Дмитриевич. **E-mail:** kirill.yakimov@spcpu.ru

Резюме

Введение. Трансдермальные терапевтические системы (ТТС), в частности трансдермальные пластыри, представляют собой один из наиболее перспективных неинвазивных путей введения лекарственных средств (ЛС) в системный кровоток. Ключевым условием реализации терапевтического потенциала трансдермальных пластырей является поддержание стабильного и равномерного контакта системы с поверхностью кожи на протяжении всего заявленного периода использования за счет оптимальных адгезивных характеристик. Адгезия ТТС представляет собой критический показатель качества (Critical Quality Attributes, CQA), определяющий биодоступность препарата, его безопасность для пациента, и требует объективной оценки, учитывающей биомеханику кожи и особенности эксплуатации в реальных условиях.

Цель. Сравнительный анализ адгезивных свойств трансдермальных пластырей с фитоэстрогеном – транс-ресвератролом с использованием метода зондирования липкости.

Материалы и методы. Объекты исследования – образцы матричных пластырей, полученные на базе ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России и содержащие транс-ресвератрол. Адгезию изучали методом зондирования липкости (probe tack test) при помощи анализатора текстуры TA.XTplus с программным обеспечением Exponent Connect. Исследование проводили на базе Института фармации ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России. В качестве препаратов сравнения как положительный контроль использовали трансдермальные пластыри Никоретте® и Евра® (LTS Lohmann Therapy-Systems AG, Германия). Для моделирования кожного покрова человека в работе использовали два типа субстратов: биологический (изолированная свиная кожа) и синтетический (силиконовая кожа). Результаты исследования анализировали стандартными методами статистики в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ.

Результаты и обсуждение. Образец пластыря на основе сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата в качестве полимера-носителя, выполняющего роль адгезива, продемонстрировал наибольшую липкость, сопоставимую с референтными препаратами. Введение в состав поливинилпирролидона К-17 с целью увеличения высвобождения транс-ресвератрола из матрицы приводило к частичной потере адгезии пластырей и получению нестабильной системы, крайне чувствительной к условиям окружающей среды.

Заключение. По результатам оценки силы отрыва и работы адгезии установлено, что использование сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата для разработки матричных трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом является перспективным направлением, позволяющим достичь оптимального сочетания адгезивных характеристик, сопоставимых с референтными препаратами, и показателей высвобождения ДВ из ТТС, рассмотренных в предыдущем исследовании.

Ключевые слова: трансдермальные пластыри, транс-ресвератрол, адгезивные свойства, зондирование липкости

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

Вклад авторов. К. Д. Якимов, У. В. Ногаева – подбор составов, разработка технологии, получение образцов трансдермальных пластырей с ресвератролом. У. В. Ногаева, Д. С. Гордеева – оценка адгезивных свойств ТТС. К. Д. Якимов – статистическая обработка результатов. Р. И. Мустафин – интерпретация результатов по оценке адгезивных свойств ТТС. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

© Якимов К. Д., Ногаева У. В., Гордеева Д. С., Мустафин Р. И., Флисюк Е. В., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Yakimov K. D., Nogaeva U. V., Gordeeva D. S., Moustafine R. I., Flisyuk E. V., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Якимов К. Д., Ногаева У. В., Гордеева Д. С., Мустафин Р. И., Флисюк Е. В. Сравнительное изучение адгезивных свойств трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом методом зондирования липкости. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):153–161. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2351

Поступила в редакцию: 24.04.2026
Поступила после рецензирования: 04.06.2026
Принята к публикации: 28.08.2026

Comparative study of the adhesive properties of transdermal patches with trans-resveratrol using the probe tack test

Kirill D. Yakimov[1]✉, Uljana V. Nogaeva[1], Daria S. Gordeeva[2], Rouslan I. Moustafine[2], Elena V. Flisyuk[1]

[1] Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia
[2] Institute of Pharmacy, Kazan State Medical University. 16, Fatykha Amirkhan str., Kazan, Republic of Tatarstan, 420126, Russia

✉ **Corresponding author:** Kirill D. Yakimov. **E-mail:** kirill.yakimov@spcpu.ru

Abstract

Introduction. Transdermal Therapeutic Systems (TTS), particularly transdermal patches, represent one of the most promising non-invasive routes for delivering drugs into the systemic circulation. A key prerequisite for realizing the therapeutic potential of transdermal patches is the maintenance of stable and uniform contact between the system and the skin surface throughout the intended period of use, achieved through optimal adhesive characteristics. The adhesion of TTS is a critical quality attribute (CQA) that determines drug bioavailability and patient safety, and it requires objective assessment that takes into account skin biomechanics and real-use conditions.

Aim. A comparative analysis of adhesive properties of transdermal patches with the phytoestrogen trans-resveratrol using the probe tack test.

Materials and methods. The objects of the study were matrix-type patch samples obtained at the St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU) of the Ministry of Health of the Russian Federation, containing trans-resveratrol. Adhesion was evaluated by probe tack test using the texture analyzer TA.XTplus with Exponent Connect software. The study was conducted at the Institute of Pharmacy, Kazan State Medical University (KSMU) of the Ministry of Health of the Russian Federation. Transdermal patches Nicorette® and Evra® (LTS Lohmann Therapy-Systems AG, Germany) were used as comparator products (positive controls). Two types of substrates were used to model human skin: a biological substrate (isolated pig skin) and a synthetic substrate (silicone skin). The test results were processed using standard statistical methods in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Results and discussion. The patch sample based on a copolymer of methacrylic acid and ethyl acrylate as a polymer carrier acting as an adhesive demonstrated the highest tack, comparable to that of the reference products. The incorporation of polyvinylpyrrolidone K-17 to enhance the release of trans-resveratrol from the matrix resulted in a partial loss of patch adhesion and the formation of an unstable system that was highly sensitive to environmental conditions.

Conclusion. Based on the evaluation of peak force required to break the bond and work of adhesion, it was established that the use of a copolymer of methacrylic acid and ethyl acrylate for the development of matrix-type transdermal patches with trans-resveratrol represents a promising approach. This strategy enables an optimal combination of adhesive properties, comparable to those of reference products, while maintaining the active substance release performance from the TTS as reported in a previous study.

Keywords: transdermal patches, trans-resveratrol, adhesive properties, probe tack test

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

Contribution of the authors. Kirill D. Yakimov, Uljana V. Nogaeva – selection of formulations, technology development, production of transdermal patches with resveratrol samples. Uljana V. Nogaeva, Daria S. Gordeeva – evaluation of the adhesive properties of the TTS. Kirill D. Yakimov – statistical processing of the results. Rouslan I. Moustafine – interpretation of the assessment results of the adhesive properties of the TTS. All authors participated in writing the article and discussing the results.

For citation: Yakimov K. D., Nogaeva U. V., Gordeeva D. S., Moustafine R. I., Flisyuk E. V. Comparative study of the adhesive properties of transdermal patches with trans-resveratrol using the probe tack test. *Drug development & registration*. 2026;15(3):153–161. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2351

Received: 24.04.2026
Revised: 04.06.2026
Accepted: 28.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение стабильной адгезии трансдермальных терапевтических систем (ТТС), достаточной для поддержания эффективного и безопасного контакта с кожей на протяжении всего регламентированного срока использования, остается актуальной технологической задачей [1].

Адгезия в контексте ТТС представляет собой многокомпонентное физико-химическое взаимодействие на границе раздела фаз «адгезивная матрица – кожа», которое напрямую влияет на кинетику высвобождения и скорость абсорбции лекарственного средства (ЛС). Неудовлетворительные адгезивные характеристики трансдермального пластыря выступают критическим фактором риска его преждевременного отслаивания. Уменьшение площади контакта с кожными покровами приводит к снижению количества ЛС, поступающего в кровоток, и, как следствие, некорректному дозированию и снижению терапевтического эффекта. Кроме того, трансдермальные пластыри, характеризующиеся низкими показатели адгезии, будут требовать более частой замены, вызывая нерациональное расходование лекарственного препарата и увеличивая стоимость лечения [2, 3].

Помимо прямого влияния на фармакокинетику, адгезивные свойства определяют механическую стабильность системы. Недостаточная когезионная прочность клеевого слоя ведет к миграции матрикса за пределы защитного слоя, что приводит к потере ЛС, загрязнению одежды и снижению комплаентности пациента. С другой стороны, чрезмерная адгезия способствует травматизации кожных покровов при удалении системы, вызывая воспалительную реакцию и нарушение барьерной функции кожи [3].

Адгезивные свойства трансдермальных пластырей зачастую обусловлены наличием в составе системы адгезивов, чувствительных к давлению (АЧД), которые образуют с кожными покровами надежное соединение при легком кратковременном нажатии. Для современных матричных систем характерны такие показатели адгезии, как липкость (tack), сопротивление отслаиванию (peel adhesion) и сопротивление при сдвиге (shear adhesion) [2–4].

Липкость – это способность пластыря фиксироваться на коже при легком нажатии. Возможность системы образовывать надежное соединение после непродолжительного контакта обусловлена молекулярными взаимодействиями между АЧД и субстратом, поверхностной энергией и реологическими характеристиками адгезивной матрицы. Для формирования прочного контакта адгезивная матрица должна обладать умеренной вязкостью, но при этом достаточной текучестью и иметь способность к быстрой деформации и смачиванию поверхности кожи [3]. Контроль липкости важен для оценки качества первоначального сцепления при нанесении трансдермального пластыря. Если липкость низкая, система не сможет зафиксироваться на коже пациента, что будет приводить к отклеиванию пластыря практически сразу после нанесения [3, 5].

Существует несколько способов оценки данного параметра, наиболее информативным из которых является метод зондирования липкости (probe tack test), благодаря которому можно охарактеризовать прочность и механизм разрушения адгезионного соединения [2, 3, 6].

Целью этой работы явилось сравнительное изучение адгезивных характеристик экспериментальных образцов матричных пластырей с транс-ресвератролом методом зондирования липкости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования стали экспериментальные образцы пластырей матричного типа, содержащие фитоэстроген – транс-ресвератрол, с массовой долей основного вещества не менее 99 % (DSM, Швейцария). В качестве полимера-носителя использовали сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата (1 : 1) – Kollicoat® MAE 100 P (BASF, Германия).

Количественное соотношение ресвератрола и вспомогательных компонентов в исследуемых пластырях отражено в таблице 1, обоснование состава и описание технологии получения ТТС было представлено ранее [5].

В качестве препаратов сравнения были выбраны два трансдермальных пластыря, зарегистрированных на фармацевтическом рынке Российской Федерации: трансдермальный пластырь Никоретте® (№ серии: 70145T1A, годен до 04.2028) и пластырь Евра® (№ серии: V4B349AA, годен до 10.2026) (LTS Lohmann Therapy-Systems AG, Германия).

Сравнительную оценку липкости пластырей по отношению к очищенной изолированной свиной коже и искусственной силиконовой коже проводили при температуре окружающей среды 23 ± 2 °C зондовым методом на приборе TA.XTplus Texture Analyser (Stable Micro System, Surrey, Великобритания) с программным обеспечением Exponent Connect (version 3.2).

Анализатор текстуры TA.XTplus является универсальным прибором для физико-механических испытаний. Благодаря широкому диапазону скоростей (0,01–40 мм/с) и высокому разрешению нагрузки (до 0,1 г) он находит применение в пищевой промышленности для оценки текстурных характеристик продуктов питания [7, 8, 9], в косметологии с целью измерения распределения помад [10] и оценки вязкоупругих свойств кремовых основ [11]. В фармацевтической промышленности анализатор текстуры TA.XTplus широко используется для изучения адгезивных характеристик мукоадгезивных пленок [12] и таблеток [13, 14], а также трансдермальных терапевтических систем [15].

Образцы изолированной свиной кожи были взяты со спинной части женской особи большой белой свиньи, которая является наиболее адекватной аль-

Таблица 1. Составы образцов трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом (площадь 26 см²)

Table 1. Compositions of trans-resveratrol transdermal patches (area 26 cm²)

Компоненты Ingredients		Образец № Sample №			
		1	2	3	4
		Соотношение (г/г) Ratio (g/g)			
Действующее вещество Active substance	Транс-ресвератрол Trans-resveratrol	1	1	1	1
Полимер-носитель (адгезив) Polymer carrier (adhesive)	Сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата Copolymer of methacrylic acid and ethyl acrylate	2	1,9	1,7	1,5
Пластификатор Plasticizer	ПЭГ-400 PEG 400	2,5	2,5	2,5	2,5
Солюбилизирующий агент Solubilizing agent	ПВП К-17 PVP K-17	–	0,1	0,3	0,5
Антиокислитель Antioxidant	Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	+	+	+	+
Консервант Preservative	Калия сорбат Potassium sorbate	+	+	+	+

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

тернативой коже человека для проведения данного исследования как с гистологической, так и с физиологической точки зрения [16]. Перед проведением испытаний изолированную свиную кожу очищали от загрязнений и излишков жира. Искусственная кожа представляла собой лист силикона толщиной 1 мм, имитирующий физико-механические свойства человеческой кожи.

Образец субстрата фиксировали с помощью специального зажима, обеспечивающего его неподвижность (рисунок 1). Испытуемые образцы пластырей разрезали на фрагменты круглой формы диаметром около 1 см и закрепляли на контактирующей поверхности зонда при помощи двусторонней клейкой ленты. Зонд устанавливали на приборе напротив отверстия, где располагался субстрат. Далее устанавливали параметры проведения испытания, представленные в таблице 2, и выполняли измерение: подвижный зонд с образцом пластыря опускали до установления контакта с поверхностью субстрата, выдерживали заданное время и затем начинали подъем зонда для отрыва пластыря от субстрата. Исследования проводили в пяти повторностях.

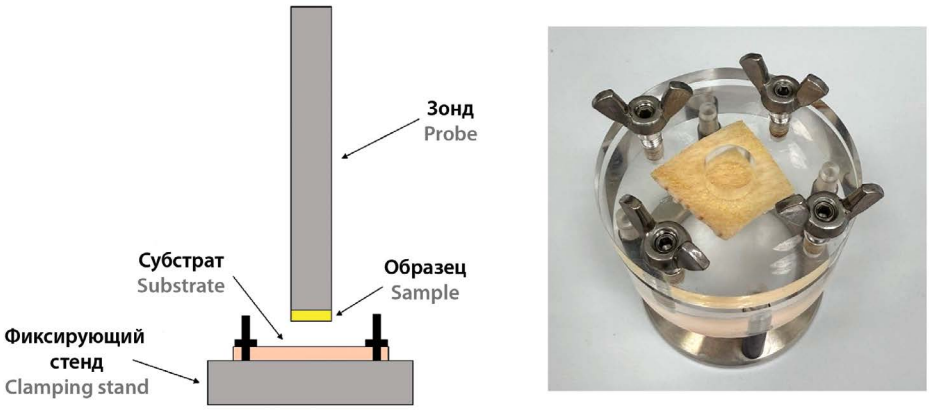


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Оборудование для оценки липкости зондовым методом

Figure 1. Equipment for probe tack test

Таблица 2. Параметры проведения испытания

Table 2. Test parameters

Параметр Parameter	Значение Value	Единицы измерения Units
Скорость до испытания Pre-test speed	1,00	мм/с mm/s
Скорость испытания Test speed	0,10	мм/с mm/s
Скорость после испытания Post-test speed	10,00	мм/с mm/s
Приложенная сила Applied force	10,0	г g
Обратное расстояние Return distance	10	мм mm
Время контакта Contact time	60	с s
Усилие срабатывания Trigger force	5,0	г g

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

В ходе исследования посредством программного обеспечения были построены кривые зависимости силы (*F*, г) от времени (*T*, с). Зондовый метод позволяет получить развернутую характеристику разрушения адгезионного соединения, образованного при контакте зонда с испытуемым образцом. Данный процесс проходит через стадию кавитации (1), проявляющуюся на кривой в виде пика. За кавитацией следует стадия латерального роста пустот в плоскости матрицы (2) с последующим выходом на плато – образованием фибрилл (3). После чего происходит разрушение адгезионного соединения (4) (рисунок 2).

При обработке данных рассчитывали две основные характеристики образующихся соединений: силу отрыва и работу адгезии. Сила отрыва определялась как максимальная сила, необходимая для отделения пластыря от субстрата, и она являлась максимумом на кривой отрыва. Общая работа адгезии рассчитывалась как площадь под кривой и представляла собой энергию, необходимую для разделения двух фаз.

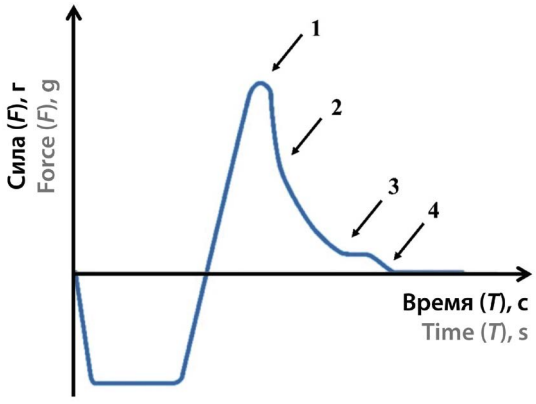


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Типичная кривая зондирования липкости

Figure 2. Typical curve of probe tack test

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов была основана на требованиях ОФС.1.1.0013 Государственной фармакопеи (ГФ) РФ[1]. Для полученных данных рассчитывали средние значения и стандартные ошибки среднего ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Оценка адгезионных свойств трансдермальных систем должна носить комплексный характер и базироваться на совокупном применении нескольких взаимодополняющих методов. Использование какого-либо одного испытания не позволяет в полной мере охарактеризовать поведение пластыря в реальных условиях, поскольку различные характеристики адгезии – начальная липкость, устойчивость к сдвигу и сопротивление отслаиванию – требуют отдельных подходов для своей оценки.

Так, в рамках ранее проводимого исследования по подбору компонентов матрицы для ТТС с трансресвератролом была использована оценка липкости посредством испытания с катящимся стальным шаром (Rolling ball tack test) и установлено, что введение в рецептуру ПВП К-17 снижает адгезивные свойства матрицы. Ввиду высокой чувствительности к условиям окружающей среды, в частности влажности воздуха, как в процессе сушки, так и в процессе хранения образцы, содержащие ПВП К-17, демонстрировали неудовлетворительную адгезию. Полученные результаты были также подтверждены и в настоящем исследовании методом зондирования липкости.

На рисунках 3 и 4 представлены результаты оценки силы отрыва и работы адгезии для испытуемых образцов (составы приведены в таблице 1) и референтных препаратов по отношению к изолированной свиной коже. С целью демонстрации работоспособности системы и отсутствия значительного влияния используемых субстратов на получаемые значения проводили измерение по отношению к субстрату без закрепленного образца на металлическом зонде прибора (отрицательный контроль).

Согласно полученным данным, даже минимальное количество ПВП К-17 (образец № 2) существенно снижает липкость матрицы, в связи с чем использование данного полимера в пластыре для получения стабиль-

[1] ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний». Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/statisticheskaya-obrabotka-rezultatov-fizicheskikh-fiziko-khimicheskikh-i-khimicheskikh-ispytaniy/?sphrase_id=2419730 Ссылка активна на 14.04.2026.

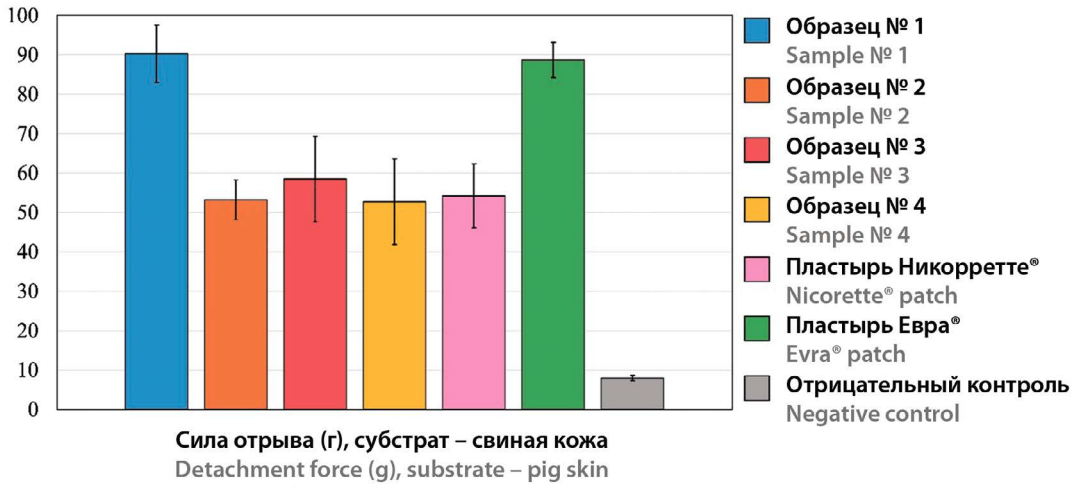


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. **Результаты исследования силы отрыва (субстрат – изолированная свиная кожа)**

Figure 3. **Results of the detachment force study (substrate – isolated pig skin)**

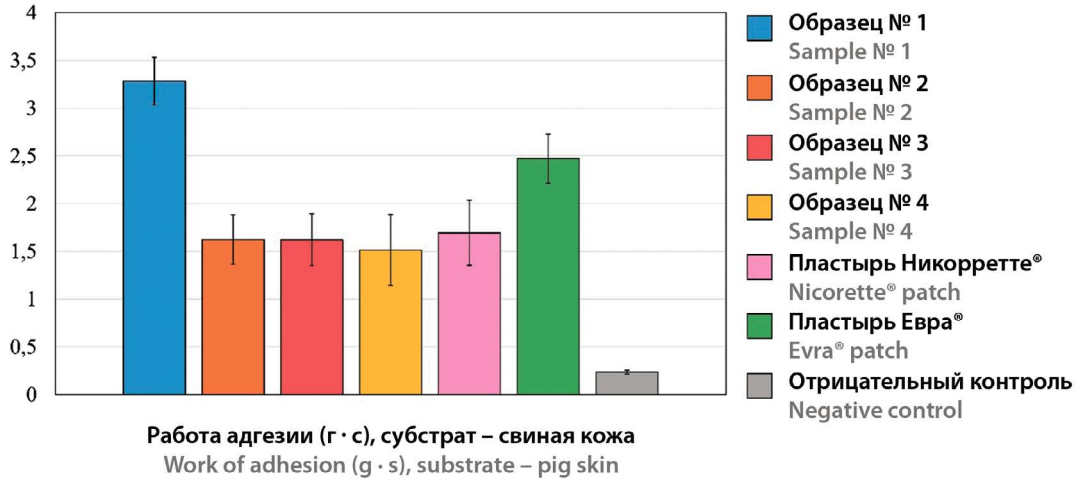


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. **Результаты исследования работы адгезии (субстрат – изолированная свиная кожа)**

Figure 4. **Results of the work of adhesion study (substrate – isolated pig skin)**

ных адгезивных характеристик является нецелесообразным. При этом варьирование содержания ПВП К-17 в составе (образцы № 2–4) не оказывало заметного влияния на адгезивные свойства.

При характеристике адгезивных свойств трансдермальных пластырей ключевой проблемой остается отсутствие объективной, универсальной шкалы адгезии. В научной литературе и нормативной документации нет четкой градации, позволяющей однозначно определить, какую степень липкости следует считать «оптимальной», «удовлетворительной» или «недостаточной». В связи с этим наиболее методологически обоснованным подходом является включение в план исследования положительного контроля – референтных коммерческих препаратов, уже присутствующих на рынке. Использование таких референс-пластырей позволяет получить опосредованное, но клинически релевантное представление о необходимых параметрах фиксации.

При использовании в качестве субстрата изолированной свиной кожи образец № 1 продемонстрировал сопоставимые результаты с препаратом Евра®:

сила отрыва 90,3 ± 7,3 г и работа адгезии 3,28 ± ± 0,25 г · с у образца № 1 и 88,7 ± 4,4 г и 2,47 ± 0,25 г · с у Евра® соответственно, что указывает на высокую способность образца № 1 образовать надежное первоначальное сцепление с субстратом.

В эксперименте с искусственной кожей (рисунки 5, 6) для разрушения адгезионного соединения с образцом № 1 потребовалась сила, равная 66,11 ± ± 4,71 г, а работа адгезии составила 2,05 ± 0,23 г · с. При исследовании препарата Никоретте® были получены следующие результаты: 60,08 ± 4,02 г и 1,81 ± ± 0,15 г · с. Возможность образца № 1 формировать надежное сцепление с субстратом была сопоставима с референтным препаратом Никоретте®, что говорит об удовлетворительных адгезионных свойствах разрабатываемого пластыря.

Сцепление Евра® с искусственной кожей оказалось сильнее сцепления с фиксирующей двусторонней клейкой лентой, в связи с чем разрыв адгезионного соединения происходил вне системы «образец – субстрат». Измерение параметров адгезии ТТС Евра® по представленной методике не представлялось возможным, поэтому данные на рисунках 5 и 6 по данному препарату отсутствуют.

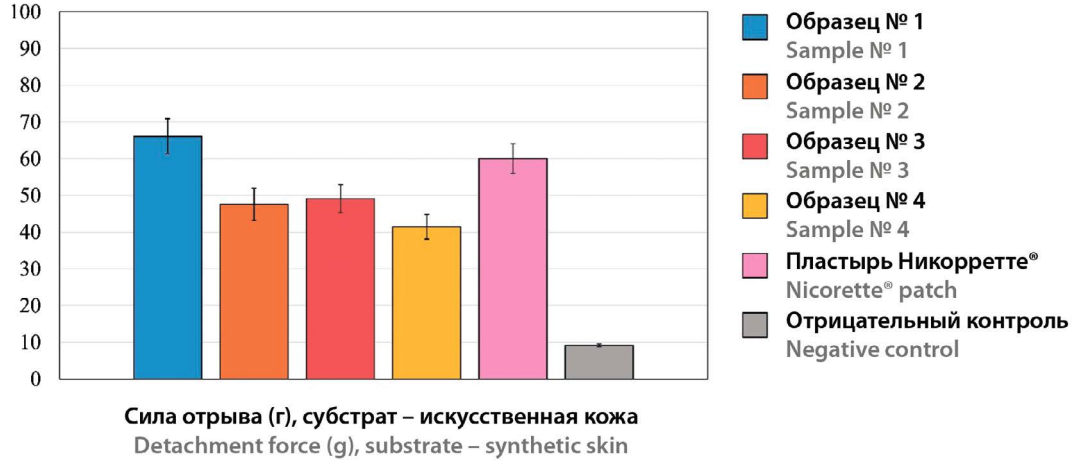


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. Результаты исследования силы отрыва (субстрат – искусственная кожа)

Figure 5. Results of the detachment force study (substrate – synthetic skin)

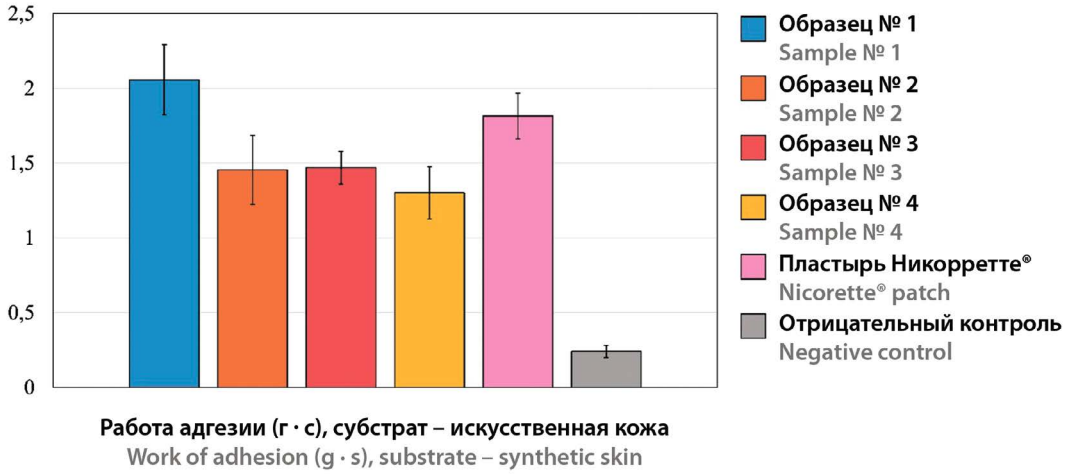


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 6. Результаты исследования работы адгезии (субстрат – искусственная кожа)

Figure 6. Results of the work of adhesion study (substrate – synthetic skin)

В ходе исследования было подтверждено, что при интерпретации результатов испытаний адгезии принципиальное значение имеет выбор субстрата, по отношению к которому проводятся измерения. Результаты исследования зависят не только от свойств самого образца, но и в значительной степени от характеристик поверхности контакта. Аналогичные наблюдения прослеживаются во многих исследовательских работах [17–19].

Состав матрицы, демонстрирующий надежную фиксацию на искусственной коже, может проявлять неудовлетворительную адгезию по отношению к свиной, и наоборот. При этом важно отметить, что способность образовывать прочное соединение с биологическими тканями, вариабельность которых крайне высока, зависит от множества факторов: участка тела, с которого взят лоскут, его температуры, микрорельефа, степени гидратации, эластичности, свежести (постмортальные изменения), а также индивидуальных особенностей донора [18, 19]. В связи с этим методологически обоснованным представляется подход, предполагающий использование различных субстратов с последующим выявлением общей тенденции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данного исследования было проведено сравнительное изучение адгезивных свойств экспериментальных образцов матричных трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом с использованием метода зондирования липкости (probe tack test). Установлено, что образец № 1 на основе сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата (без добавления ПВП К-17) демонстрирует наилучшие адгезивные свойства. Данный образец обеспечивает силу отрыва и работу адгезии, сопоставимые с референтными коммерческими препаратами Евра® (на биологическом субстрате) и Никоретте® (на синтетическом субстрате). Введение в состав пластыря ПВП К-17, даже в минимальном количестве, приводит к существенной потере липкости и делает систему нестабильной, чувствительной к условиям окружающей среды.

Таким образом, разработанная матрица на основе сополимера метакриловой кислоты и этилакрилата является перспективной для дальнейшей разработки трансдермального пластыря с транс-ресвератролом. Полученные результаты подтверждают, что метод зондирования липкости в совокупности с оценкой липкости посредством испытания с катящимся стальным шаром (Rolling ball tack test) позволяет получить комплексную и разностороннюю оценку адгезивных свойств разрабатываемых ТТС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wang L., Ma J., Li J., Fang L., Liu C. Transdermal patch based on pressure-sensitive adhesive: the importance of adhesion for efficient drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2025;22(3):405–420. https://doi.org/10.1080/17425247.2025.2460650
2. Al-Smadi K., Ali M., Zhu J., Abdoh A., Phan K., Mohammed Y. Advances in Characterization of Transdermal and Topical Products using Texture Analyzer Systems. *AAPS PharmSciTech*. 2025;26(5):157. https://doi.org/10.1208/s12249-025-03148-x
3. Якимов К. Д., Ногаева У. В., Флисюк Е. В. Адгезия как показатель качества трансдермальных терапевтических систем: анализ требований, методы оценки. *Химико-фармацевтический журнал*. 2025;59(12):125–137. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2025-59-12-40-49
4. Bozorg B. D., Banga A. K. Effect of Different Pressure-Sensitive Adhesives on Performance Parameters of Matrix-Type Transdermal Delivery Systems. *Pharmaceutics*. 2020;12(3):209. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030209
5. Якимов К. Д., Ногаева У. В., Флисюк Е. В. Разработка и фармакотехнологические исследования трансдермальных пластырей с транс-ресвератролом. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):125–137. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2198
6. Садковский И. А., Король Л. А., Карабанова А. Б., Короленко А. В., Шеметова Е. А., Краснюк И. И., Раменская Г. В., Мандрик М. А. Методы испытаний адгезивных полимерных композиций в разработке и контроле качества средств ухода за стомой на примере адгезивных пластин (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):156–169. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2031
7. Jin Y., Song Z., Zhang R., Zhang J. Experiment and analysis of physical, mechanical, and viscoelastic properties of the roots and stalks of green leafy vegetables. *PLoS ONE*. 2024;19(7):e0305572. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305572
8. Sharafi S., Nateghi L., Eyvazzade O., Ebrahimi M. T. A. The physicochemical, texture hardness and sensorial properties of ultrafiltrated low-fat cheese containing galactomannan and novagel gum. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*. 2020;19(1):83–100. https://doi.org/10.17306/J.AFS.0685
9. Christofi M., Mourtzinos I., Lazaridou A., Drogoudi P., Tsitlakidou P., Biliaderis C. G., Manganaris G. A. Elaboration of novel and comprehensive protocols toward determination of textural properties and other sensorial attributes of canning peach fruit. *Journal of Texture Studies*. 2021;52(2):228–239. https://doi.org/10.1111/jtxs.12577
10. Rafferty D. W., Dupin L., Zellia J., Giovannitti-Jensen A. Predicting lipstick sensory properties with laboratory tests. *International Journal of Cosmetic Science*. 2018;40(5):451–460. https://doi.org/10.1111/ics.12482
11. Bîrsan M., Cristofor A. C., Tuchiluş C., Crivoi F., Vlad R. A., Pintea C., Antonoaea P., Ciurba A. Development of cream bases suitable for personalized cosmetic products. *Medicine and Pharmacy Reports*. 2024;97(3):347–356. https://doi.org/10.15386/mpr-2765
12. Rony F. K., Appiah J., Alawbali A., Clay D., Ilias S., Azad M. A. Evaluating Swellable Cross-Linked Biopolymer Impact on Ink Rheology and Mechanical Properties of Drug-Contained 3D-Printed Thin Film. *Pharmaceutics*. 2025;17(2):183. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17020183
13. Ирмухаметова Г. С., Махаева Д. Н., Кожантаева Ж., Хуторянский В. В. Синтез и изучение мукоадгезивных свойств тиолированных полимеров на основе полигид-

роксиэтилметакрилата и 3-меркаптопропилтриметоксисилана. *Химический журнал Казахстана*. 2024;4(88):14–24. https://doi.org/10.51580/2024-4.2710-1185.44
14. Мустафин Р. И., Будников В. В., Абдуллина С. Г., Насибуллин Ш. Ф., Салеев Р. А. Поликомплексный носитель для трансбуккальной мукоадгезивной доставки метронидазола. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(2):83–90. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-2-83-90
15. Hoang M. T., Ita K. B., Bair D. A. Solid Microneedles for Transdermal Delivery of Amantadine Hydrochloride and Pramipexole Dihydrochloride. *Pharmaceutics*. 2015;7(4):379–396. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics7040379
16. Uhm C., Jeong H., Lee S. H., Hwang J. S., Lim K.-M., Nam K. T. Comparison of structural characteristics and molecular markers of rabbit skin, pig skin, and reconstructed human epidermis for an ex vivo human skin model. *Toxicological Research*. 2023;39(3):477–484. https://doi.org/10.1007/s43188-023-00185-1
17. Jaekel A., Wirtz M. Surface Characterization of Skin Substitute Materials. *Skin Research & Technology*. 2025;31(7):e70187. https://doi.org/10.1111/srt.70187
18. Jeong W. Y., Kwon M., Choi H. E., Kim K. S. Recent advances in transdermal drug delivery systems: a review. *Biomaterials research*. 2021;25(1):24. https://doi.org/10.1186/s40824-021-00226-6
19. Nguyen H. X., Nguyen C. N. Microneedle-Mediated Transdermal Delivery of Biopharmaceuticals. *Pharmaceutics*. 2023;15(1):277. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010277

REFERENSES

1. Wang L., Ma J., Li J., Fang L., Liu C. Transdermal patch based on pressure-sensitive adhesive: the importance of adhesion for efficient drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2025;22(3):405–420. https://doi.org/10.1080/17425247.2025.2460650
2. Al-Smadi K., Ali M., Zhu J., Abdoh A., Phan K., Mohammed Y. Advances in Characterization of Transdermal and Topical Products using Texture Analyzer Systems. *AAPS PharmSciTech*. 2025;26(5):157. https://doi.org/10.1208/s12249-025-03148-x
3. Yakimov K. D., Nogaeva U. V., Flisyuk E. V. Adhesion as a quality attribute of transdermal therapeutic systems: analysis of requirements, evaluation methods. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2025;59(12):125–137. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/0023-1134-2025-59-12-40-49
4. Bozorg B. D., Banga A. K. Effect of Different Pressure-Sensitive Adhesives on Performance Parameters of Matrix-Type Transdermal Delivery Systems. *Pharmaceutics*. 2020;12(3):209. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030209
5. Yakimov K. D., Nogaeva U. V., Flisyuk E. V. Development and pharmacotechnological studies of transdermal patches with trans-resveratrol. *Drug development & registration*. 2025;14(4):125–137. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2198
6. Sadkovskii I. A., Korol L. A., Karabanova A. B., Korolenko A. V., Shemetova E. A., Krasnyuk I. I., Ramenskaya G. V., Mandrik M. A. Test methods for adhesive polymer compositions in development and quality control for stoma care products on the example of adhesive baseplates (review). *Drug development & registration*. 2025;14(2):156–169. (In Russ.). https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-2031
7. Jin Y., Song Z., Zhang R., Zhang J. Experiment and analysis of physical, mechanical, and viscoelastic properties of the roots and stalks of green leafy vegetables. *PLoS ONE*. 2024;19(7):e0305572. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305572
8. Sharafi S., Nateghi L., Eyvazzade O., Ebrahimi M. T. A. The physicochemical, texture hardness and sensorial properties of ultrafiltrated low-fat cheese containing galactomannan and novagel gum. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*. 2020;19(1):83–100. https://doi.org/10.17306/J.AFS.0685
9. Christofi M., Mourtzinos I., Lazaridou A., Drogoudi P., Tsitlakidou P., Biliaderis C. G., Manganaris G. A. Elaboration of novel and comprehensive protocols toward determination of textural properties and other sensorial attributes of canning peach fruit. *Journal of Texture Studies*. 2021;52(2):228–239. https://doi.org/10.1111/jtxs.12577
10. Rafferty D. W., Dupin L., Zellia J., Giovannitti-Jensen A. Predicting lipstick sensory properties with laboratory tests. *International Journal of Cosmetic Science*. 2018;40(5):451–460. https://doi.org/10.1111/ics.12482
11. Bîrsan M., Cristofor A. C., Tuchiluş C., Crivoi F., Vlad R. A., Pintea C., Antonoaea P., Ciurba A. Development of cream bases suitable for personalized cosmetic products. *Medicine and Pharmacy Reports*. 2024;97(3):347–356. https://doi.org/10.15386/mpr-2765
12. Rony F. K., Appiah J., Alawbali A., Clay D., Ilias S., Azad M. A. Evaluating Swellable Cross-Linked Biopolymer Impact on Ink Rheology and Mechanical Properties of Drug-Contained 3D-Printed Thin Film. *Pharmaceutics*. 2025;17(2):183. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17020183
13. Irmukhametova G. S., Makhayeva D. N., Kozhantayeva Zh., Khutoryanskiy V. V. Synthesis and study of mucoadhesive properties of thiolated polymers based on polyhydroxyethylmethacrylate and 3-mercaptopropyltrimethoxysilane. *Chemical Journal of Kazakhstan*. 2024;4(88):14–24. (In Russ.) https://doi.org/10.51580/2024-4.2710-1185.44
14. Moustafine R. I., Budnikov V. V., Abdullina S. G., Nasibullin Sh. F., Saleev R. A. Polycomplex Carrier for Buccal Mucoadhesion Delivery of Metronidazole. *Drug development & registration*. 2020;9(2):83–90. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-2-83-90
15. Hoang M. T., Ita K. B., Bair D. A. Solid Microneedles for Transdermal Delivery of Amantadine Hydrochloride and Pramipexole Dihydrochloride. *Pharmaceutics*. 2015;7(4):379–396. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics7040379
16. Uhm C., Jeong H., Lee S. H., Hwang J. S., Lim K.-M., Nam K. T. Comparison of structural characteristics and molecular markers of rabbit skin, pig skin, and reconstructed human epidermis for an ex vivo human skin model. *Toxicological Research*. 2023;39(3):477–484. https://doi.org/10.1007/s43188-023-00185-1
17. Jaekel A., Wirtz M. Surface Characterization of Skin Substitute Materials. *Skin Research & Technology*. 2025;31(7):e70187. https://doi.org/10.1111/srt.70187
18. Jeong W. Y., Kwon M., Choi H. E., Kim K. S. Recent advances in transdermal drug delivery systems: a review. *Biomaterials research*. 2021;25(1):24. https://doi.org/10.1186/s40824-021-00226-6
19. Nguyen H. X., Nguyen C. N. Microneedle-Mediated Transdermal Delivery of Biopharmaceuticals. *Pharmaceutics*. 2023;15(1):277. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010277

Оригинальная статья / Research article

УДК 543.429.23; 544.169; 615.07; 615.013

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2277

Check for updates

CC BY 4.0

Определение средней молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР

Н. Е. Кузьмина[1], С. В. Моисеев[1]✉, В. А. Евтеев[1], Н. Д. Бунятян[1], А. Б. Прокофьев[1, 2]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8 стр. 2

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

✉ **Контактное лицо:** Моисеев Сергей Владимирович. **E-mail:** MoiseevSV@expmed.ru

Резюме

Введение. Сополимеры метакриловой кислоты представляют собой синтетические анионные сополимеры, которые используются в качестве основного компонента кишечнорастворимых оболочек, обеспечивающих контролируемое высвобождение лекарственного средства в тонком кишечнике. Молекулярная масса данных сополимеров является ключевым параметром, влияющим на их растворимость в желудочно-кишечном тракте, поэтому входит в число нормируемых показателей, определяющих качество сополимеров.

Цель. Разработка методики определения средней молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР, не предусматривающей стадию пересчета молекулярной массы дериватов в молекулярные массы исходных сополимеров метакриловой кислоты.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали раствор натриевой соли полиметакриловой кислоты, сополимеры метакриловой кислоты различных производителей, а также сополимеры метакриловой кислоты, выделенные из оболочек лекарственных препаратов. Эксперименты DOSY проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600.

Результаты и обсуждение. С помощью набора образцов сравнения построен калибровочный график зависимости логарифма средневесовой молекулярной массы образцов сравнения от логарифма их скорректированного усредненного значения коэффициента самодиффузии и выведено корреляционное уравнение с коэффициентом детерминации $R^2 = 0{,}9992$. Рассчитанные с помощью данного корреляционного уравнения значения молекулярных масс испытуемых образцов совпадают в пределах доверительных интервалов со значениями, измеренными производителями оболочек методом ГПХ. Относительная погрешность измерения методом DOSY (5,6 %) не превышает относительной погрешности определения молекулярных масс методом ГПХ (5–10 %).

Заключение. В ходе проведенного исследования разработана методика определения средневесовой молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР. При реализации данной методики исключена возможность образования конгломератов сополимеров метакриловой кислоты вследствие их дериватизации в соответствующие натриевые соли; исключен перерасчет средней молекулярной массы дериватизированных сополимеров метакриловой кислоты в среднюю молекулярную массу исходных сополимеров метакриловой кислоты; учтена различная подвижность отдельных сегментов макромолекул; снижено влияние на измеряемую величину коэффициента самодиффузии вязкости анализируемых растворов. Относительная погрешность измерения средневесовой молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты с использованием разработанной методики не превышает относительную погрешность измерения молекулярных масс веществ методом ГПХ.

Ключевые слова: сополимеры метакриловой кислоты, средняя молекулярная масса, диффузионно-упорядоченная спектроскопия ЯМР, дериватизация

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

Вклад авторов. Н. Е. Кузьмина – идея, планирование исследования, подбор и анализ литературы, систематизация и обобщение экспериментальных данных, подготовка и оформление рукописи. С. В. Моисеев – планирование исследования, проведение экспериментальных исследований методом ЯМР, систематизация и обобщение

© Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Евтеев В. А., Бунятян Н. Д., Прокофьев А. Б., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Kuz'mina N. E., Moiseev S. V., Evteev V. A., Bunyatyan N. D., Prokofiev A. B., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

экспериментальных данных, редактирование текста. В. А. Евтеев – поиск литературы, пробоподготовка образцов, систематизация и обобщение экспериментальных данных. Н. Д. Бунятян – ответственность за все аспекты работы, включая надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи. А. Б. Прокофьев – разработка дизайна исследований.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-01 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

Для цитирования: Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Евтеев В. А., Бунятян Н. Д., Прокофьев А. Б. Определение средней молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):162–168. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2277

Поступила в редакцию: 28.01.2026
Поступила после рецензирования: 22.04.2026
Принята к публикации: 24.07.2026

Determination of the weight average molecular weight of methacrylic acid copolymers by diffusion-ordered NMR spectroscopy

Natalia E. Kuz'mina[1], Sergey V. Moiseev[1]✉, Vladimir A. Evteev[1], Natalia D. Bunyatyan[1], Alexey B. Prokofiev[1, 2]

[1] Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 8/2, Petrovsky bulvar, Moscow, 127051, Russia
[2] I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Sergey V. Moiseev. **E-mail:** MoiseevSV@expmed.ru

Abstract

Introduction. Methacrylic acid copolymers are synthetic anionic copolymers that are used as the main component of enteric-soluble coatings that provide controlled drug release in the small intestine. The molecular weight of these copolymers is a critical parameter affecting their solubility in the gastrointestinal tract, therefore it is among the normalized parameters that determine the quality of copolymers.

Aim. Development of a method for determining the weight average molecular weight of methacrylic acid copolymers by diffusion-ordered NMR spectroscopy, which does not involve the stage of converting the molecular weight of derivatives into the molecular weights of the initial methacrylic acid copolymers.

Materials and methods. A solution of the sodium salt of polymethacrylic acid, copolymers of methacrylic acid from various manufacturers, as well as copolymers of methacrylic acid isolated from pharmaceutical film coatings were used as objects of research. The DOSY experiments were performed on an Agilent DD2 600 NMR spectrometer.

Results and discussion. Using a set of comparison samples, a calibration graph of the dependence of the logarithm of the weight average molecular weight of the comparison samples on the logarithm of their adjusted average value of the self-diffusion coefficient was constructed and a correlation equation with a coefficient of determination $R^2 = 0.9992$ was derived. The values of the molecular weights of the tested samples calculated using this correlation equation agreed within the confidence intervals with the values measured by the coating manufacturers using the GPC method. The relative measurement error of the DOSY method (5.6 %) does not exceed the relative error of the determination of molecular weights by the GPC method (5–10 %).

Conclusion. In the course of the study, a method was developed for determining the weight average molecular weight of methacrylic acid copolymers by diffusion-ordered NMR spectroscopy. When implementing this technique, the possibility of formation of methacrylic acid copolymers conglomerates due to their derivatization into the corresponding sodium salts is excluded; recalculation of the weight average molecular weight of the derivatized methacrylic acid copolymers into the weight average molecular weight of the initial methacrylic acid copolymers is excluded; different mobility of individual macromolecule segments is taken into account; the effect of the viscosity of the analyzed solutions on the measured value of the self-diffusion coefficient has been reduced. The relative error in measuring the weight average molecular weight of methacrylic acid copolymers using the developed technique does not exceed the relative error in measuring the molecular weights of substances by the GPC method.

Keywords: methacrylic acid copolymers, weight average molecular weight, diffusion-ordered NMR spectroscopy, derivatization

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

Contribution of the authors. Natalia E. Kuz'mina – idea, study planning, literature selection and analysis, systematization and generalization of experimental data, manuscript preparation and design. Sergey V. Moiseev – study planning, experimental studies by NMR, systematization and generalization of experimental data, text editing. Vladimir A. Evteev – literature search, sample preparation, systematization and generalization of experimental data. Natalia D. Bunyatyan – responsible for all aspects of the work, including proper investigation and resolution of issues related to the validity of the data and the integrity of all parts of the article. Alexey B. Prokofiev – research design development.

Funding. This work was carried out within the framework of the state assignment of the FSBI "SCESMP" of the Ministry of Health of Russia No. 056-00001-25-01 for applied scientific research (state registration number of the R&D project: 124022300127-0).

For citation: Kuz'mina N. E., Moiseev S. V., Evteev V. A., Bunyatyan N. D., Prokofiev A. B. Determination of the weight average molecular weight of methacrylic acid copolymers by diffusion-ordered NMR spectroscopy. *Drug development & registration*. 2026;15(3):162–168. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2277

Received: 28.01.2026
Revised: 22.04.2026
Accepted: 24.07.2026

ВВЕДЕНИЕ

Сополимеры метакриловой кислоты (МАК) представляют собой синтетические анионные сополимеры, которые используются в качестве основного компонента кишечнорастворимых оболочек, обеспечивающих контролируемое высвобождение лекарственного средства в тонком кишечнике. Наибольшее распространение в фармации получили сополимеры МАК и метилметакрилата (МАК-ММА) и сополимеры МАК и этилакрилата (МАК-ЭА), на долю которых приходится более 80 % лекарственных средств с кишечнорастворимыми оболочками на их основе. Молекулярная масса (ММ) сополимеров МАК является ключевым параметром, влияющим на их растворимость в желудочно-кишечном тракте, поэтому входит в число нормируемых показателей, определяющих качество сополимеров (Methacrylyc acid – ethyl acrylate copolymer (1 : 1). Monograph 1128. European Pharmacopoeia, II, 253–254, 2022; Methacrylyc acid – ethyl acrylate copolymer (1 : 1) dispersion 30 per cent. Monograph 1129. European Pharmacopoeia, II, 254–255, 2022; Methacrylyc acid – methyl methacrylate copolymer (1 : 1). Monograph 1127. European Pharmacopoeia, II, 255–256, 2022; Methacrylyc acid – methyl methacrylate copolymer (1 : 2). Monograph 1130. European Pharmacopoeia, II, 256–257, 2022).

Производители сополимеров МАК определяют их среднюю ММ преимущественно методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ) (EUDRAGIT® L 100 and EUDRAGIT® S 100. Technical Information. Evonik Industries AG. 2012[1]. EUDRAGIT® L 30 D-55. Technical Information. Evonik Industries AG. 2012[2]. EUDRAGIT® L 100. Technical Information. Evonik Industries AG. 2012[3]. Bűhler V. Kollicoat grades. Functional polymers for pharmaceutical industry. Ludwigshafen: BASF Aktiengesellshaft Pharma Solutions, 2007. 228 p.). Метод ГПХ является разновидностью транспортных методов в аналитической химии и основан на экспериментальном фиксировании подвижности макромолекул полимеров в результате межфазного распределения, обусловленного динамической сорбцией. Перспективным методом определения средней ММ полимеров и сополимеров является метод диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР (DOSY). Метод DOSY также относится к транспортным методам аналитической химии и основан на экспериментальном фиксировании трансляционной подвижности молекул при термодинамическом равновесии – самодиффузии. Самодиффузия количественно характеризуется коэффициентом самодиффузии (D), который численно равен среднеквадратичному смещению молекулы за единицу времени. Величину ММ полимеров и сополимеров методом DOSY определяют сравнением измеренных значений D испытуемых образцов и образцов с известной молекулярной массой путем построения калибровочной кривой. Преимущество метода DOSY перед ГПХ заключается в том, что спектральная информация позволяет оценивать не только ММ, но и нестехиометрический состав сополимеров, который также нормируется и подлежит контролю.

Основная проблема определения молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты транспортными методами (как ГПХ, так и DOSY) связана со способностью их макромолекул образовывать конгломераты за счет межмолекулярных водородных связей с участием карбоксильных групп МАК, что приводит к значительному завышению результатов измерения ММ [1, 2]. Один из способов решения данной проблемы – дериватизация этих сополимеров в соответствующие сополимеры метакрилатов, предотвращающая образование водородных связей между карбоксильными группами. В литературе предложен способ дериватизации сополимеров метакриловой кислоты в соответствующие сополимеры метакрилатов [1]. При такой дериватизации возникает необходимость обратного пересчета определяемых с помощью калибровочной кривой значений молекулярных масс дериватов в ММ исходных сополимеров МАК.

[1] EUDRAGIT® L 100 & S 100: Specs & Tests. Available at: https://studylib.net/doc/25298564/evonik-eudragit-l-100-and-eudragit-s-100-specification-sheet Accessed: 28.01.2026.

[2] EUDRAGIT® L 30 D-55. Available at: https://www.evonik.com/en/products/hc/pr_52000400.html Accessed: 28.01.2026.

[3] EUDRAGIT® L 100. https://www.evonik.com/en/products/hc/pr_52000884.html Accessed: 28.01.2026.

Целью данного исследования является разработка методики определения средней молекулярной массы сополимеров МАК методом DOSY, не предусматривающей стадию пересчета ММ дериватов в молекулярные массы исходных сополимеров МАК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для построения калибровочной кривой и вывода корреляционного уравнения зависимости ММ от значения коэффициента самодиффузии использовали следующие образцы сравнения: раствор натриевой соли полиметакриловой кислоты производства Sigma-Aldridch, средневесовая молекулярная масса (MM_w) 9,5 кДа (I) (кат. номер 434507); сополимер МАК-ММА (1:1) производства Corel Pharma Chem (Индия), MM_w 125 кДа (II) (серия 10023002, годен до 10.04.2028); стандартный образец сополимера МАК-ММА (1:2) производства Европейской фармакопеи (Германия), MM_w 135 кДа (III) (код 0001821, батч 1.1); сополимер МАК-ЭА (1:1) из водной акриловой энтеральной системы торговой марки «Acryl-EZE» производства Shanghai Colorcon Coating Technology Limited (Китай), MM_w 250 кДа (IV) (серия SH672669, годен до 13.09.2025); сополимер МАК-ЭА (1:1) из оболочки препарата «Voltaren» производства Novartis (Швейцария), MM_w 320 кДа (V) (серия A01A3R, годен до 07.2027). В качестве испытуемых образцов использовали стандартный образец сополимера МАК-ММА (1:1) производства Европейской фармакопеи (Германия), MM_w 135 кДа (VI) (код 0001820, батч 2.0), и сополимер МАК-ЭА (1:1) из оболочки препарата «Омепразол» производства ЗАО «Канонфарма продакшн» (Россия), MM_w 250 кДа (VII) (серия 071024, годен до 10.2027).

Выделение сополимеров МАК из оболочек лекарственных препаратов осуществляли следующим образом: пеллеты из 2 капсул или механически отделенную оболочку от 2 таблеток высыпали в центрифужную пробирку объемом 15 мл, добавляли 10 мл деионизированной воды и доводили pH раствора до 9 с помощью 0,1 н раствора NaOH, затем помещали в ультразвуковую ванну при 37 °С до полного размельчения. Смесь выдерживали 30 мин при комнатной температуре и далее центрифугировали 20 мин в центрифуге Eppendorf 5810R при 12 000 об/мин. Надосадочную жидкость из пробирки осторожно переносили в чистую пробирку объемом 15 мл и доводили pH раствора до 1–2 раствором соляной кислоты (0,1 н). Выдерживали 1 ч и далее центрифугировали 15 мин при 12 000 об/мин. Надосадочную жидкость удаляли, осадок переносили на предметное стекло и высушивали до постоянной массы в термостате Binder BD 115 при 60 °С.

Перевод сополимеров МАК в сополимеры солей МАК осуществляли следующим образом: около 20 мг сополимера МАК растворяли в 5 мл деионизованной воды, доводили до pH 9 добавлением 0,1 н раствора NaOH при комнатной температуре, оставляли раствор на 30 мин и затем его высушивали при температуре 60 °С до постоянной массы. Раствор натриевой соли полиметакриловой кислоты из обучающей выборки также высушивали при температуре 60 °С до постоянной массы.

Около 5 мг каждого высушенного образца помещали в ЯМР-ампулу, добавляли 0,5 мл дейтерированной воды производства Cambridge Isotope Laboratories (США) и интенсивно встряхивали до полного растворения навески образца. Для взвешивания навесок образцов использовали весы XPE205DR (Mettler-Toledo AG, Швейцария).

Регистрацию спектров ^{1}H-DOSY проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600 (программное обеспечение VnmrJ (ver. 4.2), Agilent Technologies, США) с 5-миллиметровым мультиядерным датчиком, оснащенным градиентной катушкой, при температуре 300 К. Параметры DOSY-эксперимента: угол поворота намагниченности – 45°, время задержки между импульсными последовательностями – 2 с, число накоплений сигнала спада свободной индукции – 16, последовательное 15-шаговое линейное увеличение амплитуды импульса градиента магнитного поля в интервале от 1,8 до 51,5 Гс/см при фиксированных значениях времени диффузии (285 мс) и длительности градиентного импульса (2 мс), число точек аналого-цифрового преобразования – 64 К, коэффициент аподизации по Лоренцу – 3 Гц. Математическую обработку результатов эксперимента осуществляли методом DISCRETE (Discrete Sum of Exponential Decays), в рамках которого каждую кривую диффузионного затухания двухкомпонентной смеси «растворитель – сополимер МАК» представляли суммой двух экспоненциальных составляющих. Для каждого из анализируемых образцов за результат измерения брали усредненное значение измерений, полученное в ходе трех экспериментов. Результаты измерений были статистически обработаны с помощью Microsoft Office Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для предотвращения образования конгломератов анализируемые образцы сополимеров МАК были предварительно переведены в соответствующие натриевые соли. На наш взгляд, такая дериватизация сополимеров МАК не оказывает существенного влияния на результат оценки их средней молекулярной массы.

Следует отметить, что на диаграммах распределения значений D, полученных в ходе проведения экспериментов DOSY, для большинства анализируемых образцов наблюдается 2 пика с различными значениями коэффициентов самодиффузии (рисунок 1).

Одна из причин этого явления – различная локальная подвижность сегментов сополимерной цепи и боковых заместителей. Поэтому мы использовали средний коэффициент самодиффузии (D_s), который определяли по формуле (1) [3, 4]:

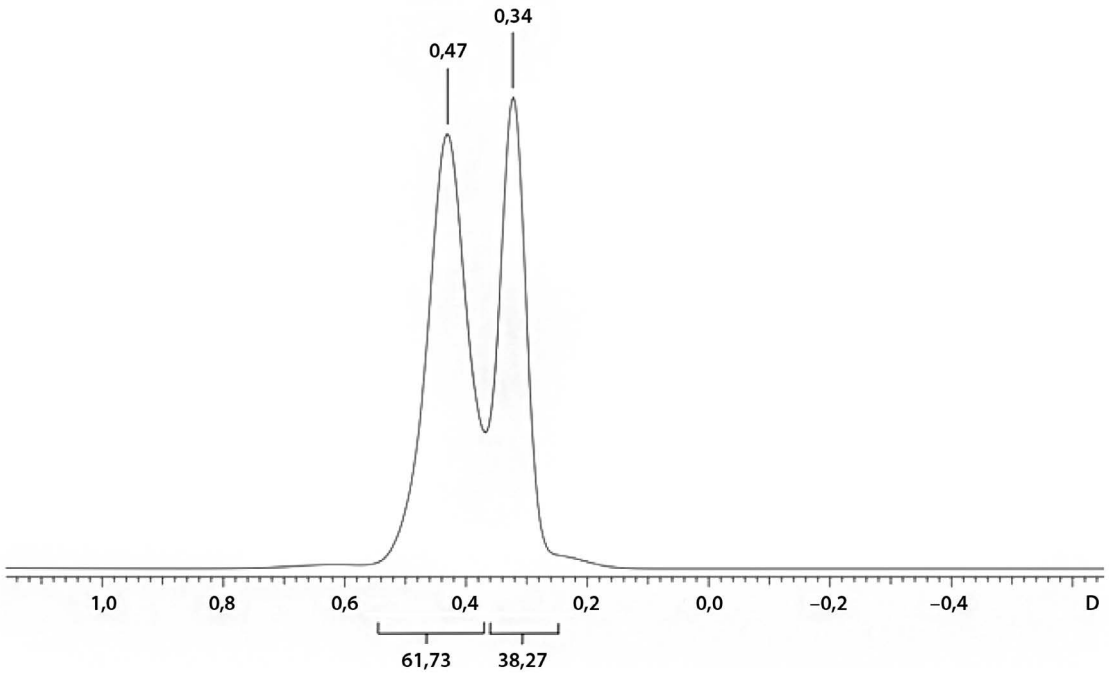


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Диаграмма распределения значений *D* раствора стандартного образца сополимера МАК-ММА (1 : 1)

Figure 1. The *D* values distribution diagram of the methacrylic acid–methyl methacrylate copolymer (1 : 1) standard sample solution

$$D_s = \Sigma p_i \cdot D_i, \quad (1)$$

где D_i – величина D пика i на диаграмме распределения D в образце сополимера МАК; p_i – относительная доля резонирующих ядер в образце, характеризующихся значением D_i, определенная путем интегрирования пиков на диаграмме распределения D.

Для нивелирования ошибок, связанных с изменением вязкости при переходе от растворителя к раствору, проводили корректировку экспериментально определенных величин D_s. Коэффициент корреляции ($K_{кор.}$) рассчитывали как отношение значения D остаточной воды в растворителе (в нашем случае $19{,}49 \cdot 10^{-10}$ м^2/с) к значению D остаточной воды в растворе с анализируемым образцом [4, 5]. Диффузионные характеристики растворов образцов сравнения, используемых при построении калибровочной кривой, и соответствующие им значения MM_w представлены в таблице 1.

С помощью образцов сравнения был построен калибровочный график зависимости логарифма MM_w образцов сравнения от логарифма их скорректированного усредненного значения коэффициента самодиффузии (рисунок 2) и выведено корреляционное уравнение (2) с коэффициентом детерминации $R^2 = 0{,}9992$:

$$\lg MM_w = -6{,}5977 \lg D_s^{кор.} - 66{,}286. \quad (2)$$

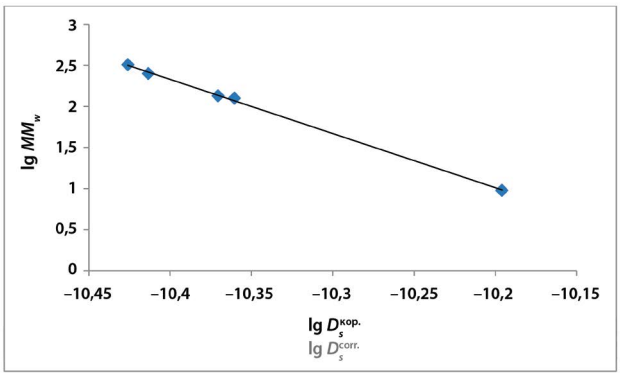


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. График линейной зависимости логарифма средневесовой молекулярной массы образцов сравнения от логарифма их скорректированного усредненного значения коэффициента самодиффузии

Figure 2. Graph of the linear dependence of the logarithm of the weight average molecular weight of comparison samples on the logarithm of their corrected average self-diffusion coefficient

Таблица 1. **Данные DOSY для растворов образцов сравнения**

Table 1. **DOSY data for comparison sample solutions**

Образец Sample	D_i*, 10^{-10} м²/с (p_i, %)** D_i*, 10^{-10} m²/s (p_i, %)**	D_s, 10^{-10} м²/с D_s, 10^{-10} m²/s	D_{H2O} в растворе, 10^{-10} м²/с (K) D_{H2O} in solution 10^{-10} m²/s (K)	$K_{кор.}$ $K_{corr.}$	$D_s^{кор.}$, 10^{-10} м²/с $D_s^{corr.}$, 10^{-10} m²/s	Среднее $D_s^{кор.}$, 10^{-10} м²/с (RSD, %) Average $D_s^{corr.}$, 10^{-10} m²/s (RSD, %)
I	0,75 (26,09) 0,62 (73,91)	0,654	19,40	1,0046	0,657	0,637 ± 0,057 (3,58)
	0,75 (25,96) 0,60 (74,04)	0,639	19,43	1,0031	0,641	
	0,74 (28,81) 0,56 (71,19)	0,612	19,48	1,0005	0,612	
II	0,47 (63,29) 0,36 (36,71)	0,430	19,51	0,9990	0,430	0,436 ± 0,020 (1,83)
	0,48 (59,82) 0,36 (40,18)	0,432	19,44	1,0026	0,433	
	0,50 (58,05) 0,37 (41,95)	0,445	19,51	0,9990	0,445	
III	0,48 (51,35) 0,35 (48,65)	0,417	19,47	1,0010	0,417	0,426 ± 0,020 (1,90)
	0,43 (100)	0,430	19,44	1,0026	0,431	
	0,43 (100)	0,430	19,44	1,0026	0,431	
IV	0,39 (85,47) 0,27 (14,53)	0,373	19,48	1,0005	0,373	0,387 ± 0,031 (3,27)
	0,41 (87,71) 0,24 (12,29)	0,389	19,49	1,0000	0,389	
	0,42 (82,05) 0,29 (17,95)	0,397	19,45	1,0021	0,398	
V	0,39 (75,81) 0,28 (24,19)	0,363	19,48	1,0005	0,363	0,375 ± 0,024 (2,61)
	0,38 (100)	0,38	19,46	1,0015	0,381	
	0,38 (100)	0,38	19,46	1,0015	0,381	

Примечание. * Коэффициент самодиффузии локальных сегментов макромолекулы.
** Относительная доля значений D_i, равная их интегральной интенсивности на диаграмме распределения значений D.

Note. * Self-diffusion coefficient of local segments of the macromolecule.
** Relative proportion of D_i values, equal to their integral intensity on the distribution diagram of D values.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Данные DOSY растворов испытуемых образцов и рассчитанные на их основе MM_w представлены в таблице 2.

Из данных таблицы 2 следует, что рассчитанные с помощью корреляционного уравнения (2) значения MM_w испытуемых образцов совпадают в пределах доверительных интервалов со значениями MM_w, измеренными методом ГПХ производителями оболочек (135 и 250 кДа для VI и VII соответственно). Относительная погрешность измерения MM_w методом DOSY (5,6 и 4,7 % для VI и VII соответственно) не превышает относительной погрешности определения ММ методом ГПХ (5–10 %) (Благодатских И. В. Жидкостная хроматография полимеров. Методическое пособие. М.: Научно-образовательный центр по физике и химии полимеров. ИНЭОС РАН; 2010. С. 10).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования разработана методика определения средневесовой молекулярной массы сополимеров метакриловой кислоты методом диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР. При реализации данной методики исключена возможность образования конгломератов сополимеров МАК вследствие их дериватизации в соответствующие натриевые соли; исключен перерасчет средней молекулярной массы дериватизированных сополимеров МАК в среднюю молекулярную массу исходных сополимеров МАК; учтена различная подвижность отдельных сегментов макромолекул; снижено влияние на измеряемую величину коэффициента самодиффузии вязкости анализируемых

Таблица 2. Данные DOSY испытуемых образцов и соответствующие им средневесовые молекулярные массы

Table 2. The test samples DOSY data and the corresponding average molecular weights

Образец Sample	D_i, 10^{-10} м²/с (p_i, %) D_i, 10^{-10} m²/s (p_i, %)	D_s, 10^{-10} м²/с D_s, 10^{-10} m²/s	D_{H2O} в растворе, 10^{-10} м²/с (K) D_{H2O} in solution 10^{-10} m²/s (K)	$D_s^{кор.}$, 10^{-10} м²/с $D_s^{corr.}$, 10^{-10} m²/s	MM_w, кДа MM_w, kDa	Среднее MM_w, кДа (RSD, %) Average MM_w, kDa (RSD, %)
VI	0,47 (61,73); 0,34 (38,27)	0,421	19,46 (1,0015)	0,422	145,57	142,6 ± 8,4 (2,37)
	0,47 (63,81); 0,34 (36,19)	0,423	19,48 (1,0005)	0,423	143,32	
	0,47 (63,50); 0,34 (36,50)	0,423	19,42 (1,0036)	0,425	138,92	
VII	0,41 (57,10); 0,36 (42,90)	0,389	19,31 (1,0093)	0,393	232,85	238,2 ± 15,3 (2,58)
	0,42 (53,63) 0,35 (46,37)	0,388	19,30 (1,0098)	0,392	236,80	
	0,42 (51,92); 0,35 (48,08)	0,386	19,30 (1,0098)	0,390	244,92	

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

растворов. Относительная погрешность измерения средневесовой молекулярной массы сополимеров МАК с использованием разработанной методики не превышает относительную погрешность измерения ММ веществ методом ГПХ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Giordanengo R., Viel S., Hidalgo M., Allard-Breton B., Thévand A., Charles L. Analytical strategy for the molecular weight determination of random copolymers of poly(methyl methacrylate) and poly(methacrylic acid). *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2010;21(6):1075–1085. https://doi.org/10.1016/j.jasms.2010.02.007
2. Yessine M.-A., Lafleur M., Meier C., Petereit H.-U., Leroux J.-C. Characterization of the membrane-destabilizing properties of different pH-sensitive methacrylic acid copolymers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2003;1613(1–2):28–38. https://doi.org/10.1016/S0005-2736(03)00137-8
3. Маклаков А. И., Скирда В. Д., Фаткуллин Н. Ф. *Самодиффузия в растворах и расплавах полимеров*. Казань: Изд-во Казанского государственного университета; 1987. 224 с. [Maklakov A. I., Skirda V. D., Fatkullin N. F. Self-diffusion in solutions and melts of polymers. Kazan: Kazan State University Press; 1987. 224 p. (In Russ.)]
4. Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Северинова Е. Ю., Лутцева А. И. Применение метода диффузионно-упорядоченной спектроскопии ЯМР для анализа полисахаридов. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2022;12(1):24–40. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-24-40 [Kuz'mina N. E., Moiseev S. V., Severinova E. Yu., Luttseva A. I. Diffusion-ordered NMR spectroscopy application for analysis of polysaccharides. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(1):24–40 (In Russ.) https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-1-24-40]
5. Kasprzak A., Poplawska M., Krawczyk H., Molchanov S., Kozlowski M., Bystrzejewski M. Novel non-covalent stable supramolecular ternary system comprising of cyclodextrin and branched polyethylenimine. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. 2017;87(1):53–65. https://doi.org/10.1007/s10847-016-0677-1

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

Оригинальная статья / Research article

УДК 543.064.3; 615.322; 543.42/.43; 543.42.062; 543.5; 632.954; 543.6

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2328

Check for updates

CC BY 4.0

Использование метода поляризационно-флуоресцентного иммуноанализа для оценки содержания ацетохлора в лекарственном растительном сырье

М. А. Пашкова[1], Д. Цзычен[1], Л. И. Мухаметова[1], С. А. Еремин[1], Ю. В. Медведев[2], С. В. Кареева[2], Г. В. Раменская[2], С. М. Филимонова[2]✉

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

[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:** Филимонова Светлана Михайловна. **E-mail:** filimonova.svetl@mail.ru

Резюме

Введение. Ацетохлор относится к числу наиболее распространенных гербицидов, способных накапливаться в сырье лекарственных растений и представляющих угрозу для здоровья. Для контроля содержания ацетохлора была разработана методика с использованием поляризационного флуоресцентного иммунноанализа (ПФИА), гомогенного и специфичного метода, который применяют для анализа низкомолекулярных токсикантов.

Цель. Разработка и валидация методики количественного определения ацетохлора в лекарственном растительном сырье на примере сырья кукурузы (столбики с рыльцами) методом ПФИА.

Материалы и методы. При разработке методики использовали поликлональные кроличьи антитела к ацетохлору и конъюгат производного ацетохлора и этилендиаминофлуоресцеина в качестве трейсера (AMPA-EDF). Анализ выполняли методом поляризации флуоресценции на портативном флуориметре Sentry-200 (Ellie LLC, США). Обработку данных проводили с использованием программного пакета SigmaPlot 11 (Systat Software Inc., США). Исследования выполняли на образцах лекарственного растительного сырья кукурузы (столбики с рыльцами), приобретенного в аптечной сети и в общедоступном интернет-магазине. Валидацию методики проводили по следующим параметрам: пределу обнаружения, пределу количественного определения, диапазону определяемых концентраций, прецизионности, правильности и специфичности.

Результаты и обсуждение. Разработана, оптимизирована и валидирована методика количественного определения пестицида ацетохлора в лекарственном растительном сырье кукурузы (столбики с рыльцами) методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА). Диапазон определения составил 0,024–1,56 мг/кг. Доказаны специфичность, прецизионность и правильность разработанной методики.

Заключение. На примере кукурузы столбиков с рыльцами метод поляризационно-флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА) применим для количественного определения пестицида ацетохлора в лекарственном растительном сырье.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье, пестициды, ацетохлор, поляризационный флуоресцентный иммуноанализ, ПФИА

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

Вклад авторов. М. А. Пашкова – разработка и оптимизация методики, проведение экспериментальной работы методом ПФИА, написание статьи. С. М. Филимонова – разработка и оптимизация методики, статистическая обработка результатов, написание статьи. Д. Цзычен – проведение экспериментальной работы методом ПФИА. Ю. В. Медведев, С. В. Кареева – разработка методики и проведение экспериментальной работы методом ВЭЖХ-УФ. Л. И. Мухаметова, С. А. Еремин, Г. В. Раменская – планирование эксперимента, обсуждение результатов, редактирование статьи.

© Пашкова М. А., Цзычен Д., Мухаметова Л. И., Еремин С. А., Медведев Ю. В., Кареева С. В., Раменская Г. В., Филимонова С. М., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Pashkova M. A., Zicheng D., Mukhametova L. I., Eremin S. A., Medvedev Yu. V., Kareeva S. V., Ramenskaya G. V., Filimonova S. M., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, проект № 121041500039-8.

Для цитирования: Пашкова М. А., Цзычен Д., Мухаметова Л. И., Еремин С. А., Медведев Ю. В., Кареева С. В., Раменская Г. В., Филимонова С. М. Использование метода поляризационно-флуоресцентного иммуноанализа для оценки содержания ацетохлора в лекарственном растительном сырье. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):170–179. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2328

Поступила в редакцию: 30.03.2026
Поступила после рецензирования: 16.06.2026
Принята к публикации: 21.08.2026

Application of fluorescence polarization immunoassay for acetochlor determination in medicinal plant material

Maria A. Pashkova[1], Diao Zicheng[1], Liliya I. Mukhametova[1], Sergey A. Eremin[1], Yuri V. Medvedev[2], Sofya V. Kareeva[2], Galina V. Ramenskaya[2], Svetlana M. Filimonova[2]✉

[1] Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry. 1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia
[2] I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

✉ **Corresponding author:** Svetlana M. Filimonova. **E-mail:** filimonova.svetl@mail.ru

Abstract

Introduction. Acetochlor is one of the most common herbicides capable of accumulating in medicinal plant raw materials and posing a health risk. A method for acetochlor determination was developed using fluorescence polarization immunoassay (FPIA), a homogeneous and specific technique employed for analysis of low-molecular-weight toxicants.

Aim. To develop and validate a fluorescence polarization immunoassay for quantitative analysis of the herbicide acetochlor in medicinal plant material, exemplified by corn silk (*Zea mays* L.).

Materials and methods. For the development of the method, polyclonal rabbit antibodies against acetochlor and a tracer consisting of an acetochlor derivative conjugated with ethylenediamine fluorescein (AMPA-EDF) were used. The analysis was performed by fluorescence polarization using a portable Sentry-200 fluorimeter (Ellie LLC, USA). Data processing was carried out with SigmaPlot 11 software package (Systat Software Inc., USA). The study was performed on samples of corn silk medicinal plant material purchased from a local pharmacy and an online store. Method validation included the following parameters: limit of detection, limit of quantification, analytical range, precision, accuracy, and specificity.

Results and discussion. A method for the quantitative determination of the pesticide acetochlor in the herbal medicinal raw material corn silk (*Zea mays* L.) has been developed, optimized, and validated using fluorescence polarization immunoassay (FPIA). The determination range was from 0.024 to 1.56 mg/kg. The specificity, precision, and accuracy of the developed method were confirmed.

Conclusion. The fluorescence polarization immunoassay (FPIA) method was applied for the quantitative determination of the pesticide acetochlor in herbal medicinal raw material, using corn silk as an example.

Keywords: herbal medicinal raw material, pesticides, acetochlor, fluorescence polarization immunoassay, FPIA

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

Contribution of the authors. Maria A. Pashkova – development and optimization of the method, conducting experimental work using the FPIA method, writing the manuscript. Svetlana M. Filimonova – development and optimization of the method, statistical processing of the results, writing the manuscript. Diao Zicheng – conducting experimental work using the FPIA method. Yuri V. Medvedev, Sofya V. Kareeva – development of the method and conducting experimental work using the HPLC-UV method. Liliya I. Mukhametova, Sergey A. Eremin, Galina V. Ramenskaya – experimental planning, discussion of results, editing the manuscript.

Funding. This work was supported by M. V. Lomonosov Moscow State University (Project No. 121041500039-8).

For citation: Pashkova M. A., Zicheng D., Mukhametova L. I., Eremin S. A., Medvedev Yu. V., Kareeva S. V., Ramenskaya G. V., Filimonova S. M. Application of fluorescence polarization immunoassay for acetochlor determination in medicinal plant material. *Drug development & registration*. 2026;15(3):170–179. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2328

Received: 30.03.2026
Revised: 16.06.2026
Accepted: 21.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важных задач контроля качества лекарственного растительного сырья является определение содержания пестицидов. Несмотря на требования надлежащей практики культивирования, сбора и обработки сырья растительного происхождения[1], запрещающие применение химикатов, включая пестициды, при выращивании лекарственных растений, эти меры не всегда полностью предотвращают попадание пестицидов в сырье. В частности, лекарственное растительное сырье кукурузы столбиков с рыльцами представляет собой побочный продукт сельскохозяйственного производства, где контроль применения пестицидов может быть затруднен. Кроме того, остаточные количества пестицидов, присутствующие в почве и в водоемах, воду из которых используют при поливе, способны аккумулироваться в растениях.

Ацетохлор, относящийся к группе хлорацетамидов (рисунок 1), – один из наиболее распространенных гербицидов, используемых в агротехнике кукурузы, сои, подсолнечника и других сельскохозяйственных культур, что обусловлено его высокой эффективностью в подавлении сорной растительности и экономической целесообразностью. Данное соединение применяется преимущественно на этапе довсходовой обработки почвы, обеспечивая ингибирование прорастания семян сорных видов. Однако ацетохлор, обладающий высокой сорбционной способностью по отношению к почвенным компонентам [1], демонстрирует тенденцию к накапливанию в грунте. Помимо этого, ацетохлор является водорастворимым соединением и благодаря своей стабильности может обнаруживаться в водоемах. Эти факторы создают риск миграции пестицида в ткани сельскохозяйственных культур. Данный фактор обуславливает потенциальную контаминацию лекарственного растительного сырья остаточными количествами гербицида.

Содержание ацетохлора в пищевых продуктах нормируется СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания»[2], согласно которому максимально допустимый уровень в бобах сои, семенах подсолнечника, зерне и масле рапса составляет 0,04 мг/кг, в зерне кукурузы – 0,03 мг/кг, в масле подсолнечника – 0,02 мг/кг.

Согласно действующей классификации, ацетохлор относится к III классу опасности для теплокровных организмов, включая человека. Тем не менее в научной литературе обсуждаются данные, указывающие на возможную канцерогенную, гепатотоксическую, нефротоксическую активность данного соединения [2], что доказывает необходимость контроля содержания ацетохлора в лекарственном растительном сырье.

Количественное определение ацетохлора осуществляется с применением хроматографических и иммуноферментных методов анализа. Наибольшее распространение для контроля содержания данного пестицида получили методы хроматографии: газожидкостная и высокоэффективная жидкостная хроматография. Анализ пестицидов в растительной матрице хроматографическими методами рекомендован XV Государственной фармакопей Российской Федерации (ГФ РФ)[3].

Для количественного определения ацетохлора разработан ряд подходов, основанных на сверхэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (СВЭЖХ-МС/МС) [3], ультра-высокоэффективной жидкостной хроматографии (УВЭЖХ) [4] и газовой хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ГХ-МС) [5]. Хроматографические методы характеризуются высокой чувствительностью и селективностью, однако при анализе растительных матриц требуют многостадийной пробоподготовки для удаления экстрактивных веществ. Помимо этого, данные методы предполагают использование дорогостоящего оборудования и требуют привлечения квалифицированного персонала.

Для анализа ацетохлора в различных матрицах были разработаны иммунные методы, которые не уступают по селективности и чувствительности хроматографическим, в то же время характеризуются более низкой стоимостью анализа. Иммуноферментный анализ (ИФА) применяли для определения содержания пестицида в речной воде [6] и кукурузе [7]. Иммунохроматографический метод (ИХА) использовали для контроля содержания ацетохлора в растительном масле [8]. Был также предложен метод поляризационно-флуоресцентного иммуноанализа для анализа ацетохлора в речной воде [9], однако

[1] Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 26 января 2016 года № 15 «Об утверждении Правил надлежащей практики выращивания, сбора, обработки и хранения исходного сырья растительного происхождения». Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_291919/aa0cc7a9c6c5363a2a94199780f5d7f1f6082c96/ Ссылка активна на 12.02.2026.

[2] СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». От 29.01.2021. Доступно по: https://www.rospotrebnadzor.ru/files/news/GN_sreda%20_obitaniya_compressed.pdf Ссылка активна на 30.03.2026.

[3] ОФС.1.5.3.0011 «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Государственная фармакопея РФ XV издания. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/opredelenie-soderzhaniya-ostatochnykh-pestitsidov-v-lekarstvennom-rastitelnom-syre-i-lekarstvennykh-/ Ссылка активна на 12.02.2026.

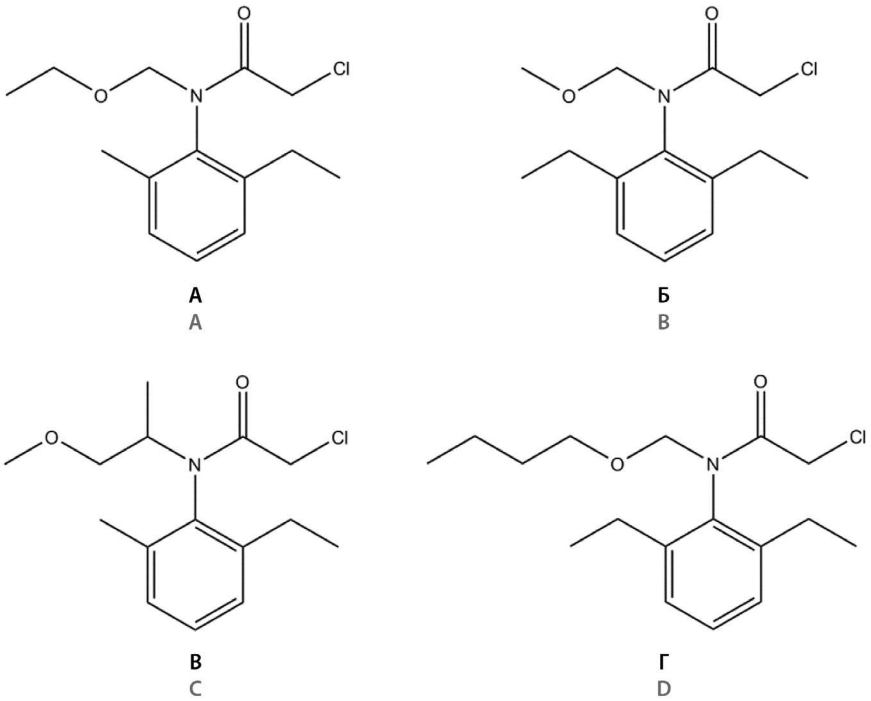


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Структурные формулы хлорацетамидных гербицидов:
А – ацетохлора; Б – алахлора; В – метолахлора; Г – бутахлора

Figure 1. Chemical structures of chloroacetamide herbicides:
A – acetochlor; B – alachlor; C – metolachlor; D – butachlor

об использовании данного метода для контроля качества лекарственного растительного сырья еще не сообщалось.

Сравнительная характеристика рассмотренных методик представлена в таблице 1.

Поляризационный флуоресцентный иммуноанализ (ПФИА) представляет собой гомогенный иммунохимический метод, предназначенный для определения низкомолекулярных соединений, таких как пестициды, антибиотики, биологически активные вещества. Данная методика находит применение в ряде областей, включая экологический мониторинг (контроль воды и почвы) [13], анализ пищевых продуктов [14] и токсикологический контроль [15]. Также был описан подход к количественному определению активной фармацевтической субстанции лизоцима в дозированной лекарственной форме с применением метода поляризации флуоресценции [16].

Принцип метода основан на измерении поляризации флуоресценции конъюгата «аналит – флуорофор» (трейсера). При возбуждении проб плоскополяризованным светом испускаемое флуоресцентное излучение регистрируется через анализатор поляризации. Разность между интенсивностями параллельной ($I_{\parallel}$) и перпендикулярной ($I_{\perp}$) компонент флуоресценции, отнесенная к их сумме, представляет безразмерную величину поляризации флуоресценции (P), которую удобно выражать в тысячных долях (mP).

$$\text{mP} = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + I_{\perp}} \cdot 1000. \quad (1)$$

При связывании трейсера со специфическими антителами происходит увеличение аналитического сигнала вследствие снижения молекулярной ротации. В присутствии свободного аналита конкуренция за центры связывания приводит к уменьшению поляризации флуоресценции пропорционально концентрации определяемого вещества. Калибровочная зависимость имеет сигмоидальный характер в полулогарифмических координатах. В качестве флуоресцентной метки преимущественно используется флуоресцеин.

Помимо общих преимуществ иммунохимических методов (экспрессность, высокая пропускная способность, отсутствие необходимости в сложной пробоподготовке и дорогостоящем оборудовании), метод ПФИА характеризуется высокой специфичностью и чувствительностью, а также простотой выполнения анализа.

Таблица 1. Статистические параметры методик определения ацетохлора в различных объектах

Table 1. Statistical parameters of methods for the determination of acetochlor in different matrices

№	Метод Method	Объект исследования Object of study	Предел обнаружения Limit of detection	Предел количественного определения Limit of quantification	Диапазон линейности Linear range	Ссылка Reference
1	ВЭЖХ HPLC	Сертифицированный стандарт ацетохлора Certified acetochlor standard	26,96–31,25 мкг/л 26.96–31.25 μg/L	1 мкг/л 1 μg/L	1–100 мкг/л 1–100 μg/L	[10]
2	ГХ-МС GC-MS	Солома кукурузы и сои Maize and soybean straw	0,07 нг/г 0.07 ng/g	0,1 нг/г 0.1 ng/g	0,1–5 нг/г 0.1–5 ng/g	[5]
3	ГХ-МС с твердофазным экстрагированием с использованием адсорбента MIL-101 GC-MS coupled with solid-phase extraction using the MIL-101 adsorbent	Образцы почвы с пшеничного, соевого, кукурузного полей Soil taken from the wheat, corn and soybean field	0,25 мкг/кг 0.25 μg/kg	0,75 мкг/кг 0.75 μg/kg	0,75–1 мкг/кг 0.75–1 μg/kg	[11]
4	СВЭЖХ-МС/МС UPLC-MS/MS	Соевые бобы, солома Soybeans, straw	0,01 мг/кг 0.01 mg/kg	0,01 мг/кг 0.01 mg/kg	0,01–1 мг/кг 0.01–1 mg/kg	[3]
5	УВЭЖХ-МС/МС UHPLC-MS/MS	Донные отложения и мышцы рисовой рыбы Bottom sediments and muscles of rice fish	0,10–0,50 мкг/кг 0.10–0.50 μg/kg	0,50–1,50 мкг/кг 0.50–1.50 μg/kg	0,50–100 мкг/кг 0.50–100 μg /kg	[4]
6	ИФА ELISA	Речная вода River water	–	0,2 мкг/л 0.2 μg /L	0,2–65 мкг/л 0.2–0.65 μg /L	[6]
7	ПФИА FPIA	Речная вода River water	0,009 мг/л 0.009 mg /L	0,05 мг/л 0.05 mg /L	0,05–5,5 мг/л 0.05–5.5 mg /L	[9]
8	ИФА ELISA	Кукуруза Corn	1,19 нг/мл 1.19 ng/mL	–	–	[7]
9	ИХА LFIA	Сертифицированный стандарт ацетохлора Certified acetochlor standard	3,2 нг/г 3.2 ng/g	1 мкг/г 1 μg/g	1–1000 мкг/г 1–1000 μg/g	[12]
10	ИХА LFIA	Растительное масло Vegetable oil	3,53 нг/г 3.53 ng/g	12,03 нг/г 12.03 ng/g	12,03–2000,00 нг/г 12.03–2000.00 ng/g	[8]
11	ПФИА FPIA	Лекарственное растительное сырье кукурузы столбиков с рыльцами Medicinal plant material of corn silk (*Zea mays* L.)	0,017 мг/кг 0.017 mg/kg	0,024 мг/кг 0.024 mg/kg	0,024–1,56 мг/кг 0.024–1.56 mg/kg	Данное исследование This study

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Целью данной работы была разработка методики количественного определения ацетохлора в лекарственном растительном сырье кукурузы столбиков с рыльцами методом поляризационного флуоресцентного анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для количественного определения ацетохлора использовали поликлональные антитела против ацетохлора (кроличий IgG), описанные в работе Яковле-

вой и соавт. [9], конъюгат производного ацетохлора и этилендиаминфлуоресцеина AMPA-EDF в качестве трейсера [17]. Стандартные образцы ацетохлора, бутахлора, метолахлора были получены от компании (Sigma-Aldrich, США). Все остальные реактивы и растворители имели аналитическую степень чистоты. Поляризационно-флуоресцентный анализ проводили в среде боратного буферного раствора с pH 8,0 при температуре 25 °C.

Для построения калибровочных графиков матричные растворы ацетохлора, бутахлора и метолахлора 25 мг/мл готовили с использованием 96%-го этанола в качестве растворителя. Серию рабочих растворов стандартов с концентрациями 0; 0,01; 0,1; 0,2; 0,4; 0,5; 1; 10 и 100 мкг/мл получали путем последовательного разбавления матричного раствора 10%-м этанолом.

Измерения методом поляризации флуоресценции выполняли на портативном флуориметре Sentry-200 (Ellie LLC, США) в боросиликатных пробирках размером 10×75 мм. Прибор оснащен светодиодным источником возбуждения и фотоумножительным детектором ($\lambda_{ex} = 485$ нм, $\lambda_{em} = 535$ нм). Обработку полученных данных проводили с использованием программного пакета SigmaPlot 11 (Systat Software Inc., США).

Оптимизация методики количественного определения ацетохлора методом конкурентного связывания

Оптимизацию условий проведения ПФИА для количественного определения ацетохлора проводили в несколько этапов. На первом этапе устанавливали оптимальную концентрацию трейсера, обеспечивающую десятикратное превышение флуоресцентного сигнала над фоном при конечной концентрации 5 нМ в боратном буфере (pH 8.5). На втором этапе определяли рабочее разведение антисыворотки, составившее 1:800, при котором достигалось оптимальное связывание с трейсером.

Процедуру анализа стандартизировали следующим образом: в аналитические пробирки вносили 50 мкл стандартных растворов ацетохлора (0–100 мкг/мл) и 500 мкл рабочего раствора трейсера. После минутной инкубации добавляли 500 мкл рабочего раствора антител и регистрировали величину флуоресцентной поляризации. Данный протокол обеспечивал воспроизводимое определение ацетохлора в исследованном диапазоне концентраций.

Для установления оптимального времени анализа и оценки стабильности аналитического сигнала измерения проводили в следующие временные точки: 1, 5, 10, 15, 30, 60 и 120 мин. Построение калибровочной зависимости выполняли на основе трехкратного анализа стандартных растворов в каждой временной точке. В результате эксперимента были получены полулогарифмические нормализованные зависимости параметра mP/mP_{max} от содержания ацетохлора (мкг) в анализируемой пробе. Обработку калибровочных кривых проводили методом аппроксимации с использованием четырехпараметрической сигмоидальной ло-гистической функции вида:

$$mP = mP_0 + \frac{mP_{max} - mP_0}{1 + \left(\frac{[\text{Ацетохлор}]}{IC_{50}}\right)^{\text{наклон хилла}}}, \quad (2)$$

где mP – значение поляризации флуоресценции, mP_0 – значение поляризации свободного трейсера, mP_{max} – значение поляризации флуоресценции комплекса антитела с трейсером без добавления анализируемого раствора ацетохлора, IC_{50} – концентрация ацетохлора в анализируемом растворе, которая вызывает уменьшение показателя ΔmP на 50 %.

Анализ образцов сырья

В качестве образцов для исследования использовали лекарственное растительное сырье кукурузы столбиков с рыльцами. Два образца были приобретены в местной аптеке (образцы 1 и 2), а также сырье, являющееся биологически активной добавкой к пище (образец 3), было приобретено в общедоступном интернет-магазине.

Пробоподготовка

К точной навеске 1,0 г растительного сырья кукурузы столбиков с рыльцами добавляли 15 мл воды и экстрагировали в течение 15 мин. Экстракт фильтровали и проводили двухкратную жидко-жидкостную экстракцию ацетохлора 2 мл гексана. Гексановые фазы объединяли и выпаривали при температуре 65 °C. Остаток растворяли в 60 мкл 10%-го этанола и 50 мкл анализировали методом ПФИА. Все измерения проводили трехкратно.

Анализ образцов методом ВЭЖХ-УФ

Для подтверждения результатов количественного определения, полученных методом ПФИА, был проведен анализ образцов методом ВЭЖХ-УФ.

Количественное определение ацетохлора проводили на системе Agilent 1290, оснащенной диодно-матричным детектором. Использовали колонку Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 ($150 \times 4{,}6$ мм, 2,7 мкм). Элюирование проводили в изократическом режиме смесью 25 мМ дигидрофосфата натрия (pH 2,5) и ацетонитрила (30:70, об./об.) при скорости потока 0,7 мл/мин и температуре колонки 50 °C. Объем вводимой пробы составлял 10 мкл. Детектирование вели на длине волны 205 нм. Обработку хроматограмм выполняли в программе Agilent ChemStation (Agilent Technologies, США).

Пробоподготовку выполняли по аналогии с процедурой, использованной для анализа методом ПФИА. Сухой остаток растворяли 300 мкл ацетонитрила. Процесс экстракции интенсифицировали последовательным перемешиванием на вихревом шейкере MX-E (5 мин) и ультразвуковой обработкой (5 мин) с последующим повторным перемешиванием. Для очистки экстракта проводили центрифугирование при 13200g в течение 10 мин при 20 °C (центрифуга ROTINA 380 R, Hettich, Германия). Надосадочную жидкость отбирали для хроматографического анализа. В каждой серии измерений параллельно анализировали три повторности образца, чистый растворитель (контроль) и стандартный раствор ацетохлора с концентрацией 0,01 мкг/мл.

Валидация методики

Чувствительность и аналитический диапазон. Предел обнаружения устанавливали как IC_{10} – минимальную концентрацию аналита, вызывающую 10 % снижение аналитического сигнала. Аналитический диапазон определяли как интервал концентраций, соответствующий 20–80 % от максимального сигнала.

Специфичность метода оценивали по перекрестной реактивности со структурно близкими ацетанилидными пестицидами – бутахлором и метолахлором. Кросс-реактивность определяли на уровне IC_{10} согласно формуле:

$$CR(\%) = \frac{IC_{10}(\text{ацетохлора})}{IC_{10}(\text{кросс}-\text{реактанта})} \cdot 100\ \%,$$

где IC_{10} ацетохлора и кросс-реактантов – концентрация ацетохлора и кросс-реактантов: бутахлора или метолахлора, вызывающая снижение аналитического сигнала на 10 % за счет вытеснения трейсера из комплекса с антителами.

Прецизионность характеризовали величиной относительного стандартного отклонения (RSD, %), полученной при шестикратном анализе стандартных растворов ацетохлора с концентрациями 0,1 и 1 мкг/мл.

Правильность методики оценивали методом «введено – найдено» с использованием образцов сырья кукурузы столбиков с рыльцами. Для эксперимента отбирали навески массой 1 г каждая, на которые наносили стандартный раствор ацетохлора для достижения уровней загрязнения 0,03 и 0,4 мкг/г. После суточной выдержки при комнатной температуре проводили анализ образцов по вышеописанной методике. Количественное определение ацетохлора выполняли с использованием предварительно построенного калибровочного графика. Восстановление аналита из матрицы образца рассчитывали как отношение определенной концентрации к внесенной, выраженное в процентах. Каждый анализ проводили трижды.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимизация методики ПФИА

На рисунке 2 представлены полулогарифмические зависимости поляризации флуоресценции (mP) от содержания ацетохлора в анализируемой пробе, полученные во временны́х точках 1, 30, 60 и 120 мин. Наблюдалось увеличение аналитического сигнала в течение первых 30 мин инкубации с последующей стабилизацией показателей в течение последующих 90 мин. На основании полученных кинетических данных для проведения анализа была выбрана временна́я точка 30 мин, соответствующая завершению формирования аналитического сигнала и обеспечивающая стабильность измерений.

Калибровочная зависимость была построена с учетом всех оптимизированных параметров анализа с использованием калибровочных растворов ацетохлора в диапазоне концентраций 0–100 мкг/мл. На рисунке 3 представлена нормализованная полулогарифмическая зависимость mP/mP_{max} от концентрации аналита, характеризующая аналитические возможности методики.

Анализ образцов растительного сырья методом ПФИА

Согласно требованиям общей фармакопейной статьи ОФС.1.5.3.0011.15 «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» ГФ РФ XV, регламентированная методика пробоподготовки лекарственного растительного сырья включает стадию экстракции органическими растворителями с последующей многостадийной очисткой, направленной на удаление мешающих биологически активных соединений. Однако данный подход характеризуется трудоемкостью и длительностью выполнения. При разработке методики пробоподготовки для определения пестицида ацетохлора методом ПФИА требуется учитывать как специфику аналитического метода, так и физико-химические свойства целевого аналита, что обуславливает необходимость модификации стандартного протокола.

Экстракцию ацетохлора проводили водой очищенной вместо органических растворителей, поскольку было установлено, что гексановые и спиртовые извлечения из сырья демонстрируют завышенные значения аналитического сигнала. Данное явление, вероятно, обусловлено кросс-реактивностью сопутствующих биологически активных соединений, извлекаемых органическими растворителями. Учитывая растворимость ацетохлора в воде, составляющую 233 мг/мл, экстракционная способность воды очищенной в отношении целевого пестицида соответствует физико-химическим свойствам аналита. Кроме того, выбор воды в качестве экстрагента соот-

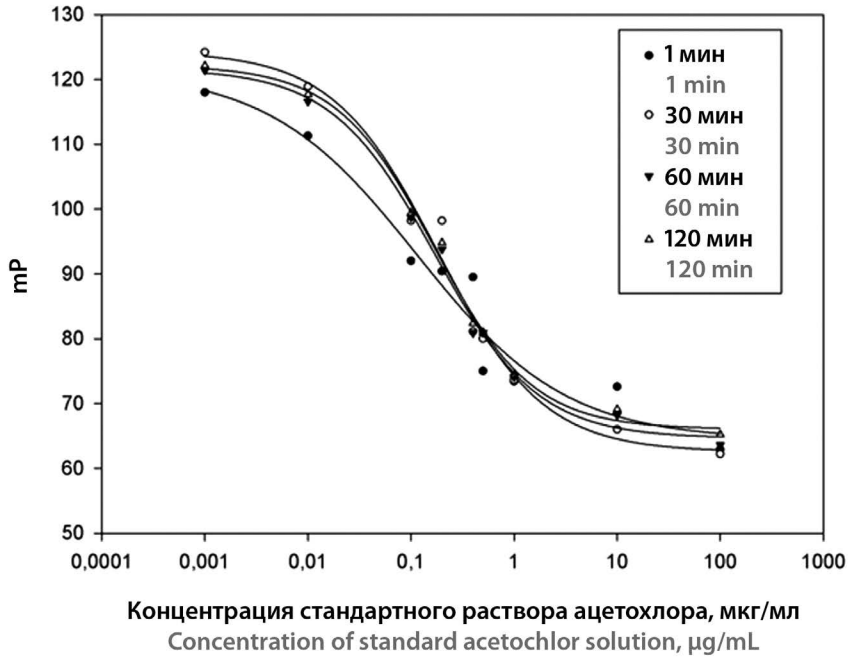


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Графики зависимости поляризации флуоресценции от концентрации ацетохлора в различных временных точках (*n* = 3, pH = 8,5, 25 °C)

Figure 2. Dependence of fluorescence polarization on acetochlor concentration at various time points (*n* = 3, pH = 8.5, 25 °C)

ветствует традиционному способу применения данного лекарственного сырья – приготовлению водного отвара.

После стадии экстрагирования водой проводили жидко-жидкостную экстракцию гексаном с целью концентрирования извлеченного аналита.

Для оценки эффективности стадии жидко-жидкостной экстракции к 15 мл воды очищенной добавляли 50 мкл раствора стандарта ацетохлора (1 мкг/мл) и проводили двухкратную экстракцию гексаном. Объединенные гексановые фракции упаривали при 65 °C и сухой остаток растворяли в 60 мкл 10%-го этанола с последующим анализом содержания ацетохлора. Выход экстракции аналита из водного раствора составил 96,9 ± 0,2 % (*n* = 3).

Проведенный анализ образцов показал наличие следовых концентраций ацетохлора во всех исследованных пробах сырья. В образцах 1 и 2 содержание ацетохлора находилось в интервале между пределом обнаружения и пределом количественного определения, в образце 3 содержание ацетохлора было ниже предела обнаружения. Таким образом, невозможно было установить точную концентрацию ацетохлора в исследуемом сырье в соответствии с валидированной методикой.

Анализ образцов методом ВЭЖХ-УФ

При анализе образцов был обнаружен хроматографический пик со временем удерживания ~4,8 мин, совпадающий с пиком стандарта ацетохлора (общее время анализа – 7 мин). Это подтверждает наличие данного пестицида во всех исследуемых пробах. Однако количественное определение ацетохлора данным методом оказалось невозможным, поскольку его содержание находилось ниже предела количественного определения методики.

Валидация методики

Валидация методики показала следующие аналитические характеристики: предел обнаружения составил 0,014 мкг/мл, что обеспечивает детектирование ацетохлора в растительном сырье на уровне от 0,017 мг/кг; предел количественного определения – 0,02 мкг/мл; диапазон количественного определения – от 0,02 до 1,3 мкг/мл, соответствующий содержанию ацетохлора в растительной матрице от 0,024 до 1,56 мг/кг. Значение IC_{50} составило 0,2 мкг/мл. Полученные параметры демонстрируют высокую чувствительность разработанной методики для мониторинга остаточных количеств ацетохлора в объектах растительного происхождения.

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Нормализованный график зависимости значения поляризации флуоресценции от концентрации ацетохлора (*n* = 3, pH = 8,5; 25 °C)

Figure 3. Normalized fluorescence polarization curve as a function of acetochlor concentration (*n* = 3, pH = 8.5; 25 °C)

Перекрестная реактивность с родственными ацетанилидными пестицидами (бутахлор, метолахлор) исследовалась в диапазоне концентраций 1–1000 нг/мл. Поскольку для метолахлора значение IC_{50} достигнуто не было, расчет перекрестной реактивности проводили с использованием величины IC_{10}. Для бутахлора значение кросс-реактивности составило 3,56 %, для метолахлора – 3,45 %, что подтверждает специфичность разработанной методики к ацетохлору.

Таблица 2. Анализ образцов сырья кукурузы столбиков с рыльцами с добавкой ацетохлора

Table 2. Determination of acetochlor in spiked corn silk samples

№ анализа Assay No.	Введено, мг/кг Spiked, mg/kg	Найдено, мг/кг (*n* = 3) Found, mg/kg (*n* = 3)	Процент открытия, % Recovery, %
1	0,03	0,0302 ± 0,0009	100,7
2	0,40	0,4020 ± 0,0050	100,5

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Проведенная оценка прецизионности показала, что значения относительного стандартного отклонения (RSD) при шестикратном анализе стандартных растворов ацетохлора составили 1,4 % при концентрации 0,1 мкг/мл и 7,6 % при концентрации 1 мкг/мл. Полученные значения RSD не превышают 8 %, что соответствует критериям приемлемости для валидации аналитических методик и подтверждает удовлетворительную прецизионность разработанного метода.

Правильность методики подтверждена методом «введено – найдено». Результаты анализа образцов с добавками ацетохлора представлены в таблице 2. Процент извлечения аналита составил 100,09–102,56 %, что соответствует установленным критериям правильности для валидируемой методики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная методика количественного определения ацетохлора методом ПФИА была использована для анализа примеси пестицида ацетохлора в лекарственном растительном сырье кукурузы столбиков с рыльцами. Методика пробоподготовки была оптимизирована с учетом специфики метода. Во всех трех анализируемых образцах была обнаружена примесь ацетохлора в количествах ниже предельно допустимой концентрации в кукурузе (0,03 мг/кг).

Аналитический диапазон методики – от 0,02 до 1,3 мкг/мл, что позволяет определить присутствие ацетохлора в растительном сырье при его содержании от 0,024 до 1,56 мг/кг.

Отсутствие кросс-реактивности с родственными пестицидами бутахлором и метолахлором доказывает специфичность методики. Отклонение от среднего значения не превышало 8 %, что подтверждает удовлетворительную прецизионность разработанной методики. Оценена правильность методики анализа лекарственного растительного сырья с добавкой известного количества ацетохлора, составившая 100,7 и 100,5 %.

Таким образом, методика может быть применена для быстрого и недорогого экспресс-анализа примеси ацетохлора в лекарственном растительном сырье кукурузы столбиков с рыльцами.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lengyel Z., Földényi R. Acetochlor as a soil pollutant. *Journal of Soils and Sediments*. 2002;2:155. https://doi.org/10.1007/BF02988468
2. Wang W.-G., Li M.-Y., Diao L., Zhang C., Tao L.-M., Zhou W.-X., Xu W.-P., Zhang Y. The health risk of acetochlor metabolite CMEPA is associated with lipid accumulation induced liver injury. *Environmental Pollution*. 2023;331(2):121857. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121857
3. Hussan H. N. M., He H., Du P., Wu X., Liu X., Xu J., Dong F., Zheng Y. Determination of clomazone and acetochlor residues in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2021;101(15):2503–2509. https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1694668
4. Li L., Yin Y., Zheng G., Liu S., Zhao C., Xie W., Ma L., Shan Q., Dai X., Wei L. Determination of multiclass herbicides in sediments and aquatic products using QuECHERS combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) and its application to risk assessment of rice-fish co-culture system in China. *Microchemical Journal*. 2021;170:106628. https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106628
5. Cara I. G., Topa D., Raus L., Calistru A. E., Filipov F., Jitareanu G. Selective and sensitive quantification of acetochlor and S-metolachlor in maize and soybean plant samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Agriculture*. 2021;11(4):283. https://doi.org/10.3390/agriculture11040283
6. Hegedűs G., Krikunova V., Bélai I., Eremin S., Székács A. An enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) for the detection of acetochlor. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2002;82(11–12):879–891. https://doi.org/10.1080/0306731021000102338
7. Zha Y., Liu X., Hu P., Lu S., Ren H., Liu Z., Liang X., Yang Y., Li Y., Zhou Y. Alkaline phosphatase–triggered immunoassay based on fluorogenic reaction for sensitive detection of acetochlor, metolachlor, and propisochlor. *Food Analytical Methods*. 2020;13(4):1008–1016. https://doi.org/10.1007/s12161-020-01706-6
8. Li Z., Wu Y., Li Z., Yu B., Mao X., Shi G. A lateral flow immunoassay method for the rapid detection of acetochlor and alachlor in vegetable oil by sensitivity enhancement by using dimethyl-β-cyclodextrin. *Analytical Methods*. 2023;15(38):5087–5094. https://doi.org/10.1039/D3AY01379K
9. Yakovleva J. N., Lobanova A. I., Panchenko O. A., Eremin S A. Production of antibodies and development of specific polarization fluoroimmunoassay for acetochlor. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2002;82(11–12):851–863. https://doi.org/10.1080/0306731021000102310
10. Altiparmak E., Yilmaz E., Dadaser-Celik F., Ates N. Sensitive quantification of acetochlor and metolachlor in water using Taguchi-optimized DLLME coupled with high-performance liquid chromatography. *Microchemical Journal*. 2024;200:110499. https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110499
11. Cai Y., Li L., Zhang J., Li Z., Zhang F., Xu Y., Tai Z. Development of a MOF-based SPE method combined with GC–MS for simultaneous determination of alachlor, acetochlor and pretilachlor in field soil. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2023;195(5):569. https://doi.org/10.1007/s10661-023-11147-3
12. Ruan X., Wang Y., Kwon E. Y., Wang L., Cheng N., Niu X., Ding S., Van Wie B. J., Lin Y., Du D. Nanomaterial-enhanced 3D-printed sensor platform for simultaneous detection of atrazine and acetochlor. *Biosensors and Bioelectronics*. 2021;184:113238. https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113238
13. Liu Y., Wang L.-T., Zhou K., Eremin S. A., Huang X.-A., Sun Y.-M., Xu Z.-L., Lei H.-T. Rapid and homologous immunoassay for the detection of herbicide propisochlor in water. *Food and Agricultural Immunology*. 2018;29(1):67–83. https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1359499
14. Mukhametova L. I., Eremin S. A. Fluorescence polarization assays for organic compounds in food safety. *Frontiers in Bioscience-Elite*. 2024;16(1):4. https://doi.org/10.31083/j.fbe1601004
15. Mukhametova L. I., Karimova M. R., Arutiunian D. A., Shanin I. A., Ponomarenko E. E., Eremin S. A. Detection of monobutyl phthalate in urine and environmental water by a rapid and sensitive fluorescence polarization immunoassay. *One Health Advances*. 2025;3(1):9. https://doi.org/10.1186/s44280-025-00074-2
16. Filimonova S. M., Balyklova K. S., Zherdev D. O., Eremin S. A., Mukhametova L. I., Krylov V. B., Nifantiev N. E. A First Case of Fluorescence Polarization Biosensor-Based Assay for Rapid Monitoring of Protein API Content in Tablet Dosage Forms: Detection of Lysozyme in Tablets. *Biosensors*. 2025;15(11):724. https://doi.org/10.3390/bios15110724
17. Deryabina M. A., Yakovleva Yu. N., Popova V. A., Eremin S. A. Determination of the herbicide acetochlor by fluorescence polarization immunoassay. *Journal of Analytical Chemistry*. 2005;60(1):80–85. https://doi.org/10.1007/s10809-005-0063-4

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.072

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2271

Check for updates

CC BY 4.0

Стандартизация жидких водных и водно-спиртовых извлечений из цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.)

А. Д. Дунилин, О. В. Тринеева✉

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

✉ **Контактное лицо:** Тринеева Ольга Валерьевна. **E-mail:** trineevaov@mail.ru

Резюме

Введение. Фитотерапия представляет собой интегративный метод профилактики и лечения заболеваний на основе комплекса биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения. Каштан конский обыкновенный признан ценным источником растительного сырья: его семена используются в доказательной медицине для лечения венозной недостаточности, цветки – в традиционной практике благодаря выраженным сосудотонизирующим, противовоспалительным, антиоксидантным и гиполипидемическим свойствам. Это делает цветки каштана конского перспективным лекарственным растительным сырьем (ЛРС) с многообещающим терапевтическим потенциалом. Жидкие лекарственные формы (ЖЛФ) на основе ЛРС обладают рядом преимуществ, определяющих их востребованность в фармацевтической практике и среди потребителей. В связи с этим одним из актуальных направлений фармации является разработка новых отечественных фитопрепаратов в виде настоев, настоек и жидких экстрактов на основе цветков данного растения с потенциальным венотонизирующим, капилляропротекторным и антиоксидантным действием.

Цель. Целью работы являлось получение и стандартизация опытных лабораторных образцов водных и водно-спиртовых извлечений из цветков каштана конского обыкновенного для последующего обоснования оптимальной жидкой лекарственной формы.

Материалы и методы. Сравнительное исследование водных и водно-спиртовых извлечений из цветков каштана конского, заготовленных в Воронежской области в период цветения 2024 г., проводилось для настоев (1 : 10), настоек (1 : 5) методами мацерации, дробной мацерации и перколяции, а также жидкого экстракта (1 : 1) по методикам Государственной фармакопеи РФ XV (ОФС.1.4.1.0019 «Настойки», ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты», ОФС.1.4.1.0018 «Настои и отвары»). Для полученных лабораторных образцов ЖЛФ разрабатывали методики идентификации и количественного определения флавоноидов и сапонинов, а также веществ-антиокислителей с оценкой их выхода в опытные лабораторные образцы ЖЛФ по отношению к содержанию в исходном сырье, а также стандартизировали по показателям «описание», «сухой остаток», «спирт этиловый», «тяжелые металлы» согласно соответствующим ОФС.

Результаты и обсуждение. Получены опытные лабораторные образцы водных и водно-спиртовых ЖЛФ на основе цветков каштана конского (настой, настойки, экстракт жидкий), проведена их стандартизация по показателям, изложенным в нормативной документации, разработаны методики количественного определения целевых групп БАВ – флавоноидов, сапонинов, антиокислительной активности и суммы антиокислителей в пересчете на аскорбиновую кислоту. Наиболее высокое содержание веществ-антиокислителей, флавоноидов и сапонинов отмечено для экстракта жидкого (1 : 1), что позволяет рекомендовать данную форму в качестве оптимальной из исследованных.

Заключение. Таким образом, цветки каштана конского являются перспективным ЛРС, на основе которого могут быть разработаны эффективные и безопасные отечественные фитопрепараты. В качестве одной из перспективных ЖЛФ из цветков каштана благодаря высокой концентрации БАВ можно рекомендовать жидкий экстракт как самостоятельную лекарственную форму для приема внутрь, а также в составе композиций наружных мягких лекарственных форм, что согласуется с современными тенденциями развития фармацевтического рынка флеботропных препаратов.

Ключевые слова: цветки каштана конского, жидкие лекарственные формы, флавоноиды, сапонины, антиокислительная активность

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

Вклад авторов. А. Д. Дунилин проводил заготовку, пробоподготовку сырья, получил опытные лабораторные образцы водно-спиртовых ЖЛФ, провел их стандартизацию и разработал методики определения целевых групп биологически активных веществ, а также обозначил все рисунки и таблицы, отражающие основные результаты работы. О. В. Тринеева

© Дунилин А. Д., Тринеева О. В., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Dunilin A. D., Trineeva O. V., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

осуществляла научное консультирование по полученным результатам, подготовила разделы «Заключение» и «Результаты и обсуждение». Текст статьи написан совместно.

Для цитирования: Дунилин А. Д., Тринеева О. В. Стандартизация жидких водных и водно-спиртовых извлечений из цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):180–194. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2271

Поступила в редакцию: 14.01.2026
Поступила после рецензирования: 24.02.2026
Принята к публикации: 26.08.2026

Standardization of liquid aqueous and aqueous-alcoholic extracts from *Aesculus hippocastanum* L. flowers

Aleksandr D. Dunilin, Olga V. Trineeva✉

Voronezh State University (VSU). 1, Universitetskaya ploshchad', Voronezh, 394018, Russia

✉ **Corresponding author:** Olga V. Trineeva. **E-mail:** trineevaov@mail.ru

Abstract

Introduction. Phytotherapy represents an integrative method for disease prevention and treatment using complexes of biologically active substances (BAS) of plant origin. *Aesculus hippocastanum* L. is recognized as a valuable source of plant material: its seeds are used in evidence-based medicine for venous insufficiency treatment, while flowers are utilized in traditional practice due to their pronounced venotonic, anti-inflammatory, antioxidant, and hypolipidemic properties. This establishes *Aesculus hippocastanum* L. flowers as promising medicinal plant raw material (MPRM) with substantial therapeutic potential. Liquid dosage forms (LDF) based on MPRM possess multiple advantages ensuring their demand in pharmaceutical practice and among consumers. Accordingly, developing new domestic phytopreparations as infusions, tinctures, and liquid extracts from these flowers with potential venotonic, capillary-protective, and antioxidant effects constitutes a relevant direction in pharmacy.

Aim. To obtain and standardize experimental laboratory samples of aqueous and aqueous-alcoholic extracts from *Aesculus hippocastanum* L. flowers for the subsequent substantiation of the optimal liquid dosage form.

Materials and methods. A comparative study of aqueous and aqueous-alcoholic extracts from *Aesculus hippocastanum* L. harvested in the Voronezh Region during the flowering period of 2024 was conducted for infusions (1 : 10), tinctures (1 : 5) prepared by maceration, fractional maceration, and percolation methods, and liquid extract (1 : 1) according to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XV edition (GPM.1.4.1.0019 «Tinctures», GPM.1.4.1.0021 «Extracts», GPM.1.4.1.0018 «Infusions and decoctions»). For the obtained LDF laboratory samples, identification and quantitative determination methods for flavonoids, saponins, and antioxidants were developed with yield assessment relative to raw material content, alongside standardization by «Description», «Dry residue», «Ethyl alcohol», and «Heavy metals» parameters per relevant GPM requirements.

Results and discussion. Experimental aqueous and hydroalcoholic LDF samples (infusion, tinctures, liquid extract) based on *Aesculus hippocastanum* L. flowers were obtained and standardized according to regulatory documentation requirements. Methods for quantitative determination of target BAS groups – flavonoids, saponins, antioxidant activity, and total antioxidants expressed as ascorbic acid – were developed. The liquid extract (1 : 1) showed the highest content of antioxidants, flavonoids, and saponins, recommending it as the optimal form among those studied.

Conclusion. *Aesculus hippocastanum* L. flowers represent promising MPRM for developing effective and safe domestic phytopreparations. Due to high BAS concentration, liquid extract is recommended as an oral dosage form and component of topical semisolid dosage forms, aligning with current phlebotonic drug market trends.

Keywords: *Aesculus hippocastanum* L. flowers, liquid dosage forms, flavonoids, saponins, antioxidant activity

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

Contribution of the authors. Aleksandr D. Dunilin performed raw material collection and sample preparation, obtained experimental hydroalcoholic LDF laboratory samples, conducted their standardization, developed methods for target bioactive substance group determination, and prepared all figures and tables reflecting main results. Olga V. Trineeva provided scientific consultation on results and authored the «Conclusion» and «Results and discussion» sections. The article text was written collaboratively.

For citation: Dunilin A. D., Trineeva O. V. Standardization of liquid aqueous and aqueous-alcoholic extracts from *Aesculus hippocastanum* L. flowers. *Drug development & registration*. 2026;15(3):180–194. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2271

Received: 14.01.2026
Revised: 24.02.2026
Accepted: 26.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Фитотерапия является неотъемлемой частью жизни человека уже на протяжении многих тысячелетий. В настоящее время фитотерапия сочетает в себе традиционные знания и современные научные методы, представляя собой интегрированный подход к терапии на основе комплекса биологически активных веществ (БАВ), выделяемых из лекарственного растительного сырья (ЛРС). Наиболее эффективно фитотерапия может быть использована для профилактики и лечения патологий желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой, нейроэндокринной, мочевыделительной и репродуктивной систем [1–6]. Одним из перспективных источников ЛРС является каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.), растение рода конский каштан (*Aesculus* L.), семейства конскокаштановых (*Hippocastanaceae* A. Rich.). Естественный ареал произрастания данного растения ограничен территорией Балканского полуострова. Однако благодаря своим декоративным и лекарственным свойствам каштан широко культивируется по всему миру, в том числе на территории Российской Федерации (РФ). На данный момент в официальной медицине в части терапии хронических венозных заболеваний используются семена каштана конского и лекарственные препараты на их основе. Семена растения характеризуются исключительно высоким содержанием БАВ, в первую очередь тритерпеновых сапонинов (не менее 3 % в пересчете на эсцин согласно требованиям ФС.2.5.0117 Государственной фармакопеи (ГФ) РФ)[1] [7–8]. В народной медицине используются и другие части растения, такие как цветки, кора, почки и листья. Согласно данным литературы [9–12], цветки каштана конского содержат широкий спектр БАВ, включая полифенольные соединения, стерины, сапонины, полисахариды и другие компоненты, обладающие флеботропным, капилляропротекторным, гиполипидемическим, противовоспалительным, гепатопротекторным и антиагрегантным эффектом [13–15]. Это делает цветки каштана конского перспективным ЛРС с многообещающим терапевтическим потенциалом.

Жидкие лекарственные формы (ЖЛФ) на основе ЛРС характеризуются целым рядом преимуществ, обусловливающих их высокую востребованность как в фармацевтической практике, так и среди потребителей. К основным достоинствам жидких форм относятся простота получения с использованием стандартных технологических методов, например таких, как настаивание, мацерация или перколяция, легкий способ дозирования и введения в организм, а также их ценовая доступность [6, 16–19]. В связи с этим одним из актуальных направлений фармации является разработка новых отечественных лекарственных растительных препаратов (ЛРП) в виде настоев, настоек и жидких экстрактов на основе цветков данного растения с потенциальным венотонизирующим, капилляропротекторным и антиоксидантным действием.

Цель работы – получение и стандартизация опытных лабораторных образцов водных и водно-спиртовых извлечений из цветков каштана конского обыкновенного для последующего обоснования оптимальной жидкой лекарственной формы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сравнительное исследование проводили для извлечений из высушенных цветков каштана конского, приготовленных по типу настоев (1 : 10), настоек (1 : 5), полученных различными способами (мацерации, дробной мацерации и перколяции), и экстракта жидкого (1 : 1) по стандартным фармакопейным методикам (ОФС.1.4.1.0019 «Настойки» и ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты», «Настои и отвары» ОФС.1.4.1.0018 ГФ РФ XV). В качестве экстрагента при получении настоя использовали воду очищенную, для спиртосодержащих форм использовали спирт этиловый с концентрацией 70 % как наилучший для извлечения целевых групп БАВ – флавоноидов и сапонинов, что было показано нами ранее при разработке методики их количественного определения в изучаемом ЛРС [9, 20]. Все исследуемые извлечения готовили из цветков, заготовленных на территории Воронежской области (51.834028 с.ш., 39.382854 в.д.) в период массового цветения в 2024 году, что соответствовало ранее полученным результатам комплексного фитохимического исследования, где были установлены оптимальные сроки заготовки данного ЛРС [21]. В сырье предварительно определяли содержание суммы флавоноидов, сапонинов и веществ-антиокислителей по ранее разработанным и валидированным спектрофотометрическим методикам [9, 20].

Для соблюдения принципа сквозной стандартизации в полученных опытных образцах водных и водно-спиртовых извлечений (далее ЖЛФ) проводилась разработка методик идентификации и количественного определения основных целевых групп БАВ цветков – флавоноидов и сапонинов. Оценивали переход БАВ в полученные лабораторные образцы ЖЛФ из исходного сырья для обоснования оптимальной ЖЛФ. Помимо этого, проводилась оценка антиокислительной активности в соответствии с известной спектрофотометрической методикой, основанной на взаимодействии извлечения из ЛРС, содержащего БАВ-восстановители, с растворами медиаторной системы, состоящей из растворов ферроцианида и феррицианида калия, взятых в соотношении 1 : 1 [20].

Стандартизацию образцов ЖЛФ дополнительно проводили по показателям «описание», «сухой остаток», «спирт этиловый», «тяжелые металлы» на основании требований соответствующих ОФС. Коэффициент водопоглощения для сырья, составивший 3,1 мл/г, определяли на основании ОФС.1.5.3.0012 «Определе-

[1] Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/ Ссылка активна на: 06.01.2026.

ние коэффициента водопоглощения и расходного коэффициента лекарственного растительного сырья». Также был определен коэффициент спиртопоглощения для цветков каштана конского, равный 2,5 мл/г. Статистическая обработка данных проведена в соответствии с рекомендациями ОФС ГФ РФ XV издания при использовании ПО Microsoft Office Excel.

При разработке методик использовали стандартные образцы (СО) рутина (CAS № 153-18-4; степень чистоты не менее 99 %; срок годности до 10.2027 г.) и β-эсцина (CAS № 6805-41-0; степень частоты не менее 99 %; срок годности до 06.2026 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследуемых лабораторных образцах ЖЛФ проводили количественное определение флавоноидов и сапонинов как целевых групп БАВ, для чего разрабатывались соответствующие методики. Способы определения суммы флавоноидов и сапонинов в опытных образцах ЛФ, согласно принципам сквозной стандартизации, базировались на ранее разработанных и валидированных методиках количественного определения суммы флавоноидов и сапонинов в цветках каштана конского [9]. При разработке методик экспериментально подобраны оптимальные аликвоты исследуемых ЖЛФ, а также последовательность и число их разведений для получения испытуемого раствора.

Методики определения флавоноидов в ЛФ в пересчете на рутин (таблица 1). Для определения суммы флавоноидов в мерную колбу вместимостью Vk_1 мл помещали а мл испытуемой ЖЛФ, объем раствора доводили до метки 95%-м спиртом этиловым и перемешивали (раствор А). Отбирали a_1 мл раствора А в мерную колбу вместимостью Vk_2 мл и добавляли 2,0 мл 2%-го раствора алюминия хлорида в 95%-м спирте этиловом, объем раствора доводили до метки 95%-м спиртом этиловым и перемешивали (раствор Б). Оптическую плотность полученного раствора Б (раствора А в случае определения в настое) измеряли на спектрофотометре через 50 мин после добавления алюминия хлорида в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 407 ± 2 нм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, содержащий такой же объем аликвоты ЖЛФ или ее разведения a_1 (раствора А), доведенного 95%-м спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью Vk_2 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО рутина.

Таблица 1. Условия определения суммы флавоноидов в экспериментальных образцах ЖЛФ

Table 1. Conditions for determining the amount of flavonoids in experimental samples of LDF

Аликвота ЖЛФ (*a*, мл) Liquid dosage form (LDF) aliquot (*a*, mL)	**Vk_1, мл (раствор А)** Vk_1, mL (solution A)	**Аликвота разведения (a_1, мл)** Dilution aliquot (a_1, mL)	**Vk_2, мл (раствор Б)** Vk_2, mL (solution B)	**Расчетная формула** Calculation formula
Настой Infusion				
1	25	–	–	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 100}$
Настойка (метод мацерации) Tincture (maceration method)				
2,5	25	2,5	25	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 1000}$
Настойка (метод дробной мацерации) Tincture (fractional maceration method)				
1	50	–	–	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 50}$
Настойка (метод перколяции) Tincture (percolation method)				
2,5	25	2,5	50	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 20}{A_0 \cdot a}$
Жидкий экстракт Liquid extract				
2,5	25	1,0	50	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 2}$

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Приготовление раствора СО рутина: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1,0 мл 0,05%-го спиртового раствора рутина (0,0500 г растворили в мерной колбе объемом 100 мл), добавляли 2,0 мл 2%-го раствора алюминия хлорида в 95%-м спирте этиловом и доводили объем раствора 95%-м спиртом до метки. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре через 50 мин после добавления алюминия хлорида в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 407 ± 2 нм. Раствор сравнения: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1,0 мл 0,05%-го РСО рутина и доводили объем раствора 95%-м спиртом до метки.

Вид дифференциальных спектров поглощения комплексов алюминия с флавоноидами ЖЛФ на основе цветков каштана конского представлен на рисунке 1. Максимумы поглощения на полученных спектрах совпадали по положению с максимумом поглощения комплекса алюминия хлорида с рутином, что дало основание проводить пересчет общей суммы на данный флавоноид. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (X) в процентах в ЖЛФ вычисляли по формулам (таблица 1), где A – оптическая плотность исследуемого раствора после взаимодействия с $AlCl_3$; A_0 – оптическая плотность раствора СО рутина после взаимодействия с $AlCl_3$; a – аликвота ЖЛФ, взятая на анализ, мл; a_0 – масса СО рутина, г; P – содержание основного вещества в СО рутина, %. Результаты определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в лабораторных образцах водно-спиртовых ЖЛФ представлены в таблице 3.

На следующем этапе исследования была разработана методика количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин в полученных лабораторных образцах ЖЛФ на основе цветков каштана конского. В соответствии с принципами сквозной стандартизации за основу была взята ранее разработанная и валидированная методика количественной оценки суммы сапонинов в данном растительном сырье.

Методики определения суммы сапонинов в ЖЛФ в пересчете на β-эсцин. Для определения суммы сапонинов а мл ЛФ (таблица 2) помещали в выпарительную чашку и упаривали на кипящей водяной бане досуха. Затем сухой остаток дважды обрабатывали хлороформом по 5 мл. Объединенный хлороформный раствор упаривали на водяной бане при температуре не выше 80 °С, остаток высушивали и к полученному сухому остатку добавляли 5 мл кислоты серной концентрированной (Vk_1), перемешивали и термостатировали при температуре 70 °С 30 мин, полученный раствор охлаждали (раствор А). Объем a_1 мл раство-

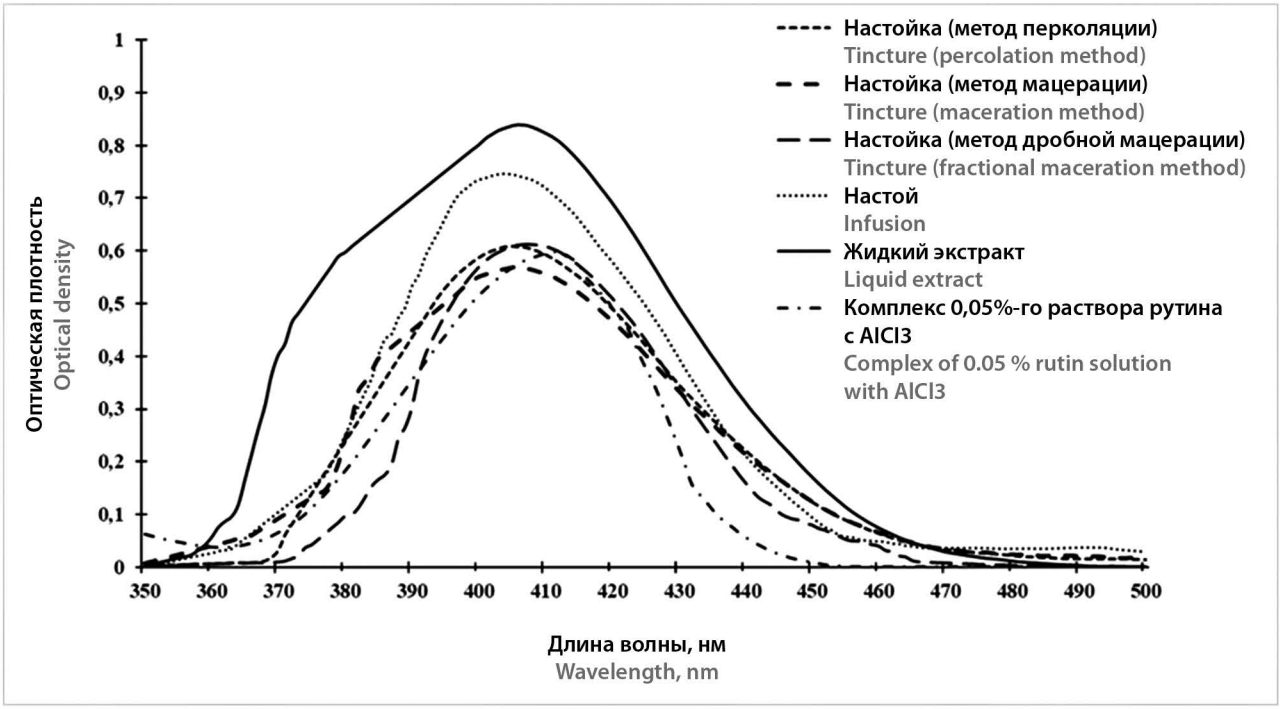


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Дифференциальные спектры поглощения комплексов алюминия с флавоноидами жидких лекарственных форм на основе цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.)

Figure 1. Differential absorption spectra of aluminum complexes with flavonoids of liquid dosage forms based on *Aesculus hippocastanum* L. flowers

Таблица 2. Условия определения суммы сапонинов в экспериментальных образцах ЖЛФ

Table 2. Conditions for determining the amount of saponins in experimental samples of LDF

Аликвота ЖЛФ (*a*, мл) LDF Aliquot (*a*, mL)	**Vk_1, мл (раствор А)** Vk_1, mL (solution A)	**Аликвота разведения (a_1, мл)** Dilution aliquot (a_1, mL)	**Vk_2, мл (раствор Б)** Vk_2, mL (solution B)	**Аликвота разведения (a_2, мл)** Dilution aliquot (a_2, mL)	**Vk_3, мл (раствор В)** Vk_3, mL (solution C)	**Расчётная формула** Calculation formula
Настой Infusion						
1	5	0,5	10	0,5	5	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 100}$
Настойка (метод мацерации) Tincture (maceration method)						
0,5	5	0,5	10	0,5	5	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 100}$
Настойка (метод дробной мацерации) Tincture (fractional maceration method)						
0,5	5	0,5	10	1,0	5	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 200}$
Настойка (метод перколяции) Tincture (percolation method)						
0,5	5	0,5	10	0,5	5	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 100}$
Жидкий экстракт Liquid extract						
0,5	5	0,5	10	0,5	10	$X,\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot 50}$

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ра А доводили мерной пипеткой до общего объема 10 мл кислотой серной концентрированной (Vk_2, раствор Б). Затем a_2 мл раствора Б доводили мерной пипеткой до общего объема Vk_3 мл кислотой серной концентрированной (Vk_3, раствор В). Оптическую плотность полученного окрашенного раствора измеряли на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 322 ± 3 нм. Раствором сравнения выступала кислота серная концентрированная.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО β-эсцина, приготовленного в аналогичных условиях: 1,0 мл раствора А доводили до общего объема 10 мл кислотой серной концентрированной, перемешивали и термостатировали при температуре 70 °С 30 мин, полученный раствор охлаждали (раствор Б). Далее к 1,0 мл раствора Б добавляли количественно мерной пипеткой кислоту серную концентрированную, доводили до общего объема 10 мл и перемешивали (раствор В). Затем 1 мл раствора В разводили кислотой серной концентрированной в соотношении 1:10 (раствор Г). Раствор использовали свежеприготовленным. Вид спектров поглощения продуктов взаимодействия кислоты серной концентрированной с сапонинами лабораторных образцов ЖЛФ на основе цветков каштана конского представлен на рисунке 2.

Приготовление раствора СО β-эсцина: около 0,05 г (точная навеска) СО β-эсцина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50 мл спирта этилового 95%-го, перемешивали и доводили объем раствора спиртом до метки (раствор А). Срок годности раствора – 1 мес.

Содержание суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин (X) в процентах в ЖЛФ вычисляли по формулам (таблица 2), где A – оптическая плотность испытуемого раствора В; A_0 – оптическая плотность стандартного образца (раствор Г); a – аликвота ЖЛФ, взятая на анализ, мл; a_0 – масса стандартного образца, г. Результаты количественного определения суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин в лабораторных образцах жидких ЛФ представлены в таблице 3.

Одним из потенциальных видов фармакологической активности ввиду значительного содержания в изучаемом сырье соединений фенольной природы

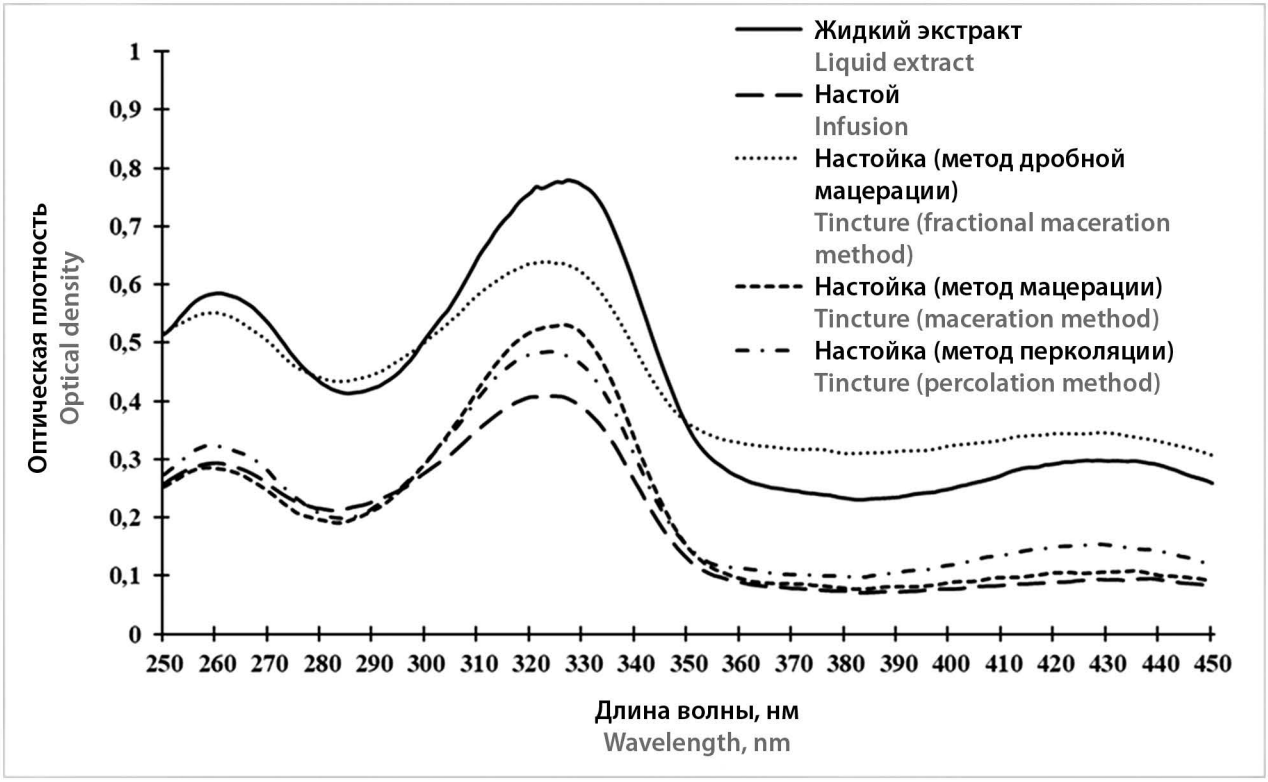


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Спектры поглощения продуктов взаимодействия кислоты серной концентрированной с сапонинами лабораторных образцов жидких лекарственных форм на основе цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.)

Figure 2. Absorption spectra of products of interaction of concentrated sulfuric acid with saponins of laboratory samples of liquid dosage forms based on *Aesculus hippocastanum* L. flowers

(флавоноидов [9] и лейкоантоцианов) может являться антиокислительная активность (АОА). Оценку АОА проводили в соответствии с известной спектрофотометрической методикой [20], основанной на взаимодействии извлечения из ЛРС, содержащего БАВ-восстановители, с растворами медиаторной системы, состоящей из растворов ферроцианида и феррицианида калия, взятых в соотношении 1:1. Под действием БАВ, способных восстанавливать Fe^{3+} в Fe^{2+}, происходит снижение содержания в растворе $[Fe(CN)_6]^{3-}$ и рост концентрации $[Fe(CN)_6]^{4-}$, что сопровождается гипохромным смещением максимума поглощения при длине волны 420 нм на спектре поглощения медиаторной пары. Результаты представлены в таблице 3.

Однако у используемой методики имелись ограничения по используемому растворителю. В спиртовых растворах медиаторная пара выпадала в осадок, поэтому было принято решение разбавлять спиртосодержащие ЖЛФ в соотношении 1:25. Таким образом, при помощи уравнения градуировочной зависимости (рисунок 3) вычисляли АОА спиртосодержащих ЖЛФ в пересчете на кислоту аскорбиновую в г/мл раствора по формулам в зависимости от областей концентрации аскорбиновой кислоты:

$$AOA \cdot 10^{-5},\ \frac{г}{мл} = \frac{(1{,}022 - A) \cdot 25}{0{,}1887 \cdot 1},$$

$$AOA \cdot 10^{-5},\ \frac{г}{мл} = \frac{(0{,}9076 - A) \cdot 25}{0{,}0654},$$

где A – оптическая плотность исследуемого раствора в максимуме поглощения.

Вид спектров поглощения ЖЛФ на основе цветков каштана конского в присутствии медиаторной пары $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ представлен на рисунке 4.

Суммарное содержание БАВ-антиокислителей в спиртосодержащих ЖЛФ в пересчете на кислоту аскорбиновую вычисляли по формуле:

$$\Sigma AO, \% = \frac{AOA \cdot 25 \cdot 100}{1},$$

где AOA – вычисленное ранее значение.

Таблица 3. Результаты определения БАВ в полученных водно-спиртовых ЖЛФ на основе цветков каштана конского

Table 3. The results of the determination of BAS in the obtained water-alcohol LDF based on horse chestnut flowers

БАВ/ЖЛФ BAS/LDF	Настой Infusion	Настойка (дробная мацерация) Tincture (fractional maceration)	Настойка (мацерация) Tincture (maceration)	Настойка (перколяция) Tincture (percolation)	Жидкий экстракт Liquid extract
Сумма флавоноидов, % Sum of flavonoids, %	0,062 ± 0,002	0,105 ± 0,003	0,335 ± 0,011	0,402 ± 0,013	1,395 ± 0,045
Сумма сапонинов, % Sum of saponins, %	0,070 ± 0,001	0,090 ± 0,001	0,160 ± 0,002	0,140 ± 0,002	0,460 ± 0,006
Антиокислительная активность, $\times10^{-5}$, г/мл Antioxidant activity, $\times10^{-5}$, g/mL	2,352 ± 0,186	11,828 ± 0,684	13,408 ± 3,661	10,939 ± 0,682	32,196 ± 10,244
Сумма антиокислителей в пересчете на аскорбиновую кислоту, % Sum of antioxidants in terms of ascorbic acid, %	0,012 ± 0,001	0,296 ± 0,017	0,335 ± 0,092	0,274 ± 0,017	0,805 ± 0,256

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

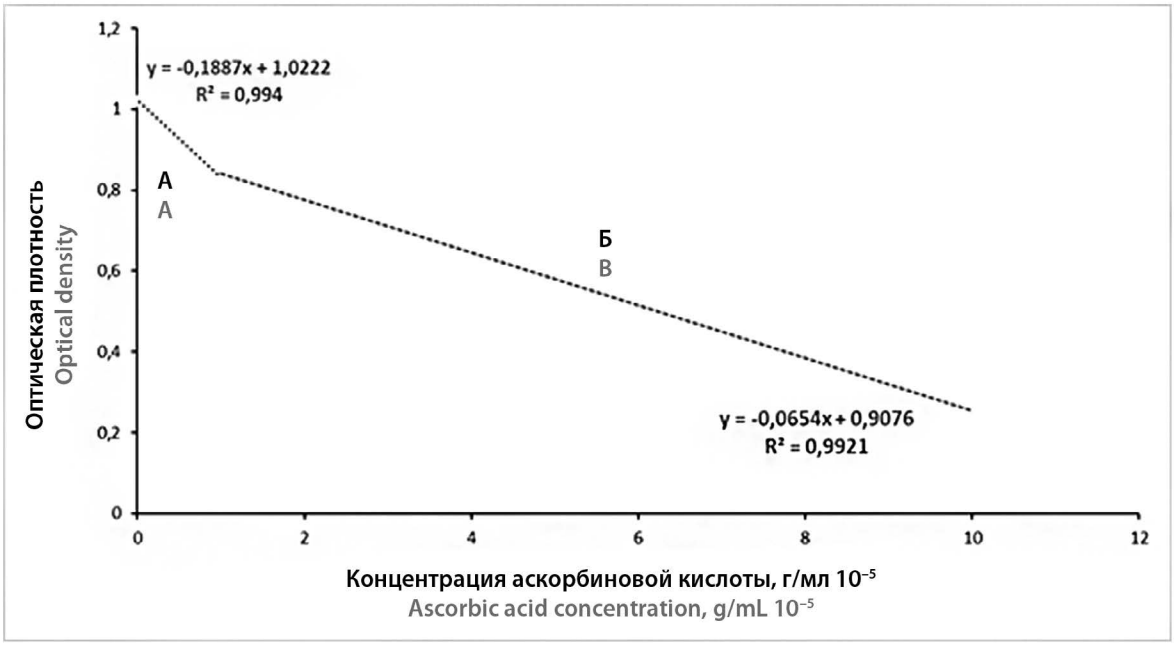


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Градуировочные графики:

А – область концентрации аскорбиновой кислоты от 0,01 до 1 г/мл, $\times10^{-5}$; Б – область концентрации аскорбиновой кислоты от 1 до 10 г/мл, $\times10^{-5}$

Figure 3. Calibration graphs:

A – ascorbic acid concentration range from 0.01 to 1 g/mL, $\times10^{-5}$; B – ascorbic acid concentration range from 1 to 10 g/mL, $\times10^{-5}$

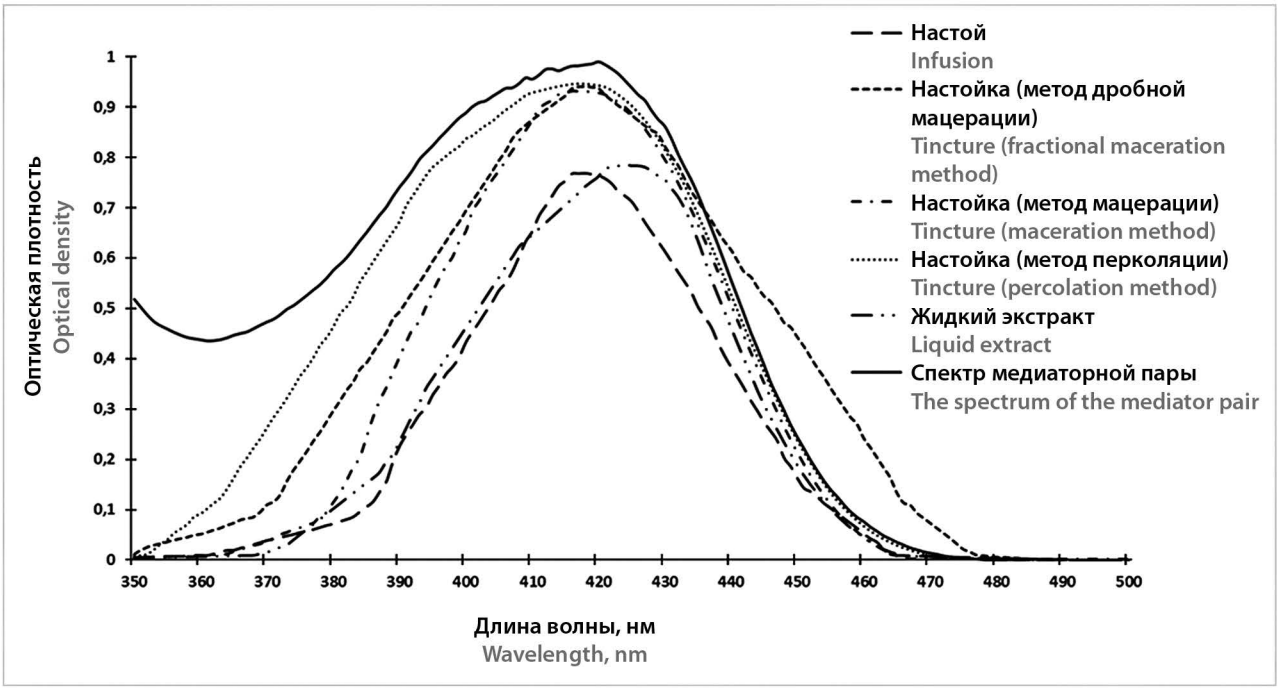


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Спектр поглощения жидких лекарственных форм на основе цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) в присутствии медиаторной пары $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$

Figure 4. Absorption spectrum of liquid dosage forms based on *Aesculus hippocastanum* L. flowers in the presence of the mediator pair $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$

Антиокислительную активность настоя в пересчете на кислоту аскорбиновую в г/мл раствора вычисляли по формуле:

$$AOA \cdot 10^{-5}, \ \frac{\text{г}}{\text{мл}} = \frac{0{,}9076 - A}{0{,}0654},$$

Суммарное содержание БАВ-антиокислителей в настое в пересчете на кислоту аскорбиновую и абсолютно сухое сырье вычисляли по формуле:

$$\Sigma AO, \% = \frac{AOA \cdot 100 \cdot 100}{20}.$$

Результаты стандартизации изучаемых ЖЛФ приведены в таблице 4. Анализ фармакопейных показателей качества ЖЛФ на основе цветков каштана выявил более высокие значения сухого остатка и плотности у жидкого экстракта, что также косвенно может свидетельствовать о лучшем переходе БАВ в данную ЛФ. Однако выход БАВ для других ЛФ также высок.

Содержание тяжелых металлов не превышало допустимых нормативной документацией (НД) показателей.

Таким образом, полученные данные демонстрируют, что способ получения, а также используемый экстрагент существенно влияют на извлечение БАВ в ЖЛФ. По результатам эксперимента настой цветков каштана конского обладает наименьшими числовыми показателями по содержанию сумм флавоноидов и сапонинов, проявляя меньшую АОА, по сравнению с водно-спиртовыми ЖЛФ из-за ограниченной экстрагирующей способности воды.

Среди настоек по содержанию суммы антиокислителей (АО) в пересчете на аскорбиновую кислоту лидируют настойки, полученные методом мацерации и перколяции (в пределах ошибки определения), однако настойка, полученная методом мацерации, уступает по содержанию суммы флавоноидов настойке, полученной методом перколяции, что позволяет предположить, что с помощью данного метода, помимо флавоноидов, лучше извлекаются другие группы БАВ, также проявляющие АОА. Высокая АОА жидкого экстракта может быть связана со значительным содержанием в нем не только флавоноидов, но и других АО (лейкоантоцианов, фенолокислот и т. д.).

Таблица 4. **Показатели качества ЖЛФ на основе цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.)**

Table 4. **Quality indicators of LDF based on *Aesculus hippocastanum* L. flowers**

Показатель качества Quality indicator	**Настой** Infusion	**Настойка (дробная мацерация)** Tincture (fractional maceration)	**Настойка (мацерация)** Tincture (maceration)	**Настойка (перколяция)** Tincture (percolation)	**Жидкий экстракт** Liquid extract
Описание Description	Жидкость светло-коричневого цвета, мутная, запах специфичный, сладковатый Light brown, turbid liquid with a characteristic sweetish odor	Жидкость желто-коричневого цвета, прозрачная, осадок отсутствует, запах специфичный, сладковатый Yellow-brown, transparent liquid without sediment; characteristic sweetish odor	Жидкость коричневого цвета, прозрачная, осадок отсутствует, запах специфичный, сладковатый Brown, transparent liquid without sediment; characteristic sweetish odor	Жидкость темно-коричневого цвета, прозрачная, возможно присутствие осадка, запах специфичный, сладковатый Dark brown, transparent liquid; a slight sediment may be present; characteristic sweetish odor	Жидкость насыщенного темно-коричневого цвета, непрозрачная, возможно присутствие осадка, выраженный специфичный сладковатый запах Deep dark brown, opaque liquid; a sediment may be present; pronounced characteristic sweetish odor
pH	6,01	–	–	–	–
Плотность, г/мл Density, g/mL	–	0,897	0,896	0,895	0,991
Тяжелые металлы, % Heavy metals, %	–	≤0,001			≤0,01
Сухой остаток, % Dry residue, %	0,135 ± 0,001	0,104 ± 0,0003	0,173 ± 0,002	0,155 ± 0,0004	0,939 ± 0,004
Содержание спирта, % Alcohol content, %	–	68,06 %	66,58 %	68,06 %	65,08 %

Таблица предоставлена авторами

The table was provided by the authors

Таблица 5. **Материальный баланс по флавоноидам/сапонинам для полученных образцов ЖЛФ**

Table 5. **Material balance of flavonoids/saponins for the obtained LDF samples**

Взято ЛРС, г Medicinal plant raw material (MPRM) taken, g	**Содержание флавоноидов/сапонинов в ЛРС, г** Content of flavonoids/saponins in MPRM, g	**Получено ЛФ, мл** Obtained dosage form (DF), mL	**Содержание флавоноидов/сапонинов в ЛФ, г** Content of flavonoids/saponins in DF, g	**Эффективность экстракции** Extraction efficiency	
				флавоноидов flavonoids	**сапонинов** saponins
Настой (1 : 10) Infusion (1 : 10)					
5,0	0,148/0,068	50	0,031/0,035	Выход (степень использования ЛРС), % Output (degree of MPRM usage), %	
Всего Total	0,148/0,068	Потери Losses Всего Total	0,116/0,033 0,148/0,068	21,15	51,47
				Расходный коэффициент Consumption coefficient	
				4,61	1,94
				Остаточное содержание БАВ в ЛРС, % Residual content of BAS in MPRM, %	
				78,85	48,53
Настойка (1 : 5), метод дробной мацерации Tincture (1 : 5), fractional maceration method					
20,0	0,590/0,272	100	0,105/0,009	Выход (степень использования ЛРС), % Output (degree of MPRM usage), %	
Всего Total	0,590/0,272	Потери Losses Всего Total	0,485/0,182 0,590/0,272	17,83	33,09
				Расходный коэффициент Consumption coefficient	
				5,78	3,02
				Остаточное содержание БАВ в ЛРС, % Residual content of BAS in MPRM, %	
				82,14	66,91
Настойка (1 : 5), метод мацерации Tincture (1 : 5), maceration method					
10,0	0,295/0,136	50	0,1674/0,080	Выход (степень использования ЛРС), % Output (degree of MPRM usage), %	
Всего Total	0,295/,136	Потери Losses Всего Total	0,128/0,056 0,295/0,136	56,73	58,82
				Расходный коэффициент Consumption coefficient	
				1,76	1,70
				Остаточное содержание БАВ в ЛРС, % Residual content of BAS in MPRM, %	
				43,2	41,18
Настойка (1 : 5), метод перколяции Tincture (1 : 5), percolation method					
10,0	0,295/0,136	50	0,2009/0,07	Выход (степень использования ЛРС), % Output (degree of MPRM usage), %	
Всего Total	0,295/0,136	Потери Losses Всего Total	0,094/0,066 0,295/0,136	68,10	51,47
				Расходный коэффициент Consumption coefficient	
				1,47	1,94
				Остаточное содержание БАВ в ЛРС, % Residual content of BAS in MPRM, %	
				31,9	48,53
Жидкий экстракт (1 : 1) Liquid extract (1 : 1)					
50,0	1,475/0,680	50	0,697/0,230	Выход (степень использования ЛРС), % Output (degree of MPRM usage), %	

Окончание таблицы 5

Взято ЛРС, г Medicinal plant raw material (MPRM) taken, g	**Содержание флавоноидов/ сапонинов в ЛРС, г** Content of flavonoids/ saponins in MPRM, g	**Получено ЛФ, мл** Obtained dosage form (DF), mL	**Содержание флавоноидов/ сапонинов в ЛФ, г** Content of flavonoids/ saponins in DF, g	**Эффективность экстракции** Extraction efficiency	
				флавоноидов flavonoids	**сапонинов** saponins
Всего Total	1,475/0,680	Потери Losses	0,778/0,450	47,27	33,82
		Всего Total	1,475/0,680	Расходный коэффициент Consumption coefficient	
				2,12	2,96
				Остаточное содержание БАВ в ЛРС, % Residual content of BAS in MPRM, %	
				57,73	66,18

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Минимальное количество сапонинов отмечено в настое (0,070 ± 0,001 %), тогда как при переходе к настойкам, полученным методами мацерации и перколяции, содержание возрастает практически в 2 раза (до (0,140–0,160 ± 0,002 %). Настойка, полученная дробной мацерацией (0,090 ± 0,001 %), лишь немного превосходит настой, что указывает на ограниченную эффективность данного варианта и экстрагента по сравнению с классической мацерацией и перколяцией. Наиболее высоким уровнем сапонинов характеризуется жидкий экстракт (0,460 ± 0,006 %), что значительно превосходит все остальные изучаемые ЖЛФ и позволяет отнести его к формам с максимальным содержанием сапонинов.

В результате проведенного исследования полученных образцов ЖЛФ на основе цветков каштана конского можно заключить, что жидкий экстракт характеризуется наиболее высоким содержанием БАВ (сухой остаток, сумма флавоноидов и сапонинов). Жидкий экстракт также показал сравнительно высокие показатели АОА и содержания БАВ восстановительного характера (таблица 3). Это может объясняться тем, что жидкий экстракт получают при более длительном времени экстракции с дополнительным концентрированием второй части экстракта, что способствует более полному переходу БАВ из растительного сырья.

На дальнейшем этапе работы был рассчитан материальный баланс по флавоноидам и сапонинам для полученных лабораторных образцов ЖЛФ на основе цветков каштана конского. Результаты представлены в таблице 5.

Исходя из рассчитанных параметров, можно сделать вывод, что одной из оптимальных ЖЛФ для изучаемого ЛРС с точки зрения выхода сапонинов является настойка (1 : 5), изготовленная методом мацерации. В сравнении с остальными изучаемыми ЛФ для нее были характерны наибольшая эффективность экстракции целевой группы БАВ (58,82 %) и минимальные потери (остаток 41,18 %). Настойка (1 : 5), полученная по методу перколяции, также показывает хорошие результаты с выходом 51,47 % и расходным коэффициентом 1,94. Эта же водно-спиртовая ЖЛФ показала большую эффективность экстракции флавоноидов и меньшие их потери.

Жидкий экстракт (1 : 1) также является предпочтительной ЖЛФ благодаря максимальной концентрации сапонинов, флавоноидов и наибольшему абсолютному их выходу (0,23 г и 0,70 г в 50 мл соответственно). Несмотря на больший расход ЛРС, оптимизация процесса экстракции при масштабировании и внедрении в заводское производство может позволить поднять процентный выход целевых групп БАВ.

Согласно проведенным исследованиям оценки содержания в жидком экстракте флавоноидов и сапонинов могут быть рекомендованы следующие режимы дозирования данной ЖЛФ (таблица 6). Для расчета использовали рекомендуемые для взрослых величины суточного потребления рутина для восполнения адекватного уровня, а также рекомендации по дозированию суммы тритерпеновых сапонинов в пересчете на β-эсцин, изложенные в инструкции по медицинскому применению ЛРП «Эскузан»[1]. Суммарный режим дозирования разработанного жидкого экстракта может составлять 2–3 мл жидкого экстракта 3 раза в день.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены опытные лабораторные образцы водно-спиртовых ЖЛФ на основе цветков каштана конского (настой, настойки, экстракт жидкий), проведена их стандартизация по показателям, изложенным в нормативной документации, разработаны методики количественного определения целевых групп БАВ – флавоноидов, сапонинов, антиокислительной актив-

[1] Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=c1cdab38-a0a4-4b3b-be19-1672330b2635 Ссылка активна на: 06.01.2026.

Таблица 6. Рекомендации по режиму дозирования жидкого экстракта цветков каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.)

Table 6. Recommendations on the dosage regimen of liquid extract of *Aesculus hippocastanum* L. flowers

Показатель Indicator	Содержание, мг/мл Content, mg/mL	Рекомендуемый норматив для включения в НД, мг/мл Recommended standard for inclusion in the regulatory documentation, mg/ml	Суточная потребность / рекомендуемая доза Daily requirement / recommended dose	Режим дозирования Dosage regimen
Флавоноиды (в пересчете на рутин) Flavonoids (in terms of rutin)	13,95 ± 0,45	Не менее 10 At least 10	30–100 мг 30–100 mg	От 5 мл жидкого экстракта (прием по 1 чайной ложке 1 раз в день) From 5 mL of liquid extract (taking 1 teaspoon once a day)
Сапонины (в пересчете на β-эсцин) Saponins (in terms of β-escin)	4,60 ± 0,06	Не менее 4 At least 4	10 мг 3 раза в день 10 mg 3 times a day	2–3 мл жидкого экстракта (3 раза в день) 2–3 mL of liquid extract (3 times a day)

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ности и суммы антиокислителей в пересчете на аскорбиновую кислоту. Наиболее высокое содержание веществ-антиокислителей, флавоноидов и сапонинов отмечено для экстракта жидкого (1 : 1), что позволяет рекомендовать данную форму в качестве оптимальной из исследованных.

Таким образом, цветки каштана конского являются перспективным ЛРС, на основе которого могут быть разработаны эффективные и безопасные отечественные ЛРП. В качестве одной из перспективных ЖЛФ из цветков каштана благодаря высокой концентрации БАВ можно рекомендовать жидкий экстракт как самостоятельную лекарственную форму для приема внутрь, а также в составе композиций наружных мягких лекарственных форм, что согласуется с современными тенденциями развития фармацевтического рынка флеботропных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ферубко Е. В., Трумпе Т. Е., Курманова Е. Н., Колхир В. К., Сидельникова Г. Ф., Громакова А. И. Использование фитопрепаратов ФГБНУ ВИЛАР в медицине. *Вопросы биологической, медицинской и фармакологической химии*. 2016;6(19):11–15.
2. Brendler T., Brinckmann J. A., Daoust M., He H., Masé G., Steffan K., Williams M. Suitability of botanical extracts as components of complex mixtures used in herbal tea infusions-challenges and opportunities. *Frontiers in pharmacology*. 2022;13:1013340. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1013340
3. Petrovska B. B. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*. 2012;6(11):1–5. https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849
4. Pan S.-Y., Litscher G., Gao S.-H., Zhou S.-F., Yu Z.-L., Chen H.-Q., Zhang S.-F., Tang M.-K., Sun J.-N., Ko K.-M. Historical perspective of traditional indigenous medical practices: the current renaissance and conservation of herbal resources. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014;2014:525340. https://doi.org/10.1155/2014/525340
5. Goldman P. Herbal medicines today and the roots of modern pharmacology. *Annals of Internal Medicine*. 2001;135(8):594–600. https://doi.org/10.7326/0003-4819-135-8_part_1-200110160-00010
6. Salm S., Rutz J., van den Akker M., Blaheta R. A., Bachmeier B. E. Current state of research on the clinical benefits of herbal medicines for non-life-threatening ailments. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1234701. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1234701
7. Savarino P., Colson E., André J., Gerbaux P. Horse Chestnut Saponins-Escins, Isoescins, Transescins, and Desacylescins. *Molecules*. 2023;28(5):2087. https://doi.org/10.3390/molecules28052087
8. Owczarek A., Kołodziejczyk-Czepas J., Marczuk P., Siwek J., Wąsowicz K., Olszewska M. A. Bioactivity Potential of *Aesculus hippocastanum* L. Flower: Phytochemical Profile, Antiradical Capacity and Protective Effects on Human Plasma Components under Oxidative/Nitrative Stress In Vitro. *Pharmaceuticals*. 2021;14(12):1301. https://doi.org/10.3390/ph14121301
9. Дунилин А. Д., Тринеева О. В., Ковалева Т. Ю. Разработка и валидация методики определения флавоноидов в цветках каштана конского различных регионов произрастания. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2024;23(3):224–234. https://doi.org/10.37903/vsgma.2024.3.28
10. Дунилин А. Д., Тринеева О. В., Платонова Е. А., Магеррамова Э. М. Содержание фитостеринов в цветках каштана конского и перспективы разработки препаратов

на их основе. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2025;1:131–139.
11. Дунилин А. Д., Тринеева О. В. Вариабельность состава амино- и органических кислот цветков каштана конского обыкновенного. *Биофармацевтический журнал*. 2024;16(3):39–43. https://doi.org/10.30906/2073-8099-2024-16-3-39-43
12. Дунилин А. Д., Тринеева О. В., Деева А. Р. Фитохимическое исследование цветков каштана конского различных регионов произрастания. *Прикладные информационные аспекты медицины*. 2024;27(1):116–122.
13. Дунилин А. Д., Чистякова А. С., Гудкова А. А. Оценка возможных видов активности β-эсцина методом компьютерного моделирования. В сб.: Сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств». 31 марта – 02 апреля 2022 г. Воронеж: Воронежский государственный университет; 2022. С. 185–190.
14. Idris S., Mishra A., Khushtar, M. Phytochemical, ethanomedicinal and pharmacological applications of escin from *Aesculus hippocastanum* L. towards future medicine. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2020;31(5):20190115. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0115
15. Каюмов Х. Н., Халимова Ф. Т., Кароматов И. Д. Перспективное лекарственное растение каштан конский. *Биология и интегративная медицина*. 2025;4(76):463–488. https://doi.org/10.24412/cl-34438-2025-476-463-488
16. Дунилин А. Д., Чистякова А. С., Куролап М. С., Евсиков Ф. Д. Маркетинговые исследования лекарственных растительных препаратов на основе семян каштана конского обыкновенного, представленных в аптечном ассортименте на фармацевтическом рынке города Воронежа. *The Scientific Heritage*. 2021;79:15–17. https://doi.org/10.24412/9215-0365-2021-79-1-15-17
17. Abubakar A. R., Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
18. Azwanida N. N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2015;4(3):1000196.
19. Zhang Q.-W., Lin L.-G., Ye W.-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*. 2018;13:20. https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x
20. Дунилин А. Д., Тринеева О. В., Ларина А. О., Давыдов И. В. Исследование антиокислительной активности цветков каштана конского различных регионов произрастания методом дифференциальной спектрофотометрии. *Прикладные информационные аспекты медицины*. 2025;28(1):109–118.
21. Дунилин А. Д., Тринеева О. В., Воронин А. А. Особенности заготовки растительного сырья каштана конского обыкновенного цветков в условиях Ботанического сада имени профессора Б. М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета. *Гербариум*. 2025;2(4):9–16. https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-4-47

REFERENCES

1. Ferubko E. V., Trumpe T. E., Kurmanova E. N., Kolkhir V. K., Sidel'nikova G. F., Gromakova A. I. Human use of FGBNU VILAR phytopreparations. *Problems of biological, medical and pharmaceutical Chemistry*. 2016;6(19):11–15. (In Russ.)
2. Brendler T., Brinckmann J. A., Daoust M., He H., Masé G., Steffan K., Williams M. Suitability of botanical extracts as components of complex mixtures used in herbal tea infusions-challenges and opportunities. *Frontiers in pharmacology*. 2022;13:1013340. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1013340
3. Petrovska B. B. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*. 2012;6(11):1–5. https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849
4. Pan S.-Y., Litscher G., Gao S.-H., Zhou S.-F., Yu Z.-L., Chen H.-Q., Zhang S.-F., Tang M.-K., Sun J.-N., Ko K.-M. Historical perspective of traditional indigenous medical practices: the current renaissance and conservation of herbal resources. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014;2014:525340. https://doi.org/10.1155/2014/525340
5. Goldman P. Herbal medicines today and the roots of modern pharmacology. *Annals of Internal Medicine*. 2001;135(8):594–600. https://doi.org/10.7326/0003-4819-135-8_part_1-200110160-00010
6. Salm S., Rutz J., van den Akker M., Blaheta R. A., Bachmeier B. E. Current state of research on the clinical benefits of herbal medicines for non-life-threatening ailments. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1234701. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1234701
7. Savarino P., Colson E., André J., Gerbaux P. Horse Chestnut Saponins-Escins, Isoescins, Transescins, and Desacylescins. *Molecules*. 2023;28(5):2087. https://doi.org/10.3390/molecules28052087
8. Owczarek A., Kołodziejczyk-Czepas J., Marczuk P., Siwek J., Wąsowicz K., Olszewska M. A. Bioactivity Potential of *Aesculus hippocastanum* L. Flower: Phytochemical Profile, Antiradical Capacity and Protective Effects on Human Plasma Components under Oxidative/Nitrative Stress In Vitro. *Pharmaceuticals*. 2021;14(12):1301. https://doi.org/10.3390/ph14121301
9. Dunilin A. D., Trineeva O. V., Kovaleva T. Yu. Development and validation of a methodology for the determination of flavonoids in horse chestnut flowers of various growing regions. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2024;23(3):224–234. (In Russ.) https://doi.org/10.37903/vsgma.2024.3.28
10. Dunilin A. D., Trineeva O. V., Platonova E. A., Magerramova E. M. The content of phytosterols in horse chestnut flowers and prospects for the development of drugs based on them. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2025;1:131–139.
11. Dunilin A. D., Trineeva O. V. Variability in the composition of amino and organic acids of horse chestnut flowers. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2024;16(3):39–43. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/2073-8099-2024-16-3-39-43
12. Dunilin A. D., Trineeva O. V., Deeva A. R. Phytochemical study of horse chestnut flowers from different growing regions. *Applied Information Aspects of Medicine*. 2024;27(1):116–122. (In Russ.)

13. Dunilin A. D., Chistyakova A. S., Gudkova A. A. Evaluation of possible types of beta-escin activity by computer modeling. In: Proceedings of the 8th International Scientific and Methodological Conference "Ways and forms of improving pharmaceutical education. Current issues of development and research of new medicines". March 31 – April 02, 2022 Voronezh: Voronezh State University; 2022. P. 185–190. (In Russ.)
14. Idris S., Mishra A., Khushtar, M. Phytochemical, ethanomedicinal and pharmacological applications of escin from *Aesculus hippocastanum* L. towards future medicine. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2020;31(5):20190115. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0115
15. Kayumov Kh. N., Khalimova F. T., Karomatov I. D. Promising medicinal plant horse chestnut. *Biology and integrative medicine*. 2025;4(76):463–488. (In Russ.) https://doi.org/10.24412/cl-34438-2025-476-463-488
16. Dunilin A. D., Chistyakova A. S., Kurolap M. S., Evsikov F. D. Marketing research of herbal drugs based on horse chestnut seeds, presented in the pharmacy assortment at the pharmaceutical market of the city Voronezh. *The Scientific Heritage*. 2021;79:15–17. (In Russ.) https://doi.org/10.24412/9215-0365-2021-79-1-15-17
17. Abubakar A. R., Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
18. Azwanida N. N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2015;4(3):1000196.
19. Zhang Q.-W., Lin L.-G., Ye W.-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*. 2018;13:20. https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x
20. Dunilin A. D., Trineeva O. V., Larina A. O., Davydov I. V. Investigation of the antioxidant activity of horse chestnut flowers in various growing regions by differential spectrophotometry. *Applied and It Research In Medicine*. 2025;28(1):109–118. (In Russ.)
21. Dunilin A. D., Trineeva O. V., Voronin A. A. Features of harvesting plant raw materials of horse chestnut flowers in the conditions of the Botanical Garden named after Professor Boris M. Kozo-Polyansky Voronezh state university. *Herbarium*. 2025;2(4):9–16. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-4-47

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.074; 615.322

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2237

Check for updates

CC BY 4.0

Изучение биологически активных веществ в траве Бакопа Монье (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием

О. С. Лаврова✉, Д. О. Боков, И. В. Гравель

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:** Лаврова Ольга Сергеевна. **E-mail:** Lavrowitz@yandex.ru

Резюме

Введение. *Bacopa monnieri* (брахми) – аюрведическое лекарственное растение с выраженным ноотропным и нейропротекторным действием. Терапевтическое действие препаратов на его основе связывают главным образом с содержанием тритерпеновых сапонинов, однако другие компоненты, в том числе фенольные соединения, вносят вклад в комплексный эффект. Несмотря на долгую историю применения в медицине, работы об изучении разнообразия биологически активных веществ (БАВ) *B. monnieri* немногочисленны.

Цель. Анализ компонентного состава биологически активных веществ травы *Bacopa monnieri*, извлекаемых спиртом этиловым 80%-м методом УЭЖХ-МС.

Материалы и методы. Объектом исследования была трава *B. monnieri*, (г. Хасан, Индия). Извлечение (1 : 10) получали трехкратной экстракцией спиртом этиловым 80%-м. Изучение качественного состава полученного извлечения проводили методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (УЭЖХ-МС) на хроматографе Waters Acquity с диодно-матричным УФ-детектором и МС-детектором TQD (Waters Corporation, США) при условиях: колонка Acquity UPLC BEH C18 (0,21 × 15,0 см, 1,7 мкм), градиентный режим элюирования (ПФА – смесь воды и ацетонитрила (95 : 5) с 0,1%-й муравьиной кислотой, ПФБ – ацетонитрил с 0,1%-й муравьиной кислотой), температура колонки 35 °С, скорость потока 0,25 мл/мин, УФ-детектирование при 220–500 нм, масс-спектрометрия в режимах регистрации позитивных и негативных ионов.

Результаты и обсуждение. В 80%-м этанольном извлечении из травы *B. monnieri* обнаружено 14 фенольных соединений, из которых 7 идентифицировано (гидроксикоричные кислоты и их гликозиды: кофейной кислоты 4-О-глюкуронид, моньеразид III, платанозид B, 1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-ферулоил-D-глюкозид; флавоноиды: кверцетин-3-глюкуронид, лютеолин-7-глюкуронид, апигенин-7-глюкуронид). Прицельный поиск сапонинов с выбранной массой иона 455 обнаружил 12 соединений, 6 из них идентифицированы: бакозид A3, бакопазиды II и VII, бакомосапонины A и B, бакопасапонин C.

Заключение. Методом УЭЖХ-МС изучен компонентный состав 80%-го этанольного извлечения травы *B. monnieri*. В сырье этого вида впервые идентифицированы лютеолин-7-глюкуронид, кверцетин-7-глюкуронид, кофейной кислоты 4-О-глюкуронид и 1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-ферулоил-D-глюкозид.

Ключевые слова: трава, *Bacopa monnieri*, УЭЖХ-МС, качественный анализ

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

Вклад авторов. И. В. Гравель – планирование эксперимента, сбор и сушка сырья. О. С. Лаврова – литературный анализ, изготовление спиртового извлечения. Д. О. Боков – проведение экспериментальных исследований. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

Для цитирования: Лаврова О. С., Боков Д. О., Гравель И. В. Изучение биологически активных веществ в траве Бакопа Монье (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):195–206. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2237

© Лаврова О. С., Боков Д. О., Гравель И. В., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Lavrova O. S., Bokov D. O., Gravel I. V., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Поступила в редакцию: 25.11.2026
Поступила после рецензирования: 10.03.2026
Принята к публикации: 26.08.2026

Study of biologically active substances in *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. herb (aerial parts) by ultra-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection

Olga S. Lavrova✉, **Dmitry O. Bokov**, **Irina V. Gravel**

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

✉ **Corresponding author:** Olga S. Lavrova. **E-mail:** Lavrowitz@yandex.ru

Abstract

Introduction. *Bacopa monnieri* (Brahmi) is an Ayurvedic medicinal plant with pronounced nootropic and neuroprotective properties. The therapeutic effect of preparations based on it is mainly associated with the content of triterpene saponins, but other components, including phenolic compounds, contribute to the overall effect. Despite the long history of medicinal use, there are few studies of the diversity of biologically active substances (BASs) of *B. monnieri*.

Aim. Analysis of the component composition of biologically active substances of *Bacopa monnieri* herb (aerial parts) extracted with 80 % ethyl alcohol using ultra-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection (UPLC-MS).

Materials and methods. The study subject was *B. monnieri* herb (Hassan, India). A 1 : 10 extract was obtained by threefold extraction with 80 % ethyl alcohol. The qualitative composition of the obtained extract was studied by UPLC-MS on a Waters Acquity chromatograph with a diode-array UV detector and a TQD MS detector (Waters Corporation, USA) under the following conditions: Acquity UPLC BEH C18 column (0.21 × 15.0 cm, 1.7 μm), gradient elution mode (solvent A – water-acetonitrile mixture (95 : 5) with 0.1 % formic acid, solvent B – acetonitrile with 0.1 % formic acid), column temperature 35 °C, flow rate 0.25 mL/min, UV detection at 220–500 nm, mass spectrometry in the positive and negative ion registration modes.

Results and discussion. In 80 % ethanol extract of *B. monnieri* herb, 14 phenolic compounds were detected, of which 7 were identified (hydroxycinnamic acids and their glycosides: caffeic acid 4-O-glucuronide, monnieraside III, plantainoside B, 1-(3,4-dihydroxyphenethyl)-2-feruloyl-D-glucoside, flavonoids: quercetin-3-glucuronide, luteolin-7-glucuronide, apigenin-7-glucuronide). Targeted search for saponins at 455 selected ion mass detected 12 compounds and identified 6 of them: bacoside A3, bacopasides II and VII, bacomosaponins A and B, bacopasaponin C.

Conclusion. The composition of an 80 % ethanol extract of *B. monnieri* was studied using UPLC-MS. Luteolin-7-glucuronide, quercetin-7-glucuronide, caffeic acid 4-O-glucuronide and 1-(3,4-dihydroxyphenethyl)-2-feruloyl-D-glucoside were identified for the first time in the raw material of this species.

Keywords: aerial parts, *Bacopa monnieri*, UPLC-MS, qualitative analysis

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

Contribution of the authors. Irina V. Gravel planned the experiment, collected and dried the raw materials. Olga S. Lavrova performed literary analysis and prepared the alcohol extract. Dmitry O. Bokov conducted the experimental studies. All the authors contributed to the manuscript and the discussion of the results.

For citation: Lavrova O. S., Bokov D. O., Gravel I. V. Study of biologically active substances in (*Bacopa monnieri* (L.) Wettst.) herb (aerial parts) by ultra-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection. *Drug development & registration*. 2026;15(3):195–206. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2237

Received: 25.11.2026
Revised: 10.03.2026
Accepted: 26.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Бакопа Монье (*Bacopa monnieri*) – травянистое растение из семейства подорожниковых (*Plantaginaceae*), используемое в традиционной медицине и известное в аюрведе под названием «брахми» [1]. Сырье и препараты на его основе обладают выраженным ноотропным, нейропротекторным, антиоксидантным и противовоспалительным действием [2]; они включены в Индийскую, Британскую фармакопеи, Аюрведическую фармакопею Индии [3–5].

Трава *B. monnieri* имеет богатый химический состав. Она содержит алкалоиды (брахмин, герпестин, никотин), флавоноиды (апигенин, вогонин, ороксин-

дин, кверцетин, лютеолин), фитостерины (бакостерол, бета-ситостерол, стигмастанол, стигмастерол), тритерпеновые сапонины (азиатикозид, бакозиды A и B, бакопасапонины A–G, бакомосапонины A и B, бакопазиды I–XII), другие тритерпеновые соединения (азиатиковая кислота, бетулиновая кислота, мадекассовая кислота, урсоловая кислота, бакобитацины A–D, кукурбитацин E), гидроксикоричные кислоты (3,4диметоксикоричная кислота, моньеразид III), спирт D-маннит и фенилэтаноидный гликозид платанозид B [6–13]. Именно с тритерпеновыми сапонинами и их метаболитами, а также с фенольным соединением платанозидом B связывают терапевтическое действие *B. monnieri* [1, 2, 5, 11, 13]. Присутствие этих групп БАВ подтвердили качественными реакциями Parveen и др., Gupta и др., Gayathri и др., Shanmugan и др., Pawar и др. с использованием разных растворителей (таблица 1). Сравнительный анализ показал, что наибольшее количество разных групп БАВ извлекается спиртом этиловым 95%-м.

Фармакопейным методом стандартизации сырья *B. monnieri* является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) по содержанию бакозида A (Индийская фармакопея) [3] и сумме сапонинов (бакозид A3, бакопазиды I, II, C и X) в пересчете на бакопазид II (Британская фармакопея) [4]. Качественный состав сапонинов методом ВЭЖХ изучен в составе метанольных извлечений с использованием элюентов: 0,72%-й раствор безводного сульфата натрия и ацетонитрил (65:35) [18], 0,001 М раствор дигидрофосфата калия и ацетонитрил (0:100; 70:30; 60:40; 70:30) [19], ацетонитрил и 0,2%-й раствор фосфорной кислоты (65:35) [20]. Однако возможности ВЭЖХ имеют свои ограничения. Именно УЭЖХ за счет меньшего диаметра частиц и более высокого рабочего давления (≤2 мкм и ≤1200 бар в сравнении с 3–5 мкм и ≤600 бар) обеспечивает повышенную чувствительность и более эффективное разделение пиков соединений, содержащихся в пробе в меньших объемах [21, 22], что позволяет расширить спектр изученности БАВ.

В настоящее время на отечественный фармацевтический рынок *B. monnieri* поступает в виде биологически активных добавок (порошков, экстрактов и др.), которые содержат весь комплекс БАВ. Принимая во внимание тот факт, что сырье является перспективным для включения в Государственную фармакопею РФ, целесообразно изучение его химического состава с использованием современных физико-химических методов анализа. Кроме того, качественный состав фракции, растворимой в спирте более низкой концентрации, ранее не изучался.

Цель исследования – анализ компонентного состава биологически активных веществ травы *Bacopa monnieri*, извлекаемых спиртом этиловым 80%-м, методом УЭЖХ-МС.

Таблица 1. Химический состав разных извлечений травы *B. monnieri* [9, 14–17]

Table 1. Chemical composition of different extracts of *B. monnieri* herb [9, 14–17]

Группа биологически активных соединений / Group of biologically active compounds	Экстрагент* / Extraction agent*					
	Вода / Water	Этанол 95%-й / Ethanol 95 %	Метанол / Methanol	Ацетон / Acetone	Петролейный эфир / Petroleum ether	Хлороформ / Chloroform
Дубильные вещества / Tannins	+	+	+	+	–	+
Сапонины / Saponins	+	+	+	–	–	+
Кумарин / Coumarin	–	–	N/A	–	–	–
Антрахинон / Anthraquinone	–	–	–	N/A	N/A	N/A
Гликозиды / Glycosides	+	+	+	+	+	+
Фенольные соединения / Phenolic compounds	+/–	+/–	+/–	+	–	+
Флавоноиды / Flavonoids	+/–	+	+	+	+	–
Хиноны / Quinones	+	+	+	+	–	+

Примечание. * «–» – отрицательный результат; «+» – положительный; «+/–» – данные различались в разных источниках; N/A – отсутствие данных.

Note. * "–" – negative; "+" – positive; "+/–" – data varied across sources; N/A – no data.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования была трава *B. monnieri*, заготовленная в ботаническом саду аюрведического колледжа (SDM College of Ayurveda & Hospital, г. Хасан, Индия) 05.12.2019. Ботаническая идентичность образца установлена профессором кафедры Дравьягуна SDM College Харини А. Рао. Извлечение из сырья готовили с использованием спирта этилового 80%-го. 5 г измельченного сырья (точная навеска), проходящего сквозь сито с размером отверстий 1 мм, трехкратно экстрагировали 50 мл спирта этилового 80%-го в течение 1 ч на кипящей водяной бане с обратным холодильником, фильтровали через фильтр «красная лента», полученное извлечение переносили

в мерную колбу объемом 50 мл и доводили до метки экстрагентом.

Суммарное извлечение центрифугировали 10 мин при 14000 об/мин, супернатант переносили в хроматографическую виалу. Исследование проводили на хроматографе Waters Acquility с диодно-матричным УФ-детектором и МС-детектором TQD (Waters Corporation, США) методом ультраэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (УЭЖХ-МС).

Условия хроматографирования: подвижная фаза А (ПФА) – смесь воды и ацетонитрила с 0,1%-й (об./об.) муравьиной кислотой (95 : 5); подвижная фаза В (ПФВ) – ацетонитрил с 0,1%-й (об./об.) муравьиной кислотой; объем испытуемой пробы и стандартных растворов – по 5 мкл; колонка Acuility UPLC BEH C18, 0,21 × 15,0 см (1,7 мкм); температура колонки 35 °С; скорость потока 0,25 мл/мин; градиентный режим хроматографирования формировали путем смешивания подвижных фаз А и В (таблица 2).

Таблица 2. Градиентный режим хроматографирования

Table 2. Gradient elution scheme

Время, мин Time, min	Подвижная фаза А, % Solvent A, %	Подвижная фаза В, % Solvent B, %
0	95	5
30	50	50
32	0	100
33	95	5
36	95	5

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

УФ-детектирование проводили при 220–500 нм. Условия масс-спектрометрического определения в разных режимах приведены в таблице 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Извлечение имеет сложный состав, поэтому учитывали данные для пиков, имеющих площадь не менее 1 % от суммы всех площадей при 260 нм (рисунок 1), время удерживания не менее 3,0 мин и достаточный отклик на МС-детекторе. Выбор длины волны обусловлен анализом данных диодно-матричного детектирования, показавшим, что при 260 нм удовлетворительно обнаруживается большинство компонентов смеси при незначительном дрейфе базовой линии.

Проведенный анализ позволил обнаружить 14 соединений фенольной природы (таблица 4). На основании масс-спектров при ионизации в позитивном и негативном режимах были определены молекулярные ионы ($M + H^+$, $M + Na^+$, $M - H^-$ и $M + HCOO^-$), молекулярный вес компонента, а по фрагментации и УФ-спектрам предположена структура агликона, входящего в состав молекулы. Структурные формулы приведены на основании анализа литературных данных. Очевидно, в результате окисления образуются производные глюкуроновой кислоты, поскольку изомеризация углеводной части маловероятна.

Таблица 3. Условия масс-спектрометрического определения

Table 3. Conditions of mass spectrometric determination

Параметр Parameter	В режиме позитивных ионов In positive ion mode	В режиме негативных ионов In negative ion mode
Напряжение на капилляре Capillary voltage	+3 кВ +3 kV	–3 кВ –3 kV
Напряжение на конусе Cone voltage	50 В 50 V	–30 В –30 V
Температура капилляра Capillary temperature	450 °С	350 °С
Температура источника Source temperature	120 °С	120 °С
Скорость потока осушающего газа Drying gas flow rate	800 л/ч 800 l/h	500 л/ч 500 l/h
Скорость потока газа в конусе Gas flow rate in the cone	50 л/ч 50 l/h	50 л/ч 50 l/h
Сканирование в диапазоне масс Mass range scanning	от 100 до 1500 ед. 100 to 1500 amu	от 100 до 1500 ед. 100 to 1500 amu

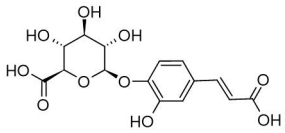
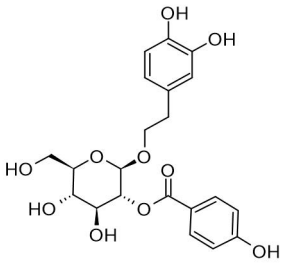
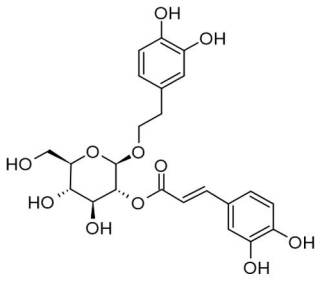
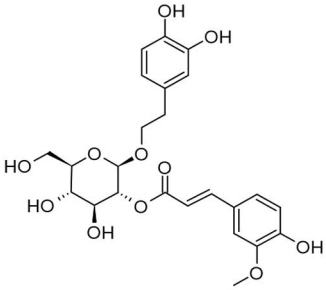
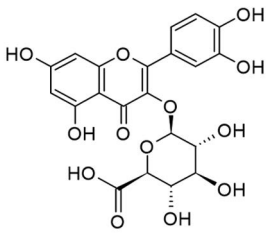
Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Распределение обнаруженных соединений в зависимости от площади пиков (рисунок 2) наглядно иллюстрирует, что большинство из них относятся к флавоноидам и гидроксикоричным кислотам, вместе с тем небольшая часть не идентифицирована. Лютеолин-7-глюкоуронид – мажорный флавоноид, платанозид В – мажорный гликозид гидроксикоричных кислот. Сведения о соотношении фенольных соединений в извлечениях другими экстрагентами отсутствуют в литературных данных.

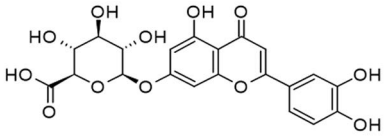
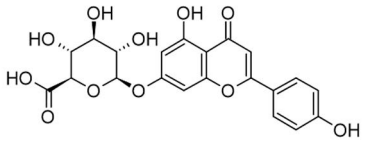
Результаты УЭЖХ-МС согласуются с литературными данными: ранее в траве *B. monnieri* идентифицированы платанозид [13], моньеразид III [12] и апигенин-7-глюкоуронид [23]. Однако нами впервые описаны для этого сырья лютеолин-7-глюкоуронид, кверцетин-7-глюкоуронид, кофейной кислоты 4-О-глюкоуронид (метаболит II фазы, обладающий меньшей антиоксидантной активностью, чем кофейная кислота [24]) и 1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-феруолоил-D-глюкозид (по всей видимости, являющийся вторичным метаболитом).

Таблица 4. **Фенольные соединения в траве *B. monnieri* (80%-е спиртовое извлечение)**

Table 4. **Phenolic compounds in *B. monnieri* herb (80 % alcoholic extract)**

Название соединения Compound name	Время удерживания, с Retention time, s	Максимум длины волны поглощения, нм Maximum wavelength, nm	Молекулярная масса Molecular mass	Возможная структура* Possible structure*
1. Гидроксикоричные кислоты и их гликозиды 1. Hydroxycinnamic acids and their glycosides				
Кофейной кислоты 4-O-глюкуронид Caffeic acid 4-O-glucuronide	5,89	326	356	
Моньеразид III Monnieraside III	8,13	259	436	
Платанозид B Plantainoside B	8,97	327	478	
Изомер платанозида B Plantainoside B isomer	10,28	327	478	–
1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-феруloил-D-глюкозид 1-(3,4-dihydroxyphenethyl)-2-feruloyl-D-glucoside	11,31	330	492	
2. Флавоноиды 2. Flavonoids				
Кверцетин-3-глюкуронид Quercetin-3-glucuronide	9,13	351	478	

Окончание таблицы 4

Название соединения Compound name	Время удерживания, с Retention time, s	Максимум длины волны поглощения, нм Maximum wavelength, nm	Молекулярная масса Molecular mass	Возможная структура* Possible structure*
Лютеолин-7-глюкоуронид Luteolin-7-glucuronide	9,84	348	462	
Производное лютеолина 1 Luteolin derivative 1	11,01	365	688	–
Апигенин-7-глюкоуронид Apigenin-7-glucuronide	11,81	336	446	
Производное лютеолина 2 Luteolin derivative 2	15,37	344	536	–
3. Неидентифицированные фенольные соединения **3. Unidentified phenolic compounds**				
Соединение 1 Compound 1	9,46	358	520	–
Соединение 2 Compound 2	9,98	331	624	–
Соединение 3 Compound 3	20,09	237	718	–
Соединение 4 Compound 4	28,58	235	556	–

Примечание. * «–» – точная структура не идентифицирована.

Note. * "–" – the structure was not identified.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Поскольку основной группой БАВ *B. monnieri* являются сапонины, было проведено их целенаправленное определение и выполнен поиск соединений в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM). Поскольку эти сапонины плохо детектируются в УФ-спектре, определение осуществляли с помощью МС-детектора. В результате фрагментации сапонинов вида *Bacopa* образуется агликон с массой 455 ([агликон + H – H_2O]$^+$) [25], соответствующий основным активным соединениям *B. monnieri*. Этим обусловлен выбор массы иона (рисунок 3, таблица 5).

Сравнение площади пиков сапонинов (рисунок 4) показало, что в извлечении преобладали бакозид А3, бакопасапонин С и бакопазид II.

Пики, содержащие одинаковый ион фрагмента с массой 455 (и 473) в позитивном режиме ионизации (без УФ-поглощения), являются производными ююбогенина или псевдоююбогенина (рисунок 5) – вторичных метаболитов бакозида А3 и бакопазида II соответственно [26]. Позиции гликозилирования и углеводный состав были выбраны на основании анализа литературных данных [27].

Проведенные исследования показали, что спирт этиловый 80%-й позволяет извлечь только часть тритерпеновых сапонинов, содержание которых по данным УЭЖХ-МС составило менее 1 %. Этот метод позволяет с высокой долей вероятности определить состав сапониновой фракции.

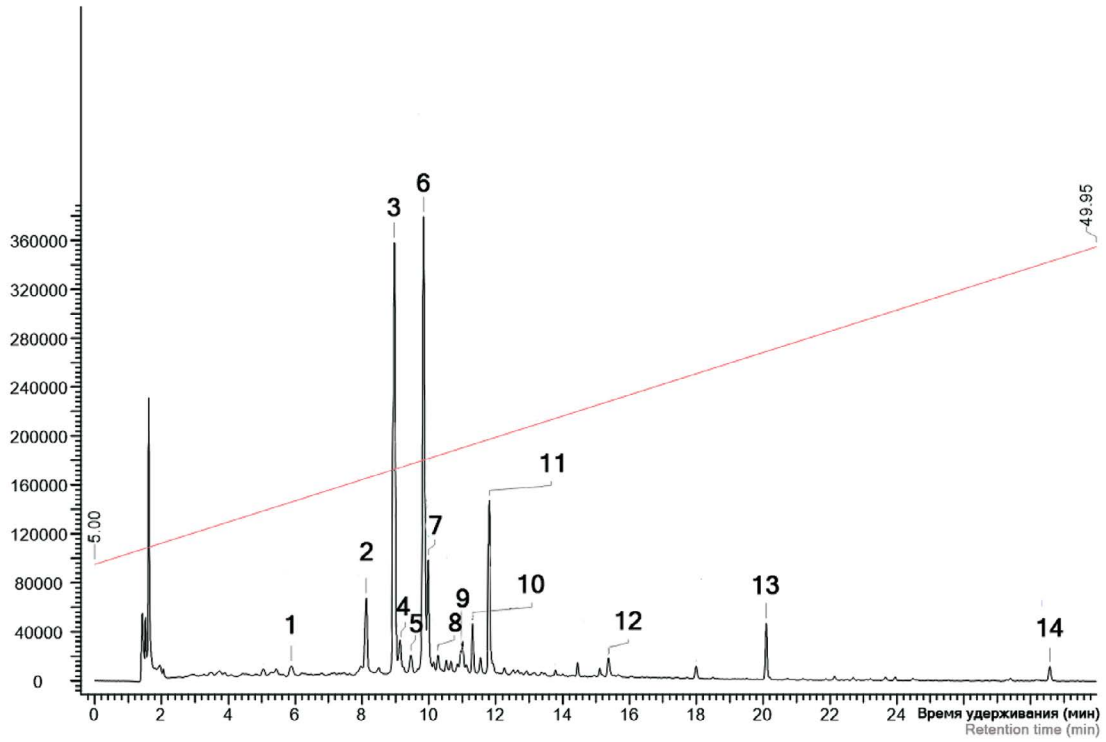


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Хроматограмма УЭЖХ-МС 80%-го спиртового извлечения *B. monnieri* (длина волны 260 нм):

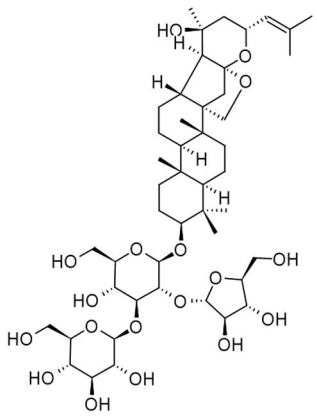
1 – кофейной кислоты 4-O-глюкоуронид; 2 – моньеразид III; 3 – платанозид B; 4 – кверцетин-3-глюкоуронид; 5 – соединение 1; 6 – лютеолин-7-глюкоуронид; 7 – соединение 2; 8 – изомер платанозида B; 9 – производное лютеолина 1; 10 – 1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-ферулоил-D-глюкозид; 11 – апигенин-7-глюкоуронид; 12 – производное лютеолина 2; 13 – соединение 3; 14 – соединение 4

Figure 1. UPLC-MS chromatogram of 80 % ethanol extract of *B. monnieri* (wavelength 260 nm):

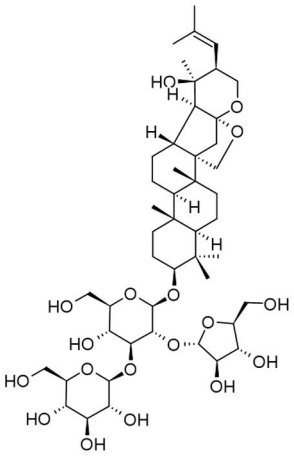
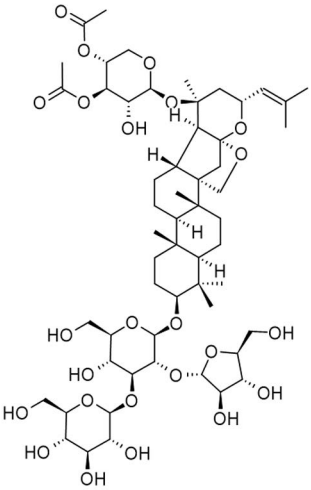
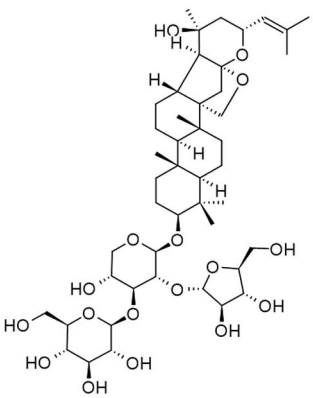
1 – caffeic acid 4-O-glucuronide; 2 – monnieraside III; 3 – plantainoside B; 4 – quercetin-3-glucuronide; 5 – compound 1; 6 – luteolin-7-glucuronide; 7 – compound 2; 8 – plantainoside B isomer; 9 – luteolin derivative 1; 10 – 1-(3,4-dihydroxyphenethyl)-2-feruloyl-D-glucoside; 11 – apigenin-7-glucuronide; 12 – luteolin derivative 2; 13 – compound 3; 14 – compound 4

Таблица 5. Сапонины в траве *B. monnieri* (80%-е спиртовое извлечение)

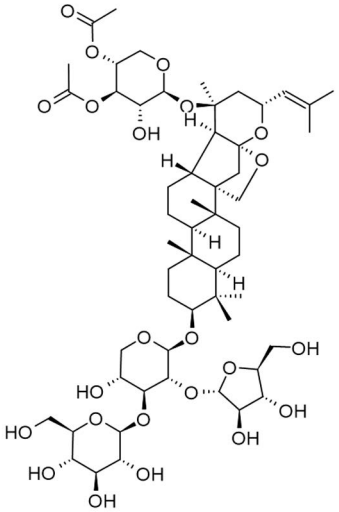
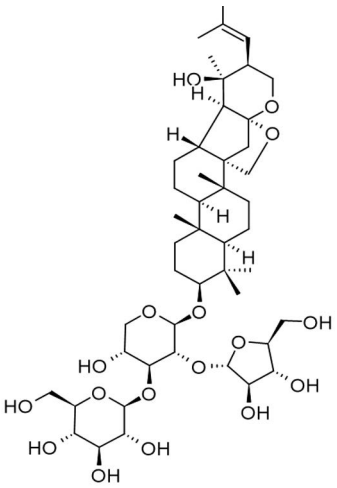
Table 5. Saponins in *B. monnieri* herb (80 % alcoholic extract)

Название соединения Compound name	Время удерживания, с Retention time, s	Молекулярная масса Molecular mass	Возможная структура* Possible structure*
Бакозид А3 Bacoside A3	23,12	928	

Продолжение таблицы 5

Название соединения **Compound name**	**Время удерживания, с** **Retention time, s**	**Молекулярная масса** **Molecular mass**	**Возможная структура*** **Possible structure***
Бакопазид II Bacopaside II	23,31	928	
Бакомосапонин А Bacomosaponin A	23,8	1144	
Бакопазид VII Bacopaside VII	23,96	898	

Окончание таблицы 5

Название соединения **Compound name**	**Время удерживания, с** **Retention time, s**	**Молекулярная масса** **Molecular mass**	**Возможная структура*** **Possible structure***
Бакомосапонин B Bacomosaponin B	24,09	1014	
Бакопасапонин C Bacopasaponin C	24,26	898	
Сапонин 1 Saponin 1	25,2	984	–
Сапонин 2 Saponin 2	25,78	970	–
Сапонин 3 Saponin 3	26,4	1070	–
Сапонин 4 Saponin 4	26,76	994	–
Сапонин 5 Saponin 5	27,94	1080	–
Сапонин 6 Saponin 6	28,56	556	–

Примечание. * «–» – точная структура не идентифицирована.

Note. * "–" – the structure was not identified.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

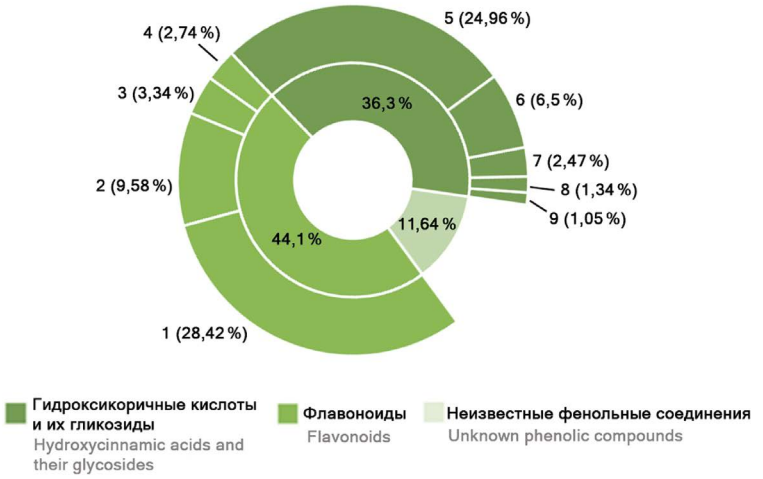


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. **Диаграмма распределения площади пиков фенольных соединений в 80%-м спиртовом извлечении травы *B. monnieri*:**

1 – лютеолин-7-глюкуронид; 2 – апигенин-7-глюкуронид; 3 – другие производные лютеолина; 4 – кверцетин-7-глюкуронид; 5 – платанозид B; 6 – моньеразид III; 7 – 1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-ферулоил-D-глюкозид; 8 – изомер платанозида B; 9 – кофейной кислоты 4-O-глюкуронид

Figure 2. **Peak area distribution diagram of phenolic compounds in 80 % ethanol extract of *B. monnieri* herb:**

1 – luteolin-7-glucuronide; 2 – apigenin-7-glucuronide; 3 – other luteolin derivatives; 4 – quercetin-7-glucuronide; 5 – plantainoside B; 6 – monnieraside III; 7 – 1-(3,4-dihydroxyphenethyl)-2-feruloyl-D-glucoside; 8 – plantainoside B isomer; 9 – caffeic acid 4-O-glucuronide

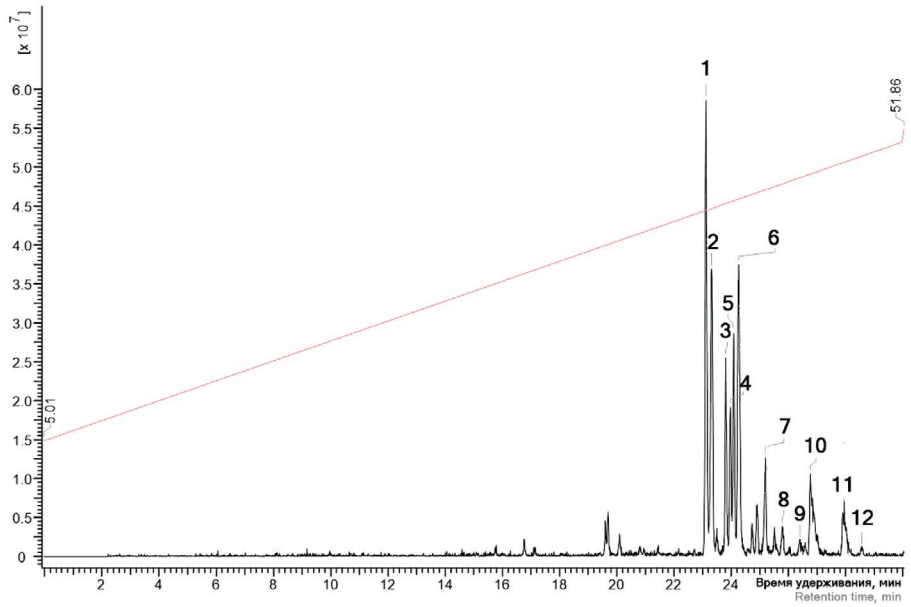


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. **SIM-хроматограмма 80%-го спиртового извлечения *B. monnieri* на выбранной массе иона 455:**

1 – бакозид A3; 2 – бакопазид II; 3 – бакомосапонин A; 4 – бакопазид VII; 5 – бакомосапонин B; 6 – бакопасапонин C; 7 – сапонин 1; 8 – сапонин 2; 9 – сапонин 3; 10 – сапонин 4; 11 – сапонин 5; 12 – сапонин 6

Figure 3. **SIM chromatogram of an 80 % ethanol extract of *B. monnieri* for the selected mass of 455:**

1 – bacoside A3; 2 – bacopaside II; 3 – bacomosaponin A; 4 – bacopaside VII; 5 – bacomosaponin B; 6 – bacopasaponin C; 7 – saponin 1; 8 – saponin 2; 9 – saponin 3; 10 – saponin 4; 11 – saponin 5; 12 – saponin 6

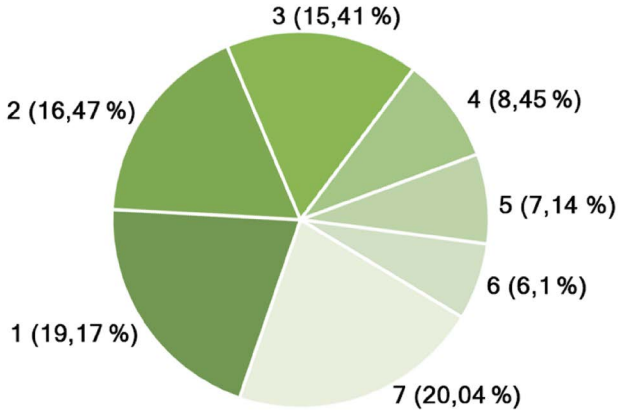


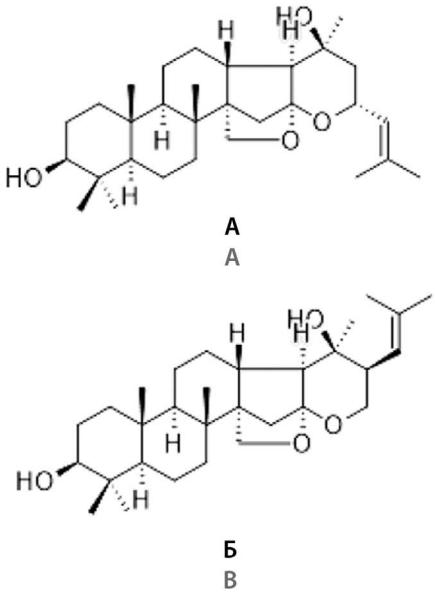
Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Диаграмма распределения площади пиков сапонинов в 80%-м спиртовом извлечении травы *B. monnieri*:

1 – бакозид А3; 2 – бакопасапонин С; 3 – бакопазид II; 4 – бакомосапонин В; 5 – бакомосапонин А; 6 – бакопазид VII; 7 – неизвестные сапонины

Figure 4. Peak area distribution diagram of saponins in an 80 % ethanol extract of *B. monnieri* herb:

1 – bacoside A3; 2 – bacopasaponin C; 3 – bacopaside II; 4 – bacomosaponin B; 5 – bacomosaponin A; 6 – bacopaside VII; 7 – unknown saponins



А
A

Б
B

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. Структура ююбогенина (А) и псевдоююбогенина (Б)

Figure 5. Structure of juubogenin (A) and pseudojujubogenin (B)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возможности УЭЖХ-МС позволили впервые изучить состав 80%-го спиртового извлечения травы *Bacopa monnieri* и определить в нем фенольные соединения: 4 гидроксикоричные кислоты (кофейной кислоты 4-О-глюкоуронид, моньеразид III, платанозид В, 1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-феруолоил-D-глюкозид) и 3 флавоноида (кверцетин-3-глюкоуронид, лютеолин-7-глюкоуронид, апигенин-7-глюкоуронид), 4 из которых (лютеолин-7-глюкоуронид, кверцетин-7-глюкоуронид, кофейной кислоты 4-О-глюкоуронид и 1-(3,4-дигидроксифенетил)-2-феруолоил-D-глюкозид) идентифицированы впервые. На УЭЖХ-МС-хроматограмме относительные значения пиков преобладали для лютеолина-7-глюкоуронида, платанозида В и апигенин-7-глюкоуронида. Кроме того, обнаружены 6 тритерпеновых сапонинов (бакозид А3, бакопазиды II и VII, бакомосапонины А и В, бакопасапонин С).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Charoenphon N., Anandsongvit N., Kosai P., Sirisidthi K., Kangwanrangsan N., Jiraungkoorskul W. Brahmi (Bacopa monnieri): Up-to-date of memory boosting medicinal plant: A review. *Indian Journal Of Agricultural Research*. 2016;50(1):1–7. https://doi.org/10.18805/ijare.v50i1.8582
2. Gościniak A., Stasiłowicz-Krzemień A., Szeląg M., Pawlak J., Skiera I., Kwiatkowska H., Nowak N., Bernady K., Trzaskoma P., Zimak-Krótkopad O., Cielecka-Piontek J. *Bacopa monnieri*: Preclinical and Clinical Evidence of Neuroactive Effects, Safety of Use and the Search for Improved Bioavailability. *Nutrients*. 2025;17(11):1939. https://doi.org/10.3390/nu17111939
3. The Indian Pharmacopoeia Commission. Indian Pharmacopoeia 9th Edition Volume III. Ghaziabad: Indian Pharmacopoeia Commission; 2022. 4784 p.
4. British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia 2024th edition. London: Stationery Office; 2024. 6700 p.
5. Government Of India, Ministry Of Health And Family Welfare, Department Of Ayurveda, Yoga & Naturopathy, Unani, Siddha And Homoeopathy. The Ayurvedic Pharmacopoeia of India Part I Volume II. New Delhi: Government Of India; 1999. 397 p.
6. Pandey A. K. Bacopa monnieri (Linn.) Pennell – A Possible Plant for Impossible Diseases (A Review) *Advances in Pharmacology and Pharmacy*. 2022;10(1):35–53. https://doi.org/10.13189/app.2022.100104
7. Hossain H., Al-Mansur M. A., Akter S., Sara U. R. S., Ahmed M. R., Jahangir A. A. Evaluation of anti-inflammatory activity and total tannin content from the leaves of Bacopa monnieri (Linn.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014;5(4):1246–1252.
8. Jeyasri R., Muthuramalingam P., Suba V., Ramesh M., Chen J.-T. *Bacopa monnieri* and Their Bioactive Compounds Inferred Multi-Target Treatment Strategy for Neurological Diseases: A Cheminformatics and System Pharmacology Approach. *Biomolecules*. 2020;10(4):536. https://doi.org/10.3390/biom10040536
9. Parveen R., Shamsi T.N., Kumar H., Fatima S. Phytochemical analysis and in vitro biological characterization of aqueous and methanolic extract of Bacopa monnieri. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceuti-*

cal Sciences. 2016;8(12):90–96. https://doi.org/10.22159/ijpps.2016v8i12.14739
10. Bhandari P., Sendri N., Devidas S. B. Dammarane triterpenoid glycosides in *Bacopa monnieri*: A review on chemical diversity and bioactivity. *Phytochemistry*. 2020;172:112276. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112276
11. Fukuda A., Nakashima S., Oda Y., Nishimura K., Kawashima H., Kimura H., Ohgita T., Kawashita E., Ishihara K, Hanaki A., Okazaki M., Matsuda E., Tanaka Y., Nakamura S., Matsumoto T., Akiba S., Saito H., Matsuda H., Takata K. Plantainoside B in *Bacopa monniera* Binds to Aβ Aggregates Attenuating Neuronal Damage and Memory Deficits Induced by Aβ. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2023;46(2):320–333. https://doi.org/10.1248/bpb.b22-00797
12. Ohta T., Nakamura S., Nakashima S., Oda Y., Matsumoto T., Fukaya M., Yano M., Yoshikawa M., Matsuda H. Chemical structures of constituents from the whole plant of *Bacopa monniera*. *Journal of Natural Medicines*. 2016;70(3):404–411. https://doi.org/10.1007/s11418-016-0986-0
13. Fatima U., Roy S., Ahmad S., Ali S., Elkady W. M., Khan I., Alsaffar R. M., Adnan M., Islam A., Hassan M. I. Pharmacological attributes of *Bacopa monnieri* extract: Current updates and clinical manifestation. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:972379. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.972379
14. Gupta R., Jain N. Comparative study on phytochemical screening of different extracts of Bacopa monnieri. *MIT International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;2(2):18–20.
15. Gayathri G., Muthulakshmi K., Babu S., Gomathi S., Ambikapathy V., Panneerselvam A. Study of phytochemical analysis and antioxidant activity on Bacopa monnieri. *Academia Journal of Microbiology Research*. 2021;9(2):021–032.
16. Shanmugam R., Arthi B., Pragya P., Girigoswami A., Koyeli G., Pemula G., Senthilkumar N., Arumugam V. A. A Comprehensive Assessment of the Antioxidant Capacity of Varied *Bacopa Monnieri* Extracts and Its Toxicity on Early Life Stages of Zebrafish Embryos. *Natural Product Communications*. 2025;20(3). https://doi.org/10.1177/1934578X251327815
17. Pawar S. S., Jadhav M. G. Determination of extractive value and phytochemical analysis of Bacopa monnieri (L). *Recent Advances in Life Sciences*. 2016;8:1222–1229.
18. Alwash B. M. J. Triterpenoid Saponins Investigation and Pharmacological (Cytotoxic and Antioxidant) Properties of Bacopa monnieri L. Cultivated in Iraq. *Baghdad Science Journal*. 2018;15(2):2. https://doi.org/10.21123/bsj.2018.15.2.0123
19. Padhiari B., Ray A., Halder T., Jena S., Champati B., Sahoo A., Kar B., Ghosh B., Panda P., Nayak S. Quality control of bacopa monnieri by high-performance liquid chromatography fingerprinting combined with chemometric methods. *Pharmacognosy Magazine*. 2021;17(76):872–881.
20. Inthima P., Supaibulwatana K. Comparative Growth and Bacoside Production in Diploid and Tetraploid *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. Cultivated Indoors via Hydroponic and Soil Culture Systems. *Horticulturae*. 2024;10(6):574. https://doi.org/10.3390/horticulturae10060574
21. Gumustas M., Kurbanoglu S., Uslu B., Ozkan S. A. UPLC versus HPLC on Drug Analysis: Advantageous, Applications and Their Validation Parameters. *Chromatographia*. 2013;76:1365–1427. https://doi.org/10.1007/s10337-013-2477-8
22. Swetha Sri R., Bhavya Sri K., Mounika C. A Review on Comparative study of HPLC and UPLC. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2020;13(3):1570–1574. https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00284.X
23. Gurjar S. P., Roy A., Gupta A., Raja V., Rustagi S., Verma D., Raj S. *In-silico* Studies of Phytochemicals from Selected Medicinal Plants against Lung Cancer Receptor. *Letters in NanoBioScience*. 2025;14(2);77. https://doi.org/10.33263/LIANBS142.077
24. Piazzon A., Vrhovsek U., Masuero D., Mattivi F., Mandoj F., Nardini M. Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(50):12312–12323. https://doi.org/10.1021/jf304076z
25. Nuengchamnong N., Saesong T., Ingkaninan K. Characterization of Triterpenoid Saponins, Phenylethanoids and Flavonoids in *Bacopa Caroliniana* (Walt.) B.L. Robins Using LC-ESI-QTOF-MS/MS Technique. *Chromatography and Spectroscopy Techniques*. 2021;4(1):61–68. https://doi.org/10.36959/326/773
26. Nuengchamnong N., Sookying S., Ingkaninan K. LC-ESI-QTOF-MS based screening and identification of isomeric jujubogenin and pseudojujubogenin aglycones in *Bacopa monnieri* extract. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016;129:121–134. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.06.052
27. Murthy H. N. Biotechnological production of bacosides from cell and organ cultures of *Bacopa monnieri*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2022;106:1799–1811. https://doi.org/10.1007/s00253-022-11834-0

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.074; 615.322

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2323

Check for updates

CC BY 4.0

Изучение аминокислотного состава сырья остролодочника волосистого (*Oxytropis pilosa* (L.) DC.), произрастающего на территории Саратовской области

Л. В. Караваева[1], У. А. Матвиенко[1]✉, А. М. Полуянов[2], Н. А. Дурнова[1, 2]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ имени В. И. Разумовского» Минздрава России). 410012, Россия, Приволжский федеральный округ, Саратовская область, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

[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:** Матвиенко Ульяна Андреевна. **E-mail:** matvienko.ulia2104@gmail.com

Резюме

Введение. Аминокислоты (АК) – ключевые компоненты живых организмов. Лекарственные растения – ценные источники АК, которые повышают биодоступность других метаболитов и потенцируют их фармакологическое действие. Однако аминокислотный состав многих растений, в том числе *Oxytropis pilosa* (L.) DC., остается неизученным.

Цель. Установление качественного и количественного состава свободных и связанных аминокислот в сырье *O. pilosa*, произрастающего на территории Саратовской области.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали сырье *O. pilosa*, заготовленное в период массового цветения на территории Саратовской области. Качественный анализ свободных АК проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе «*н*-бутанол – ацетон – ледяная уксусная кислота – вода» (35 : 35 : 10 : 20); 2%-й спиртовой раствор нингидрина (детектор). Количественное определение суммы свободных АК выполняли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) при аналитической длине волны 568 нм. Методом ВЭЖХ осуществляли качественный и количественный анализ свободных и связанных АК на хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence с детектором SPD-M20A (Япония) с автосемплером SIL-20A и системой для сбора и обработки хроматографических данных LabSolutions. Для идентификации обнаруженных соединений использовали стандартные образцы (СО) АК. Содержание АК выражали в мг/г сухого сырья. Полученные данные статистически обрабатывали с помощью MS Excel 2017.

Результаты и обсуждение. Методом ТСХ определен состав свободных АК водных извлечений из травы, цветков и листьев *O. pilosa*. Во всех исследуемых образцах идентифицированы 6 АК (аспарагиновая кислота, пролин, серин, треонин, валин, изолейцин). Наибольшее содержание суммы свободных АК найдено в траве *O. pilosa* (30,70 ± 0,39 мг/г). В результате ВЭЖХ-анализа АК в извлечении из травы после предварительного гидролиза выявлено 15 АК, среди которых лидируют аланин (66,056 ± 0,584 мг/г), 4-гидроксипролин (25,912 ± 0,278 мг/г), пролин (17,834 ± 0,168 мг/г) и гистидин (13,030 ± 0,086 мг/г).

Заключение. Впервые установлен качественный и количественный состав свободных и связанных АК в сырье *O. pilosa*. Общее содержание аминокислот составило 165,659 ± 0,806 мг/г, при этом незаменимых АК – 16,958 ± 0,139 мг/г.

Ключевые слова: трава, цветки, листья, *Oxytropis pilosa* (L.) DC., аминокислоты, ТСХ, ВЭЖХ, спектрофотометрия

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

Вклад авторов. Л. В. Караваева, У. А. Матвиенко, Н. А. Дурнова – планирование эксперимента. Л. В. Караваева, У. А. Матвиенко, А. М. Полуянов осуществляли проведение экспериментальных исследований. Все авторы участвовали в написании текста статьи, в том числе разделов «Заключение» и «Обсуждение результатов».

© Караваева Л. В., Матвиенко У. А., Полуянов А. М., Дурнова Н. А., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Karavaeva L. V., Matvienko U. A., Poluyanov A. M., Durnova N. A., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Караваева Л. В., Матвиенко У. А., Полуянов А. М., Дурнова Н. А. Изучение аминокислотного состава сырья остролодочника волосистого (*Oxytropis pilosa* (L.) DC.), произрастающего на территории Саратовской области. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):207–216. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2323

Поступила в редакцию: 26.03.2026
Поступила после рецензирования: 02.07.2026
Принята к публикации: 26.08.2026

Study of the amino acid composition of raw material of *Oxytropis pilosa* (L.) DC., growing in the Saratov region

Ludmila V. Karavaeva[1], Uliana A. Matvienko[1]✉, Andrey M. Poluyanov[2], Natalya A. Durnova[1, 2]

Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky. 112, Bolshaya Kazachia str., Saratov, Saratov Region, Privolzhsky Federal District, 410012, Russia
[2] I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

✉ **Corresponding author:** Uliana A. Matvienko. **E-mail:** matvienko.ulia2104@gmail.com

Abstract

Introduction. Amino acids (AAs) are key components of living organisms. Medicinal plants are valuable sources of AAs, which enhance the bioavailability of other metabolites and potentiate their pharmacological effects. However, the amino acid composition of many plants, including *Oxytropis pilosa* (L.) DC., remains unexplored.

Aim. To establish the qualitative and quantitative composition of free and bound amino acids in *O. pilosa* raw material growing in the Saratov region.

Materials and methods. *O. pilosa* raw material collected during the period of mass flowering in the Saratov region was used as the object of the study. Qualitative analysis of free AAs was performed by thin-layer chromatography (TLC) using an *n*-butanol – acetone – glacial acetic acid – water system (35 : 35 : 10 : 20) with 2 % ninhydrin in alcohol as the detection reagent. Quantitative determination of the total free AAs was carried out by spectrophotometry using a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer (Japan) at an analytical wavelength of 568 nm. Qualitative and quantitative analysis of free and bound AAs was performed by HPLC on a Shimadzu LC-20 Prominence chromatograph equipped with an SPD-M20A detector (Japan), an SIL-20A autosampler, and LabSolutions data acquisition and processing software. Reference standards of AAs were used for compound identification. AA content was expressed in mg/g of dry raw material. The obtained data were statistically processed using MS Excel 2017.

Results and discussion. The composition of free AAs in aqueous extracts from the herb, flowers, and leaves of *O. pilosa* was determined by TLC. Six AAs (aspartic acid, proline, serine, threonine, valine, and isoleucine) were identified in all studied samples. The highest total free AA content was found in the herb of *O. pilosa* (30.70 ± 0.39 mg/g). HPLC analysis of AAs in the extract from the herb after preliminary hydrolysis revealed 15 AAs, among which the predominant ones were alanine (66.056 ± 0.584 mg/g), 4-hydroxyproline (25.912 ± 0.278 mg/g), proline (17.834 ± 0.168 mg/g), and histidine (13.030 ± 0.086 mg/g).

Conclusion. The qualitative and quantitative composition of free and bound AAs in *O. pilosa* raw material has been established for the first time. The total amino acid content was 165.659 ± 0.806 mg/g, with essential AAs accounting for 16.958 ± 0.139 mg/g.

Keywords: herb, flowers, leaves, *Oxytropis pilosa* (L.) DC., amino acids, TLC, HPLC, spectrophotometry

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

Contribution of the authors. Ludmila V. Karavaeva, Uliana A. Matvienko, and Natalya A. Durnova designed the experiment. Ludmila V. Karavaeva, Uliana A. Matvienko, and Andrey M. Poluyanov carried out the experimental studies. All authors contributed to the writing of the article, including the conclusions and discussion of the results.

For citation: Karavaeva L. V., Matvienko U. A., Poluyanov A. M., Durnova N. A. Study of the amino acid composition of raw material of *Oxytropis pilosa* (L.) DC., growing in the Saratov region. *Drug development & registration*. 2026;15(3):207–216. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2323

Received: 26.03.2026
Revised: 02.07.2026
Accepted: 26.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых источников биологически активных веществ является одной из актуальных проблем современной фармации. Аминокислоты (АК) являются ключевыми компонентами живых организмов, принимают участие в построении белков. Из более чем 200 известных АК только 20 являются протеиногенными, некоторые АК являются химическими посредниками и предшественниками метаболитов: нейромедиаторов, ферментов, гормонов, нуклеиновых кислот[1]. Также АК в живых организмах в свободном состоянии могут выполнять специфичные функции. Например, аргинин ускоряет обменные процессы в печени, аспарагиновая кислота участвует в работе иммунной системы, валин, лейцин и изолейцин препятствуют снижению серотонина. Недостаток гистидина приводит к нарушению обмена веществ [1, 2]. Согласно данным Государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС), в России зарегистрировано большое количество наименований лекарственных препаратов, содержащих АК и их производные (глицин, метионин, таурин, имунофан, даларгин и др.).

Лекарственные растения содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ), который включает в себя АК, как свободные, так и в форме пептидов [3]. Лекарственные растения можно рассматривать как ценные источники АК, например, богаты АК такие растения, как синюха голубая, солодка голая, черноголовка разрезная, календула лекарственная и др. [3–6]. Кроме того, в комплексе с другими БАВ аминокислоты повышают их биодоступность и потенцируют фармакологическое действие [6].

Род остролодочник распространен на территории Российской Федерации преимущественно в южных регионах [7, 8]. В Саратовской области произрастает три представителя (*Oxytropis pilosa* (L.) DC., *Oxytropis floribunda* (Pall.) DC., *Oxytropis spicata* (Pall.) DC.), среди которых широко распространен один вид – остролодочник волосистый [9]. Сырье *O. pilosa* в настоящее время применяется в народной медицине в виде настоя при неврозах, неврастении, лихорадке, вегетососудистой дистонии и при некоторых гинекологических заболеваниях [10]. В литературе имеются некоторые сведения о наличии в траве и корнях *O. pilosa* биологически активных соединений (алкалоиды 0,06%-е, стероидные соединения, фенолкарбоновые кислоты, кумарины, флавоноиды, такие как кверцетин, моно- и дигликозиды кемпферола и кверцетина, а также астрагалин) [11]. Однако данные по изучению аминокислотного состава сырья *O. pilosa* отсутствуют.

[1] Lopez M. J., Mohiuddin S. S. Biochemistry, Essential Amino Acids. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK557845/ Accessed: 19.01.2026.

Цель исследования – установление качественного и количественного состава свободных и связанных АК в надземной части *O. pilosa*, произрастающего на территории Саратовской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования

Объектом исследования являлось сырье *O. pilosa*, заготовленное в период массового цветения на территории Саратовской области (окрестности п. Курдюм) в 2023 г. и высушенное до воздушно-сухого состояния.

Анализ аминокислот методом ТСХ

Для исследования состава свободных АК получали водное извлечение из травы, цветков и листьев *O. pilosa* в соотношении сырье : экстрагент 1 : 5. 10,0 г сырья с размером частиц 1,0 мм помещали в коническую колбу объемом 100 мл, заливали 50 мл воды, нагревали в течение 30 мин на водяной бане с обратным холодильником. Идентификацию АК проводили методом тонкослойной хроматографии на хроматографических пластинах марки Merk TLS Silica gel 60 F_{254} (Германия) размером 20 × 20 см. Элюирующая система: *н*-бутанол – ацетон – ледяная уксусная кислота – вода (35 : 35 : 10 : 20). Элюирование повторяли дважды в одной и той же системе растворителей с высотой пробега элюента 20 см. Стандартами служили 0,1%-е водные растворы стандартных образцов (СО) аминокислот. Исследуемый раствор наносили микрошприцем МШ-10 (ООО «Цвет», Россия) на хроматографическую пластину в объеме 5 мкл, стандарты – по 1 мкл. Детектирование осуществляли 2%-м спиртовым раствором нингидрина с последующим нагреванием хроматографической пластины в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 15 мин. Идентификацию аминокислот проводили, сравнивая значение R_f и цвет пятен со стандартными образцами АК [12].

Анализ аминокислот методом спектрофотометрии

Количественное определение суммы свободных АК в исследуемом образце проводили спектрофотометрическим методом, основанным на светопоглощении продуктов реакции АК со спиртовым раствором нингидрина при аналитическом максимуме 568 нм. Для исследования аналитическую пробу сырья около 1,0 г (точная навеска), измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито 2 мм, помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 25 мл воды. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Полученное извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью

100 мл, фильтр с попавшими на него частицами помещали в колбу для экстрагирования. Экстракцию повторяли еще раз в описанных условиях, фильтруя извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объем извлечения доводили водой до метки и перемешивали (раствор А).

Приготовление раствора СО аспарагиновой кислоты. Около 0,05 г (точная навеска) аспарагиновой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяли в 50 мл воды, доводили объем раствора водой до метки и перемешивали (раствор В).

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 2 мл раствора А, прибавляли 4 мл фосфатного буферного раствора с pH 6,4; а также 2 мл 1%-го раствора нингидрина в 95%-м спирте этиловом и 2 мл 0,05%-го водного раствора аскорбиновой кислоты. Реакционную смесь нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, быстро охлаждали и доводили объем раствора водой до метки, перемешивали. Параллельно проводили аналогичный опыт с 2 мл раствора В стандартного образца аспарагиновой кислоты и 2 мл воды (контрольный опыт).

Измеряли оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Shimadzu Corporation, Япония) в диапазоне 300–700 нм в кварцевых кюветах ($l = 1$ см), используя в качестве раствора сравнения контрольный опыт [12].

Содержание суммы свободных АК при аналитическом максимуме 568 нм в пересчете на аспарагиновую кислоту и абсолютно сухое сырье (X) вычисляли в % по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W)},$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора СО аспарагиновой кислоты; a – навеска сырья, г; a_0 – навеска СО аспарагиновой кислоты, г; W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Анализ аминокислот методом ВЭЖХ

Качественный и количественный анализ АК после гидролиза травы *O. pilosa* проводили методом ВЭЖХ с предварительной дериватизацией аминокислот фенилизотиоцианатом на хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence с детектором SPD-M20A (Shimadzu Corporation, Япония), автосемплером SIL-20A и системой для сбора и обработки хроматографических данных LabSolutions (ver. 5.106), Shimadzu Corporation, Япония.

Использовали хроматографическую колонку 250 × × 46 мм с октадецилсилилсиликагелем (С18), 5 мкм (SUPELCO LC-18-DB), и предколонку 20 × 4,6 мм с октадецилсилилсиликагелем (С18), 5 мкм (SUPELCO LC-18-DB). Температура термостата: 35 °С. Подвижная фаза: 70 мМ раствор аммония ацетата (элюент А), смесь ацетонитрила и 70 мМ раствора аммония ацетата (60 : 40) (элюент В). Для анализа применяли градиентный режим элюирования: от 0 до 45 мин – увеличение элюэнта В линейно до 80 %, от 45 до 60 мин – увеличение элюэнта В до 100 %.

Скорость потока подвижной фазы: 1 мл/мин. Объем пробы: 20 мкл. Время регистрации хроматограммы: 0,0–60,0 мин. Детектирование: УФ-детектор при 254 нм.

Дериватизацию СО аминокислот проводили по модифицированной методике, приведенной в статье [13]: 120 мкл стандартного раствора аминокислоты помещали в пластиковую пробирку объемом 15 мл, добавляли 400 мкл свежеприготовленного раствора дериватизатора (метанол : триэтиламин : фенилизотиоцианат 70 : 10 : 5). Пробирку закрывали, помещали в пробирочный вортекс (MSV-3500, Латвия) и перемешивали 20 мин. После завершения перемешивания в пробирку вносили 1,52 мл раствора уксусной кислоты 1%-й и перемешивали на вортексе в течение 10 мин (2000 об/мин). Затем проводили экстракцию побочных аддуктов: добавляли в пробирку 0,5 мл хлороформа, перемешивали на вортексе в течение 10 мин, переносили в другую пробирку верхний водный слой, снова добавляли 0,5 мл хлороформа и перемешивали. После завершения экстракции водный слой отфильтровывали через шприцевую насадку и анализировали методом ВЭЖХ.

Пробоподготовка образца. 1 г (точная навеска) сырья *O. pilosa* помещали в бюкс, добавляли 0,03 г фенола и 6 мл 6 М раствора хлористоводородной кислоты. Закрытый бюкс выдерживали при 110 °С в сушильном шкафу 24 ч. Затем гидролизат переливали в пластиковую пробирку, центрифугировали в течение 5 мин (3000 об./мин) и аккуратно отфильтровывали через фильтровальную бумагу. С целью удаления хлористоводородной кислоты фильтрат выпаривали на водяной бане. Сухой остаток заливали 1,67 мл дистиллированной воды, 120 мкл полученного раствора помещали в пластиковую пробирку. Далее проводили дериватизацию по описанной выше методике.

Хроматографирование СО АК и испытуемого образца проводили по 5 раз и вычисляли среднее значение площади пика для каждого СО. Идентификацию пиков на хроматограмме анализируемого раствора проводили по времени удерживания в сравнении с хроматограммами растворов СО АК.

Масса аминокислот в образце травы остролодочника волосистого рассчитана по следующей формуле:

$$m = \frac{0{,}167 \cdot m(\text{CO}) \cdot S(\text{дерив.})}{S(\text{CO})},$$

где 0,167 – коэффициент; m (СО) – масса стандартного образца аминокислоты, мг; S (дерив.) – площадь пика аминокислоты, содержащейся в деривате; S (СО) – площадь пика стандартного образца аминокислоты.

Содержание аминокислот в образце травы остролодочника волосистого рассчитано по следующей формуле:

$$\omega = \frac{m(\text{сумма. АК})}{m\ \text{навеска}} \cdot 100\ \%,$$

где *m* (сумм. АК) – сумма масс идентифицированных аминокислот, мг; m навески – масса анализируемого образца, мг.

Количественное содержание каждого соединения выражали в мг/г воздушно-сухого сырья.

Стандартные образцы и реактивы

Стандартные образцы: L-аланин, L-аргинина моногидрохлорид, L-аспарагиновая кислота, L-валин, E-4-гидрокси-L-пролин, L-гистидина моногидрохлорид, глицин, L-глутаминовая кислота, L-изолейцин, L-лейцин, L-метионин, L-орнитин, L-пролин, L-серин, L-тирозин, L-треонин, L-триптофан, L-фенилаланин (≥95 %, Sigma-Aldrich, Германия).

Реактивы: уксусная кислота (х.ч., АО «Вектон», Россия), *н*-бутанол (ч.д.а., АО «Вектон», Россия), ацетон (х.ч., Merck KGaA, Германия), хлористоводородная кислота (х.ч., АО «Вектон», Россия), нингидрин (≥98 %, ООО «Диаэм», Россия), аскорбиновая кислота (≥99 %, Sigma-Aldrich, США), метанол (≥99,8 %, ООО «Химмед синтез», Россия), триэтиламин (≥99,9 %, Merck KGaA, Германия), фенилизотиоцианат (≥98 %, Sigma-Aldrich, США), фенол (≥99,9 %, PanReac, Германия).

Статистическую обработку результатов количественного определения выполняли с использованием MS Excel 2017 ($n = 5$, $f = 4$, $P = 95\%$, $T(f, P) = 2{,}7764$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В листьях, цветках и траве *O. pilosa* (рисунок 1) обнаружены 6 свободных АК: аспарагиновая кислота ($R_f = 0{,}43$, оранжевый), пролин ($R_f = 0{,}50$, розовый), серин ($R_f = 0{,}53$, фиолетово-розовый), треонин ($R_f = 0{,}61$, фиолетовый), валин ($R_f = 0{,}74$, оранжевый), изолейцин ($R_f = 0{,}81$, розовый). Остальные 12 из 18 использованных стандартов (глутаминовая кислота – $R_f = 0{,}59$; аланин – 0,63; аргинин – 0,14; гистидин – 0,07; глицин – 0,49; аспарагин – 0,63; лейцин – 0,84; лизин – 0,11; метионин – 0,69; триптофан – 0,79; фенилаланин – 0,86; глутамин – 0,48) в свободной форме не идентифицированы, вероятно, из-за их низкой концентрации в сырье.

Зарегистрированные электронные спектры поглощения продуктов взаимодействия СО аспарагиновой кислоты и суммы аминокислот имели максимумы поглощения при 400 и 568 нм как у СО аспарагиновой кислоты, так и у анализируемых образцов сырья (рисунок 2).

Максимальное содержание АК было обнаружено в траве *O. pilosa* (30,70 ± 0,39 мг/г). В листьях и цветках *O. pilosa* содержание АК оказалось ниже, чем в

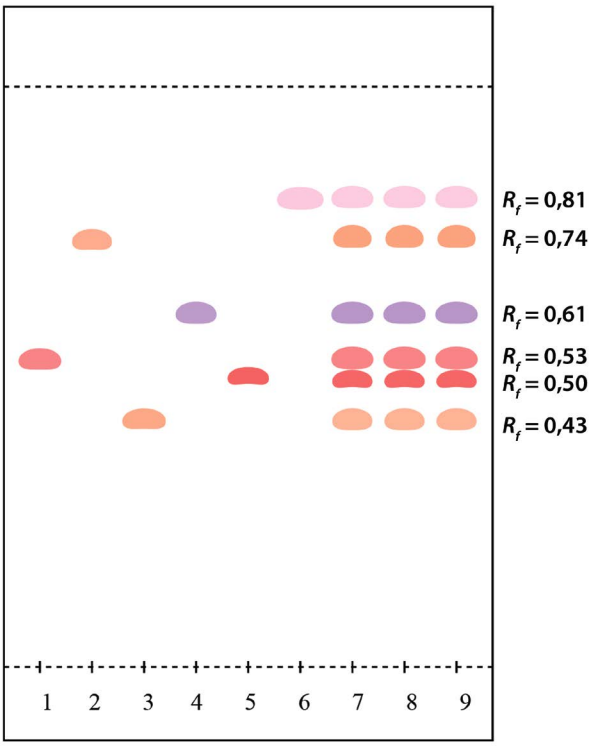


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Хроматограмма свободных аминокислот:
1 – серин; 2 – валин; 3 – аспарагиновая кислота; 4 – треонин; 5 – пролин; 6 – изолейцин; 7 – трава *O. pilosa*; 8 – листья *O. pilosa*; 9 – цветки *O. pilosa*

Figure 1. Chromatogram of free amino acids
1 – serine; 2 – valine; 3 – aspartic acid; 4 – threonine; 5 – proline; 6 – isoleucine; 7 – *O. pilosa* herb; 8 – *O. pilosa* leaves; 9 – *O. pilosa* flowers)

траве, и составило 18,70 ± 0,25 и 26,14 ± 0,35 мг/г соответственно (таблица 1).

Для растений рода *Oxytropis* сведений о содержании АК очень мало, что затрудняет сравнительный анализ видов по этому критерию. Установлено только содержание свободных АК в траве *O. glacialis* [14]. Полученные нами данные показали, что содержание свободных АК в надземной части *O. pilosa* (30,70 мг/г) значительно превышает содержание свободных АК в *O. glacialis* (6,763 мг/г) [14].

Ввиду того, что методом спектрофотометрии среди исследуемых образцов сырья *O. pilosa* наибольшее содержание АК было установлено в траве, а предварительный ТСХ-скрининг не выявил различий в составе АК, для дальнейших исследований более высокоточным методом в качестве морфологической группы была выбрана трава.

В результате определения аминокислотного состава методом ВЭЖХ после гидролиза хлористоводородной кислотой (рисунок 3) установлено наличие 15 аминокислот, пять из которых являются незамени-

Таблица 1. Метрологические характеристики количественного определения свободных аминокислот в сырье *O. pilosa*, мг/г сырья (n = 5, f = 4, P = 95 %, T (f, P) = 2,7764)

Table 1. Metrological characteristics of the quantitative determination of free amino acids in *O. pilosa* raw material, mg/g of raw material (n = 5, f = 4, P = 95 %, T (f, P) = 2.7764)

№	Морфологическая группа сырья *O. pilosa* Morphological group of *O. pilosa* raw material	$\bar{X}$, мг/г $\bar{X}$, mg/g	S_x^2	S_x	$S_{\bar{x}}$	ΔX	ε, %
1	Трава Herb	30,70 ± 0,39	0,0587500	0,2424	0,1399	0,39	1,27
2	Листья Leaves	18,70 ± 0,25	0,0250000	0,1581	0,0913	0,25	1,36
3	Цветки Flowers	26,14 ± 0,35	0,0480000	0,2191	0,1265	0,35	1,34

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

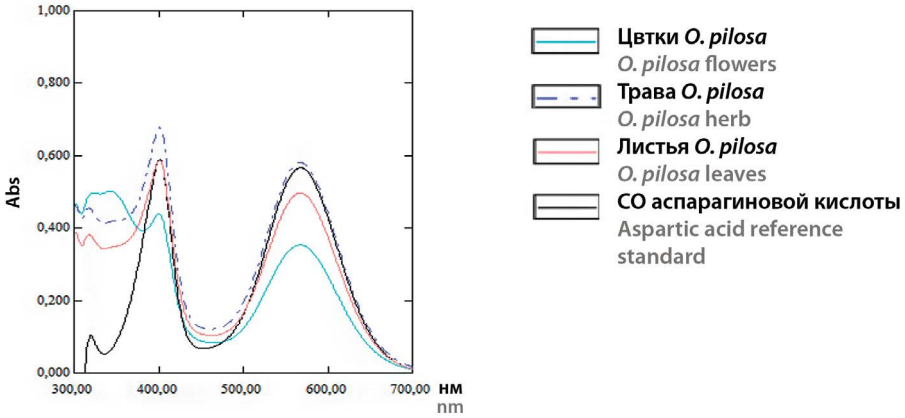


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Электронные спектры продуктов реакции АК с раствором нингидрина

Figure 2. Electronic spectra of the reaction products of AA with a ninhydrin solution

мыми (треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин), три – условно заменимыми (тирозин, гистидин и аргинин) и восемь – заменимыми (аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, 4-гидроксипролин, серин, глицин, пролин, аланин).

Результаты статистической обработки проведенных измерений показывают, что относительная ошибка единичного определения при доверительной вероятности 0,95 не превышает ±2,23 % (таблица 2). Выявлено высокое содержание аланина (66,056 ± ± 0,584 мг/г), 4-гидроксипролина (25,912 ± 0,278 мг/г), пролина (17,834 ± 0,168 мг/г) и гистидина (13,030 ± ± 0,086 мг/г) (таблица 2).

Общее содержание АК после гидролиза – 165,659 ± 0,806 мг/г, что в два раза превышает содержание АК в траве *O. glabra* (83,57 мг/г) [15]. Однако содержание незаменимых АК в траве *O. pilosa* (16,958 ± 0,139 мг/г) немного ниже содержания незаменимых АК в траве *O. glabra* (19,510 мг/г) [15].

Ранее состав и содержание связанных АК определялось в надземной части других представителей семейства *Fabaceae*. В траве *Glycyrrhiza glabra* L. содержание АК (158,8 мг/г) [5] сопоставимо с установленным нами содержанием АК в траве *O. pilosa*, а трава *Polemonium coeruleum* L. содержит в полтора раза меньше АК (96,2 мг/г) [6]. Содержание незаменимых аминокислот в траве *O. pilosa* (16,958 мг/г) значительно превышает количество незаменимых АК в траве *G. glabra* (58,0 мг/г) и в траве *P. coeruleum* (19,5 мг/г).

При сравнительном анализе состава свободных и связанных аминокислот были выявлены значительные различия. Методом ТСХ было обнаружено 6 АК, тогда как методом ВЭЖХ после предварительного гидролиза установлено наличие 15 АК в траве *O. pilosa*. Также стоит отметить, что их общее содержание после гидролиза значительно возрастает – с 30,70 ± ± 0,39 до 165,659 ± 0,806 мг/г.

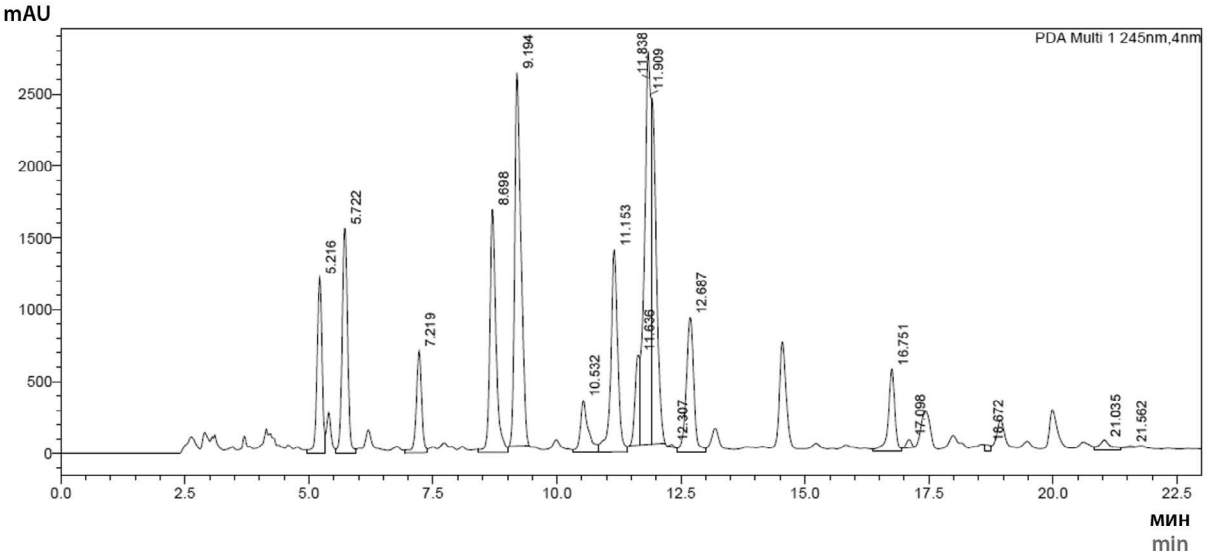


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. **Хроматограмма аминокислотного состава травы *O. pilosa***

Figure 3. **Chromatogram of the amino acid composition of the herb *O. pilosa***

Таблица 2. **Метрологические характеристики количественного определения аминокислот в траве остролодочника волосистого, мг/г сырья ($n = 5$, $f = 4$, $P = 95$ %, $T(f, P) = 2{,}7764$)**

Table 2. **Metrological characteristics for the quantitative determination of amino acids in the *O. pilosa* herb, mg/g raw material ($n = 5$, $f = 4$, $P = 95$ %, $T(f, P) = 2.7764$)**

№	Найденные аминокислоты Amino acids found	Время удерживания, мин Retention time, min	$\bar{X}$, мг/г $\bar{X}$, mg/g	S_x^2	S_x	$S_{\bar{x}}$	ΔX	ε, %
1	Аспарагиновая кислота Aspartic acid	5,216	6,532 ± 0,071	0,0019700	0,0444	0,0256	0,071	1,09
2	Глутаминовая кислота Glutamic acid	5,722	5,214 ± 0,033	0,0004300	0,0207	0,0120	0,033	0,64
3	4-гидроксипролин 4-Hydroxyproline	7,219	25,912 ± 0,278	0,0300700	0,1734	0,1001	0,278	1,07
4	Серин Serine	8,698	6,130 ± 0,106	0,0043500	0,0660	0,0381	0,106	1,72
5	Глицин Glycine	9,194	3,72 ± 0,029	0,0003200	0,0179	0,0103	0,044	0,77
6	Гистидин** Histidine**	10,532	13,030 ± 0,086	0,0028500	0,0534	0,0308	0,086	0,66
7	Треонин* Threonine*	11,153	6,854 ± 0,124	0,0060300	0,0777	0,0448	0,124	1,82
8	Аргинин** Arginine**	11,636	3,470 ± 0,054	0,0011500	0,0339	0,0196	0,054	1,57
9	Пролин Proline	11,838	17,834 ± 0,168	0,0109800	0,1048	0,0605	0,168	0,94
10	Аланин Alanine	12,687	66,056 ± 0,584	0,1326800	0,3643	0,2103	0,584	0,88
11	Тирозин** Tyrosine**	16,751	0,805 ± 0,018	0,0001250	0,0112	0,0065	0,018	2,23
12	Валин* Valine*	17,098	0,333 ± 0,007	0,0000172	0,0041	0,0024	0,007	2,00

Окончание таблицы 2

№	Найденные аминокислоты Amino acids found	Время удерживания, мин Retention time, min	$\bar{X}$, мг/г $\bar{X}$, mg/g	S_x^2	S_x	$S_{\bar{x}}$	ΔX	ε, %
13	Метионин* Methionine*	18,672	0,919 ± 0,009	0,0000308	0,0055	0,0032	0,009	0,97
14	Изолейцин* Isoleucine*	21,035	7,258 ± 0,114	0,0050200	0,0709	0,0409	0,114	1,56
15	Лейцин* Leucine*	21,562	1,593 ± 0,014	0,0000712	0,0084	0,0049	0,014	0,85
16	Общее содержание аминокислот, мг/г Total amino acid content, mg/g	165,659 ± 0,806		0,2529412	0,5029	0,2904	0,806	0,49
17	Общее содержание аминокислот, % Total amino acid content, %	16,56 ± 0,081		0,0025300	0,0503	0,0290	0,081	0,49
18	Содержание незаменимых аминокислот, мг/г Essential amino acid content, mg/g	16,958 ± 0,139		0,0075332	0,0868	0,0501	0,139	0,82
19	Содержание незаменимых аминокислот, % Essential amino acid content, %	1,70 ± 0,014		0,0000753	0,0087	0,0050	0,014	0,82

Примечание. * Незаменимые аминокислоты. ** Условно заменимые аминокислоты.

Note. * Essential amino acids. ** Conditionally replaceable amino acids.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Пролин и 4-гидроксипролин участвуют в метаболизме (в частности, в синтезе аргинина, полиаминов и глутамата через пирролин-5-карбоксилат), заживлении ран, антиоксидантных и иммунных реакциях [16, 17, 18]. Пролин применяется для лечения механических повреждений кожи и слизистых оболочек, а также эффективен в комплексной терапии цирроза печени [19, 20]. Гистидин участвует в синтезе гистамина [16], метилировании белков, входит в состав гемоглобина, антиоксидантных дипептидов и многих ферментов (рибонуклеазы, транскеталазы) [18], его применяют в комплексной терапии лечения язв, аллергии, артрита и анемии [21]. Аланин является предшественником большого числа аминокислот, стимулирует глюконеогенез и участвует в трансаминировании аминокислот в печени [18, 22]. Аланин широко используется в медицинской практике для лечения мигрени, цереброваскулярной недостаточности и других заболеваний нервной системы, связанных с нарушением кровообращения [23].

Кроме того, что АК имеют собственные фармакологические эффекты, они еще могут повышать биодоступность других БАВ и потенцировать их фармакологическое действие [4]. Так, например, аминирование флавоноидов посредством взаимодействия с аминокислотами изменяет полярность и пространственную конформацию флавоноидов, облегчая их взаимодействие с ферментами-мишенями (топоизомераза II) [24].

Таким образом, сырье *O. pilosa* благодаря высокому содержанию АК предположительно может обладать ранозаживляющим, противовоспалительным и антиоксидантным эффектом, оказывать нейропротекторное и гепатопротекторное действие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые установлен качественный и количественный состав аминокислот в сырье *O. pilosa*. С помощью тонкослойной хроматографии идентифицировано 6 свободных аминокислот (аспарагиновая кислота, пролин, серин, треонин, валин, изолейцин) в траве, листьях и цветках *O. pilosa*. Методом спектрофотометрии установлено содержание свободных аминокислот в траве, листьях и цветках *O. pilosa*. Наибольшее содержание АК наблюдалось в траве (30,70 ± ± 0,39 мг/г), наименьшее – в листьях (18,70 ± 0,25). Методом ВЭЖХ после предварительного гидролиза в траве выявлено 15 АК, содержание которых варьи-

руется в диапазоне от 0,333 ± 0,007 мг/г до 66,056 ± ± 0,584 мг/г, а общая масса составила 165,659 ± ± 0,806 мг/г, при этом незаменимых АК – 16,958 ± ± 0,139 мг/г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wu G. Amino acids: biochemistry and nutrition. Boca Raton: CRC press; 2021. 816 p. https://doi.org/10.1201/9781003092742
2. Petkova D., Stoyanova S., Dinkov G., Bogdanov M. G. Beyond Protein Building Blocks: A Review of Biological Roles and Therapeutic Potential of Free Amino Acids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025;26(23):11264. https://doi.org/10.3390/ijms262311264
3. Гудкова А. А., Шестакова Г. Ю., Чистякова А. С., Сливкин А. И. Аминокислотный состав *Polemonium coeruleum* L. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2021;3:86–92.
4. Шамилов А. А., Бубенчикова В. Н., Гарсия Е. Р. Анализ аминокислотного и элементного состава травы черноголовки разрезной (*Prunella laciniata* L.), произрастающей на Северном Кавказе. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2021;2:114–119.
5. Недилько О. В., Яницкая А. В. Изучение аминокислотного состава надземной и подземной частей солодки голой. *Химия растительного сырья*. 2020;1:251–256. https://doi.org/10.14258/jcprm.2020014678
6. Олешко Г. И., Ярыгина Т. И., Зорина Е. В., Решетникова М. Д. Разработка унифицированной методики количественного определения суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах. *Фармация*. 2011;3:14–17.
7. Холина А. Б., Козыренко М. М., Артюкова Е. В., Сандонов Д. В., Андриянова Е. А. Филогенетические взаимоотношения видов *Oxytropis* DC. subg. *Oxytropis* и *Phacoxytropis* (*Fabaceae*) Азиатской России на основе анализа нуклеотидных последовательностей межгенных спейсеров хлоропластного генома. *Генетика*. 2016;52(8):895–909. https://doi.org/10.7868/S0016675816060060
8. Акулова З. В., Бобров Е. Г., Васильева Л. И. Васильченко И. Т., Миняева Н. А., Улле З. Г., Цвелев Н. Н., Чефранова З. В., Яковлев Г. П., под редакцией Федорова А. А. Флора европейской части СССР. Т. 6. Л: Издательство АН СССР; 1987. 254 с.
9. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов: Наука; 2008. 232 с.
10. Amirkhanova A. S., Ustenova G. O. Review of the current status of study Oxytropis. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018;11(4):50–55. https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i4.23656
11. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Hydrangeaceae-Haloragaceae*. Л.: Наука; 1987. 326 с.
12. Полуянов А. М., Матвиенко У. А., Соколова А. Ю., Савельева А. Е., Дурнова Н. А., Бобкова Н. В. Сравнительное изучение профиля свободных аминокислот в подземных органах нескольких видов рода *Rumex* на разных фазах вегетационного цикла. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(1):120–127. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1719
13. Anumula K. R., Taylor P. B. Quantitative determination of phenyl isothiocyanate-derivatized amino sugars and amino sugar alcohols by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*. 1991;197(1):113–120. https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90365-Z
14. Tan Y.-Y., Wang J.-H. Li Q.-F. Content determination of free amino acids in glacial crazyweed (*Oxytropis glacialis* Benth ex Bge). *Hubei Agricultural Sciences*. 2003;1:76–78. https://doi.org/10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2003.01.034
15. Amirhanova A. Sh., Ustenova G. O., Mombekob S. E., Turgumbayeva A. A., Eleken G K. Study of amino acid and fatty acid composition of medicinal plant raw materials *Oxytropis glabra* Lam. DC. *Farmatsiya Kazakhstana*. 2018;10:24–27. (In Kazakh)
16. Li P., Yin Y.-L., Li D., Kim S. W., Wu G. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*. 2007;98(2):237–252. https://doi.org/10.1017/S000711450769936X
17. Wu G., Bazer F. W., Burghardt R. C., Johnson G. A., Kim S. W., Knabe D. A., Li P., Li X., McKnight J. R., Satterfield M. C., Spencer T. E. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino acids*. 2011;40(4):1053–1063. https://doi.org/10.1007/s00726-010-0715-z
18. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*. 2009;37(1):1–17. https://doi.org/10.1007/s00726-009-0269-0
19. Mehl A. A., Damião A. O., Viana S. D., Andretta C. P. Hard-to-heal wounds: a randomised trial of an oral proline-containing supplement to aid repair. *Journal of Wound Care*. 2021;30(1):26–31. https://doi.org/10.12968/jowc.2021.30.1.26
20. Heidari R., Mohammadi H., Ghanbarinejad V., Ahmadi A., Ommati M. M., Niknahad H., Jamshidzadeh A., Azarpira N., Abdoli N. Proline supplementation mitigates the early stage of liver injury in bile duct ligated rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2018;30(1):91–101. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2017-0221
21. Holeček M. Histidine in health and disease: metabolism, physiological importance, and use as a supplement. *Nutrients*. 2020;12(3):848. https://doi.org/10.3390/nu12030848
22. Ling Z.-N., Jiang Y.-F., Ru J.-N., Lu J.-H., Ding B., Wu J. Amino acid metabolism in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023;8(1):345. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01569-3
23. Meletis C. D., Barker J. E. Therapeutic uses of amino acids. *Alternative & Complementary Therapies*. 2005;11(1):24–28. https://doi.org/10.1089/ACT.2005.11.24
24. Zou P., Costas C., Lu R., Cameselle C., Lin S., Zhang F., Wei Z., Otero P. Exploring the mechanism of flavonoid amination and its potential biological implications from an *in-vitro* and *in-vivo* perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2026;66(9):1706–1726. https://doi.org/10.1080/10408398.2025.2554286

REFERENCES

1. Wu G. Amino acids: biochemistry and nutrition. Boca Raton: CRC press; 2021. 816 p. https://doi.org/10.1201/9781003092742
2. Petkova D., Stoyanova S., Dinkov G., Bogdanov M. G. Beyond Protein Building Blocks: A Review of Biological Roles and Therapeutic Potential of Free Amino Acids. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025;26(23):11264. https://doi.org/10.3390/ijms262311264

3. Gudkova A. A., Shestakova G. Yu., Chistyakova A. S., Slivkin A. I. Amino acid composition of *Polemonium coeruleum* L. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2021;3:86–92. (In Russ.)
4. Shamilov A. A., Bubenchikova V. N., Garsiya E. R. Alalysis of amino acids and element content of *Prunella laciniata* L. herba growing at North Caucausis. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2021;2:114–119. (In Russ.)
5. Nedil'ko O. V., Yanitskaya A. V. The study of amino acid content of *Glycyrrhiza glabra* overground and underground parts. *Chemistry of Plant raw material*. 2020;1:251–256. (in Russ.). https://doi.org/10.14258/jcprm.2020014678
6. Oleshko G. I., Yarygina T. I., Zorina E. V., Reshetnikova M. D. Development of a unified method for quantitative determination of the amount of free amino acids in medicinal plant materials and extraction preparations. *Pharmacy*. 2011;3:14–17. (In Russ.)
7. Kholina A. B., Kozyrenko M. M., Artyukova E. V., Sandanov D. V., Andriyanova E. A. Phylogenetic Relationships of the Species of *Oxytropis* DC. Subg. *Oxytropis* and *Phacoxytropis (Fabaceae)* from Asian Russia Inferred from the Nucleotide Sequence Analysis of the Intergenic Spacers of the Chloroplast Genome. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(8):895–909. (In Russ.) https://doi.org/10.7868/S0016675816060060
8. Akulova Z. V., Bobrov E. G., Vasil'eva L. I. Vasil'chenko I. T., Minyaeva N. A., Ulle Z. G., Tsvelev N. N., Chefranova Z. V., Yakovlev G. P., edited by Fedorova A. A. Flora of the European part of the USSR. V. 6. Leningrad: Izdatel'stvo AN SSSR; 1987. 254 p. (In Russ.)
9. Elenevskiy A. G., Bulanyy Yu. I., Radygina V. I. Abstract of the flora of the Saratov region. Saratov: Nauka; 2008. 232 p. (In Russ.)
10. Amirkhanova A. S., Ustenova G. O. Review of the current status of study Oxytropis. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018;11(4):50–55. https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i4.23656
11. Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use; Families *Hydrangeaceae-Haloragaceae*. Leningrad: Nauka; 1987. 326 p. (In Russ.)
12. Poluyanov A. M., Matvienko U. A., Sokolova A. Yu., Savelyeva A. E., Durnova N. A., Bobkova N. V. Comparative Study of Free Amino Acid Profiles in Underground Organs of Several Species of the Genus Rumex During Different Phases of the Vegetation Cycle. *Drug development & registration*. 2024;13(1):120–127. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1719
13. Anumula K. R., Taylor P. B. Quantitative determination of phenyl isothiocyanate-derivatized amino sugars and amino sugar alcohols by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*. 1991;197(1):113–120. https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90365-Z
14. Tan Y.-Y., Wang J.-H. Li Q.-F. Content determination of free amino acids in glacial crazyweed (*Oxytropis glacialis* Benth ex Bge). *Hubei Agricultural Sciences*. 2003;1:76–78. https://doi.org/10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2003.01.034
15. Amirhanova A. Sh., Ustenova G. O., Mombekob S. E., Turgumbayeva A. A., Eleken G K. Study of amino acid and fatty acid composition of medicinal plant raw materials *Oxytropis glabra* Lam. DC. *Farmatsiya Kazakhstana*. 2018;10:24–27. (In Kazakh)
16. Li P., Yin Y.-L., Li D., Kim S. W., Wu G. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*. 2007;98(2):237–252. https://doi.org/10.1017/S000711450769936X
17. Wu G., Bazer F. W., Burghardt R. C., Johnson G. A., Kim S. W., Knabe D. A., Li P., Li X., McKnight J. R., Satterfield M. C., Spencer T. E. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino acids*. 2011;40(4):1053–1063. https://doi.org/10.1007/s00726-010-0715-z
18. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*. 2009;37(1):1–17. https://doi.org/10.1007/s00726-009-0269-0
19. Mehl A. A., Damião A. O., Viana S. D., Andretta C. P. Hard-to-heal wounds: a randomised trial of an oral proline-containing supplement to aid repair. *Journal of Wound Care*. 2021;30(1):26–31. https://doi.org/10.12968/jowc.2021.30.1.26
20. Heidari R., Mohammadi H., Ghanbarinejad V., Ahmadi A., Ommati M. M., Niknahad H., Jamshidzadeh A., Azarpira N., Abdoli N. Proline supplementation mitigates the early stage of liver injury in bile duct ligated rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2018;30(1):91–101. https://doi.org/10.1515/jbcpp-2017-0221
21. Holeček M. Histidine in health and disease: metabolism, physiological importance, and use as a supplement. *Nutrients*. 2020;12(3):848. https://doi.org/10.3390/nu12030848
22. Ling Z.-N., Jiang Y.-F., Ru J.-N., Lu J.-H., Ding B., Wu J. Amino acid metabolism in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023;8(1):345. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01569-3
23. Meletis C. D., Barker J. E. Therapeutic uses of amino acids. *Alternative & Complementary Therapies*. 2005;11(1):24–28. https://doi.org/10.1089/ACT.2005.11.24
24. Zou P., Costas C., Lu R., Cameselle C., Lin S., Zhang F., Wei Z., Otero P. Exploring the mechanism of flavonoid amination and its potential biological implications from an *in-vitro* and *in-vivo* perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2026;66(9):1706–1726. https://doi.org/10.1080/10408398.2025.2554286

IPhEB

29–30 октября 2026
Санкт-Петербург

Конференция

ДИАЛОГИ О КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Партнер:

Поддержка:

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ТОРГОВО-ПРОМЫШЛЕННАЯ ПАЛАТА

Организатор:

РЕСТЭК

clinic.restec.ru
+7 921 330 62 18

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.03

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2094

Check for updates

CC BY 4.0

Результаты клинического исследования фазы I с участием здоровых добровольцев нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы

В. В. Быков[1, 2]✉, П. Д. Юдина[1], В. В. Ларченко[1, 2], В. В. Кашталап[3], А. В. Быкова[1], А. Е. Алифоренко[1], К. Е. Кожуховский[1], С. А. Станкевич[1], Е. В. Ефимова[4], Т. П. Калашникова[4], И. В. Кулагина[4], А. И. Венгеровский[2], В. А. Хазанов[1]

[1] Общество с ограниченной ответственностью «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»). 634021, Россия, г. Томск, ул. Елизаровых, д. 79/4

[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России). 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

[3] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ). 650002, Россия, г. Кемерово, бульвар имени академика Л. С. Барбараша, д. 6

[4] Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук». 634012, Россия, г. Томск, ул. Киевская, д. 111а

✉ **Контактное лицо:** Быков Владимир Валерьевич. **E-mail:** preclin5_dep@iphar.ru

Резюме

Введение. Препарат Граник® (действующее вещество – производное индолинона GRS) – новый отечественный, независимый от оксида азота стимулятор растворимой гуанилатциклазы. Стимуляция растворимой гуанилатциклазы представляет собой перспективный подход к терапии сердечно-сосудистых заболеваний, вызванных тромбозом, особенно при противопоказаниях к назначению традиционных антиагрегантов и антикоагулянтов, создающих высокий риск кровотечений. Препарат Граник® находился на фазе I клинических исследований, и данная публикация посвящена оценке его безопасности и фармакокинетики у здоровых добровольцев.

Цель. Целью исследования являлось изучение переносимости, безопасности и фармакокинетики препарата Граник®, капсулы, 20 мг, у здоровых добровольцев после приема натощак в дозах 20, 40 и 60 мг в течение 7 дней.

Материалы и методы. В двойном слепом плацебоконтролируемом исследовании принимали участие 48 здоровых добровольцев мужского пола, получавших в течение 7 дней препарат Граник® в дозах 20, 40 и 60 мг или плацебо. Переносимость препарата оценивалась как хорошая, удовлетворительная или неудовлетворительная на основе субъективных данных от добровольцев. Оценка безопасности включала анализ нежелательных явлений, лабораторных показателей, данных электрокардиограммы и мониторинг жизненно важных функций. Концентрацию вещества GRS в плазме определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием. Статистический анализ выполняли с помощью языка программирования R v.3.5 (Revolution Analytics, США) и с применением методов параметрической и непараметрической статистики в зависимости от характера распределения данных.

Результаты и обсуждение. Препарат Граник® в дозах 20, 40 и 60 мг после приема в течение 7 дней здоровыми добровольцами (по 16 участников в 3 когортах) продемонстрировал хорошую переносимость и безопасность. Фармакокинетические параметры значительно варьировали в зависимости от принятой дозы. Максимальная концентрация соединения GRS в плазме достигалась в среднем за 0,5–1,5 ч. При приеме препарата Граник® в дозе 60 мг вещество GRS длительно находилось в плазме: период полуэлиминации составлял 24,61 ± 10,40 ч. При приеме в дозах 20 и 40 мг удаление из плазмы ускорялось: период полуэлиминации уменьшался до 4,34 ± 3,61 ч и 3,69 ± 5,09 ч соответственно. Коэффициент накопления вещества GRS статистически значимо не различался при приеме препарата Граник® в диапазоне доз 20–60 мг в сутки.

© Быков В. В., Юдина П. Д., Ларченко В. В., Кашталап В. В., Быкова А. В., Алифоренко А. Е., Кожуховский К. Е., Станкевич С. А., Ефимова Е. В., Калашникова Т. П., Кулагина И. В., Венгеровский А. И., Хазанов В. А., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Bykov V. V., Yudina P. D., Larchenko V. V., Kashtalap V. V., Bykova A. V., Aliforenko A. E., Kozhukhovsky K. E., Stankevich S. A., Efimova E. V., Kalashnikova T. P., Kulagina I. V., Vengerovskii A. I., Khazanov V. A., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Заключение. При курсовом применении препарат Граник® продемонстрировал хорошую переносимость и благоприятный профиль безопасности. Полученные результаты обосновывают переход к следующей фазе клинических исследований препарата Граник®.

Ключевые слова: препарат Граник®, производное индолинона GRS, безопасность, фармакокинетика

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

Вклад авторов. В. В. Ларченко, А. Е. Алифоренко отвечали за организацию и проведение клинического исследования, участвовали в подготовке рукописи. П. Д. Юдина проводила статистическую обработку данных и подготовку рукописи. В. В. Быков и А. В. Быкова участвовали в подготовке рукописи. В. В. Кашталап, С. А. Станкевич, А. И. Венгеровский, В. А. Хазанов участвовали в планировании рукописи, ее редактировании, выполняли консультативную работу. Е. В. Ефимова, Т. П. Калашникова, И. В. Кулагина участвовали в проведении клинического исследования, редактировали рукопись. К. Е. Кожуховский участвовал в проведении аналитического этапа исследования. Все вышеуказанные авторы участвовали в обсуждении полученных результатов в форме научной дискуссии.

Для цитирования: Быков В. В., Юдина П. Д., Ларченко В. В., Кашталап В. В., Быкова А. В., Алифоренко А. Е., Кожуховский К. Е., Станкевич С. А., Ефимова Е. В., Калашникова Т. П., Кулагина И. В., Венгеровский А. И., Хазанов В. А. Результаты клинического исследования фазы I с участием здоровых добровольцев нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):218–226. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2094

Поступила в редакцию: 12.05.2025
Поступила после рецензирования: 06.03.2026
Принята к публикации: 24.07.2026

Results of a phase I clinical trial of a new soluble guanylate cyclase stimulator in healthy volunteers

Vladimir V. Bykov[1, 2]✉, Polina D. Yudina[1], Valentin V. Larchenko[1, 2], Vasilii V. Kashtalap[3], Arina V. Bykova[1], Anastasia E. Aliforenko[1], Kirill E. Kozhukhovsky[1], Sergey A. Stankevich[1], Elena V. Efimova[4], Tatiana P. Kalashnikova[4], Irina V. Kulagina[4], Alexander I. Vengerovskii[2], Veniamin A. Khazanov[1]

[1] Limited Liability Company "Innovative Pharmacology Research" (IPHAR). 79/4, Elizarovikh str., Tomsk, 634021, Russia
[2] Siberian State Medical University. 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia
[3] Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases". 6, bulvar akademika L. S. Barbarasha, Kemerovo, 650002, Russia
[4] Cardiology Research Institute, Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences» (Cardiology Research Institute). 111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russia

✉ **Corresponding author:** Vladimir V. Bykov. **E-mail:** preclin5_dep@iphar.ru

Abstract

Introduction. Granik® (the active substance is an indolinone derivative GRS) is a new domestic nitric oxide-independent stimulator of soluble guanylate cyclase (sGC). Stimulation of sGC represents a promising approach to the therapy of cardiovascular diseases caused by thrombosis, particularly in cases where traditional antiplatelet and anticoagulant agents are contraindicated and pose a high risk of bleeding. Granik® has been in Phase I clinical trials, and this publication is devoted to the evaluation of its safety and pharmacokinetics in healthy volunteers.

Aim. The aim of the study was to evaluate the tolerability, safety and pharmacokinetics of Granik® 20 mg capsules in healthy volunteers after administration under fasting conditions at doses of 20, 40, and 60 mg over a 7-day period.

Materials and methods. A double-blind, placebo-controlled study involved 48 healthy male volunteers who received Granik® at doses of 20, 40, and 60 mg or placebo for 7 days. Tolerability was assessed as good, satisfactory, or unsatisfactory based on subjective data from the volunteers. Safety assessment was based on the analysis of adverse events, laboratory values, ECG data, and vital signs monitoring. GRS plasma concentrations were determined by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. Statistical analysis was performed using the R v.3.5 program (Revolution Analytics, USA) and parametric and nonparametric statistics depending on the nature of the data distribution.

Results and discussion. Granik® at doses of 20, 40 and 60 mg demonstrated good tolerability and safety after 7-day administration to healthy volunteers (16 participants in 3 cohorts). Pharmacokinetic parameters varied significantly depending on the dose. The maximum plasma concentration (C_{max}) of the GRS compound was reached in 0.5–1.5 h. When Granik® was administered at a dose of 60 mg, the GRS substance remained in plasma for a long time: the half-elimination period ($t_{1/2}$) was 24.61 ± 10.40 h. When Granik® was administered at doses of 20 and 40 mg, elimination from plasma was accelerated:

the half-elimination period decreased to 4.34 ± 3.61 h and 3.69 ± 5.09 h, respectively. The accumulation coefficient of the GRS substance did not statistically significantly differ when Granik® was administered in the dose range of 20–60 mg per day.
Conclusion. Granik® demonstrated good tolerability and a favorable safety profile when administered as a course. These results justify the transition to the next phase of clinical trials of Granik®.

Keywords: Granik® drug, indolinone derivative GRS, safety, pharmacokinetics

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

Contribution of the authors. Valentin V. Larchenko, Anastasia E. Aliforenko were responsible for the organization and conducting the clinical trial and participated in the preparation of the manuscript. Polina D. Yudina performed the statistical data analysis and prepared the manuscript. Vladimir V. Bykov and Arina V. Bykova participated in the preparation of the manuscript. Vasilii V. Kashtalap, Sergey A. Stankevich, Aleksandr I. Vengerovskii and Veniamin A. Khazanov participated in planning and editing the manuscript and provided consultative work. Elena V. Efimova, Tatiana P. Kalashnikova, Irina V. Kulagina participated in conducting the clinical trial and edited the manuscript. Kirill E. Kozhukhovsky participated in the analytical stage of the study. All of the above authors participated in the discussion of the obtained results in the form of a scientific debate.

For citation: Bykov V. V., Yudina P. D., Larchenko V. V., Kashtalap V. V., Bykova A. V., Aliforenko A. E., Kozhukhovsky K. E., Stankevich S. A., Efimova E. V., Kalashnikova T. P., Kulagina I. V., Vengerovskii A. I., Khazanov V. A. Results of a phase I clinical trial of a new soluble guanylate cyclase stimulator in healthy volunteers. *Drug development & registration*. 2026;15(3):218–226. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2094

Received: 12.05.2025
Revised: 06.03.2026
Accepted: 24.07.2026

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания, вызванные тромбозом, остаются ведущей причиной смертности [1]. Клиническая практика показала, что применение новых антиагрегантов и антикоагулянтов, более эффективных, чем традиционные антитромботические средства, не всегда снижает смертность от тромбозов, но создает риск жизнеугрожающих кровотечений [2, 3]. В патогенезе нарушений кровообращения и гемостаза важное значение принадлежит дефициту функций сигнального пути «оксид азота (NO) – растворимая гуанилатциклаза (рГЦ) – циклический 3′,5′-гуанозинмонофосфат (цГМФ)» вследствие низкой продукции NO, его ускоренной инактивации или снижения активности рГЦ [4].

Одним из перспективных подходов к фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний является назначение стимуляторов рГЦ – лекарственных средств, повышающих чувствительность фермента к действию NO. Стимуляторы стабилизируют связь NO с восстановленным железом в активном центре рГЦ [4]. К настоящему времени созданы стимуляторы рГЦ риоцигуат (Адемпас®, Германия) и верицигуат (Веркуво®, Германия). Риоцигуат применяют при легочной артериальной гипертензии и хронической тромбоэмболической легочной гипертензии, верицигуат – при хронической сердечной недостаточности [5, 6]. Эти лекарственные средства оказывают выраженное терапевтическое действие, но могут вызывать кровотечение, артериальную гипотензию, тахикардию [5].

Действующее вещество разрабатываемого отечественного стимулятора рГЦ с условным торговым названием Граник® – производное индолинона, обозначенное шифром GRS. Химическая формула соединения GRS ($C_{16}H_{15}N_3O_3$) – [2-[(5RS)-5-(гидроксиметил)-3-метил-1,3-оксазолидин-2-илиден]-2-цианоэтилиден]-1Н-индол-3(2Н)-он (рисунок 1).

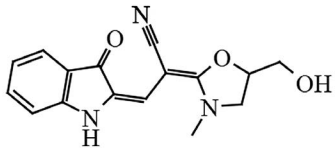


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Структурная формула производного индолинона GRS

Figure 1. Structural formula of the indolinone derivative GRS

Это вещество, независимо от NO, стимулирует рГЦ с повышением продукции цГМФ в тромбоцитах и сосудистой стенке, тормозит агрегацию тромбоцитов, расширяет артерии и вены, оказывает антитромботическое, антигипертензивное, противоате-

росклеротическое и органопротективное действие. На экспериментальных моделях инфаркта миокарда, ишемического инсульта и легочной артериальной гипертензии ослабляет эндотелиальную дисфункцию [7–9].

Целью данной работы являлось изучение переносимости, безопасности и фармакокинетики препарата Граник®, капсулы, 20 мг, у здоровых добровольцев после приема натощак в дозах 20, 40 и 60 мг в течение 7 дней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено двойное слепое рандомизированное плацебоконтролируемое клиническое исследование переносимости, безопасности и фармакокинетики препарата Граник®, капсулы, 20 мг, при многократном приеме здоровыми добровольцами. Исследование одобрено Министерством здравоохранения Российской Федерации (МЗ РФ) РКИ № 672 от 02 декабря 2020 г., протокол № GRS-2020-08. После получения разрешения МЗ РФ исследование фазы I препарата Граник® одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук (№ 206 от 16 декабря 2020 г.). Работа выполнена в соответствии с протоколом клинического исследования, этическими принципами Хельсинкской декларации, правилами надлежащей клинической практики (ICH GCP), действующим законодательством РФ. Разработка протокола, организация исследования, клинический мониторинг, анализ результатов, подготовка итогового отчета в МЗ РФ выполнены.

Участники исследования

В исследовании принимали участие здоровые добровольцы мужского пола в возрасте 18–45 лет, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании, готовые соблюдать график посещений; согласные отказаться от употребления алкоголя и придерживаться адекватных методов контрацепции на всем протяжении исследования. Основными критериями исключения были гиперчувствительность к любому компоненту препарата; аллергическая реакция в анамнезе; острые инфекционные заболевания менее чем за 4 недели до начала исследования; отклонение лабораторных показателей от нормальных значений; нарушения свертывания крови, тромбоцитопеническая пурпура и другие геморрагические состояния в анамнезе; тромботические заболевания в анамнезе; уровень тромбоцитов на этапе скрининга ниже $200 \cdot 10^9$ /л.

Дизайн исследования

В клиническое исследование с многократным приемом препарата Граник® было включено 48 здоровых добровольцев мужского пола. Они в течение 7 дней принимали внутрь натощак один раз в день исследуемый препарат в дозах 20, 40 и 60 мг или плацебо. В каждой когорте 12 добровольцев принимали препарат в одной из указанных доз, 4 участника исследования принимали плацебо.

В доклинических исследованиях установлено, что при однократном введении фармакологические эффекты соединения GRS сохранялись в течение 24 ч, несмотря на относительно быстрое выведение вещества из плазмы животных (около 10 ч). Это указывает на потенциальную достаточность дозирования препарата 1 раз в сутки.

Выбор дозы: доза препарата Граник® 20 мг установлена в доклинических исследованиях и пересчитана с лабораторных животных на человека (NOAEL для крыс составляла 20 мг/кг), является минимальной эффективной и выбрана в качестве стартовой. Подбор доз для многократного приема внутрь препарата Граник® основан на результатах доклинических исследований специфической фармакологической активности, хронической и специфической токсичности, выполненных на лабораторных мышах, крысах и кроликах. Дозу препарата повышали постепенно в соответствии с модифицированной схемой увеличения доз по Фибоначчи (с постепенным снижением коэффициента увеличения дозы: 100 %, 67 %, 50 %). Учитывали, что соединение GRS не вызывает гибели лабораторных животных, не проявляет токсического действия при десятикратном увеличении дозы, не обладает мутагенными, иммунотоксическими и аллергенными свойствами [7].

Соединение GRS не изменяет активность основных изоферментов цитохрома P450 в микросомах печени человека. Это свидетельствует о низкой вероятности межлекарственных фармакокинетических взаимодействий препарата Граник® и безопасности его применения в комбинированной лекарственной терапии. Вещество GRS достигает равновесной концентрации в плазме крыс через 7 дней после начала введения и не кумулирует [10]. На основании доклинических данных и для обеспечения безопасности участников клинического исследования продолжительность приема препарата Граник® по протоколу составила 7 дней с однократным суточным дозированием.

Клинический этап исследования

Переносимость препарата оценивалась как хорошая, удовлетворительная или неудовлетворительная на основе субъективных данных от добровольцев.

Безопасность препарата Граник® характеризовали на основании данных о частоте и выраженности любых нежелательных явлений (НЯ), включая изменения результатов лабораторных анализов, данных электрокардиографии, физикального обследования и показателей жизненно важных функций (температура тела, артериальное давление, частота сердечных сокращений и дыхательных движений).

В ходе клинического исследования определяли фармакокинетические параметры действующего вещества препарата Граник® – производного индолинона GRS после многократного применения. Сроки отбора проб крови устанавливали на основе данных доклинического исследования и с учетом требований, предъявляемых к оценке фармакокинетики [11].

В первый и седьмой дни исследования до приема препарата Граник® (0 ч) и через 0,17; 0,33; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 3; 4; 6; 8; 12 и 23,83 ч после приема отбирали по 6 мл крови из локтевой вены. В пятый и шестой дни у добровольцев утром за 5 мин до приема препарата получали образцы крови с целью определения равновесной концентрации вещества GRS.

Кровь помещали в пробирки с этилендиаминтетраацетатом, центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин для отделения плазмы, затем плазму разделяли на две аликвоты (образцы для основного анализа и архивные образцы). Плазму в пробирках типа «эппендорф» замораживали в вертикальном положении и хранили при температуре не выше –75 ± 5 °C до проведения анализа.

Аналитический этап исследования

Концентрацию производного индолинона GRS в образцах плазмы добровольцев определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе 1260 Infinity (Agilent Technologies, США) с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС) QTRAP 4500 (AB Sciex Pte. Ltd., США). В качестве внешнего стандарта использовали стандартный образец GRS (содержание действующего вещества 99,61 %). Подготовку проб проводили методом жидкостно-жидкостной экстракции ацетонитрилом с последующим высаливанием экстрагента. Степень извлечения субстанции GRS из плазмы составила около 72 %. Детектировали MRM-переход m/z 298,3 → 183,1, для подтверждения был выбран MRM-переход m/z 298,3 → 155,9. Использовали колонку ProntoSIL-120-5-C18 AQ, 75 × 2 мм (ООО ИХ «ЭкоНова», Россия). Хроматографический анализ выполняли в режиме изократического элюирования: для ионизации протонами использовали 0,1%-й раствор муравьиной кислоты (подвижная фаза А – 15 %), в качестве растворителя с большей элюирующей силой – ацетонитрил (фаза Б – 85 %).

Разработанная ВЭЖХ-МС/МС-методика количественного определения вещества GRS в плазме человека валидирована в соответствии с требованиями Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза (утверждены решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 85). Валидационные параметры методики включали специфичность, линейность в диапазоне концентраций 0,01–1000 нг/мл, повторяемость, внутрилабораторную прецизионность (величины относительного стандартного отклонения и относительной погрешности – не более 15 %). Нижний предел количественного определения составлял 0,01 нг/мл, диапазон значений правильности – 85–115 %. Перенос сигнала от вещества GRS в холостой образец отсутствовал.

После многократного приема препарата Граник® определяли максимальную концентрацию производного индолинона GRS в плазме каждого добровольца (C_{max}) и рассчитывали время ее достижения (T_{max}), площадь под кривой «концентрация – время» от момента приема препарата до последней определяемой концентрации во временной точке t ($AUC_{(0-t)}$), площадь под кривой «концентрация – время» от момента приема препарата до бесконечности ($AUC_{(0-\infty)}$), период полуэлиминации ($T_{1/2}$), константу скорости терминальной элиминации (k_{el}), среднее время удерживания вещества в плазме (Mean Residence Time, MRT), кажущийся объем распределения (V_d/F), кажущийся общий клиренс (Cl/F) и коэффициент накопления (A_r) как отношение показателя $AUC_{(0-t)}$ на седьмой и первый день приема препарата.

Статистический этап исследования

Результаты клинического исследования анализировали статистически с использованием языка программирования R v.3.5 (Revolution Analytics, США). Соответствие количественных показателей нормальному закону распределения характеризовали согласно *W*-критерию Шапиро – Уилка. В случае соответствия нормальному распределению показатели сравнивали с помощью *t*-критерия Стьюдента или дисперсионного анализа (в зависимости от решаемой задачи). При несоответствии данных нормальному распределению для сравнения показателей применяли непараметрические *U*-критерий Манна – Уитни или *H*-критерий Краскела – Уоллиса. Качественные данные представляли в виде частот и долей. Для их сравнения использовали критерий χ-квадрат или *F*-критерий Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании с многократным приемом препарата Граник® было зарегистрировано 5 НЯ. В дозе 40 мг препарат вызывал эритроцитурию у двух добровольцев. После приема плацебо у трех участников исследования появились головная боль, протеинурия и эритроциты в моче (таблица 1). Все НЯ разрешились в ходе клинического исследования. При приеме препарата Граник® в дозах 20 и 60 мг НЯ не регистрировались. Другие показатели, характеризующие здоровье добровольцев, не изменялись.

Препарат Граник® при многократном приеме здоровыми добровольцами продемонстрировал хорошую переносимость и безопасность в диапазоне доз 20–60 мг (1–3 возможные терапевтические дозы).

Таблица 1. Распределение нежелательных явлений по системно-органным классам при многократном приеме препарата Граник®

Table 1. Distribution of adverse events by system organ classes after multiple administrations of the Granik® drug

Дозы препарата Doses of the drug	**Системно-органный класс** System organ class	**Нежелательное явление** Adverse event	**Количество нежелательных явлений** Number of adverse events
40 мг 40 mg	Нарушения со стороны почек и мочевыводящих путей Renal and urinary tract disorders	Эритроциты в моче (4–5 в поле зрения) Red blood cells in urine (4–5 per field of view)	1 (20 %)
		Эритроциты в моче (7–8 в поле зрения) Red blood cells in urine (7–8 per field of view)	1 (20 %)
Плацебо Placebo	Нарушения со стороны почек и мочевыводящих путей Renal and urinary tract disorders	Протеинурия (белок в моче – 0,5620 г/л) Proteinuria (protein in urine – 0.5620 g/L)	1 (20 %)
		Эритроциты в моче (9–12 в поле зрения) Red blood cells in urine (9–12 per field of view)	1 (20 %)
	Нарушения со стороны нервной системы Nervous system disorders	Головная боль в височных областях Temporal headache	1 (20%)

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

В аналогичном клиническом исследовании по оценке безопасности стимулятора рГЦ риоцигуата из 45 участников испытаний 24 (53 %) сообщили по крайней мере об одном НЯ (головная боль, ортостатическая гипотензия). Частота НЯ зависела от дозы [6]. В исследовании с многократным приемом препарат Граник® в дозе 40 мг НЯ в виде появления эритроцитов в моче было выявлено только у двух добровольцев.

При многократном приеме препарата Граник® в дозе 20 мг значения максимальной концентрации (C_{max}) производного индолинона GRS в первый и седьмой дни статистически значимо не различались (p-value = 0,932). Аналогичные результаты были получены для доз 40 мг (p-value = 0,590) и 60 мг (p-value = 0,514) (рисунок 2). Эти результаты подтверждают установленную в доклинических исследованиях информацию об отсутствии материальной кумуляции вещества GRS.

Межгрупповое сравнение концентраций производного индолинона GRS в плазме здоровых добровольцев, принимавших препарат Граник® в различных дозах, показало статистически значимые различия только в первый день (p-value = 0,026). В группе, принимавшей препарат в дозе 60 мг, максимальная концентрация производного индолинона GRS в плазме была выше, чем при его приеме в дозах 20 и 40 мг. На седьмой день статистически значимые различия между тремя группами не отмечались (p-value = 0,095).

Максимальная концентрация субстанции GRS (C_{max}) в плазме достигалась в среднем за 0,5–1,5 ч (таблица 2), что указывает на быструю абсорбцию.

Минимальная концентрация производного индолинона GRS на пятый и шестой дни приема препарата Граник® в дозе 60 мг составляла 10,60 (5,05; 19,56) и 9,49 (13,50; 25,29) нг/мл соответственно. Статистически значимые различия у добровольцев не выявлялись (p-value = 0,740). Следовательно, концентрация вещества GRS в плазме достигала равновесного состояния.

При многократном приеме препарата Граник® в дозах 20 и 40 мг кажущийся объем распределения (Vd/F) составлял 117,93 (71,70; 177,64) и 409,54 (175,15; 560,60) л соответственно, что свидетельствует о способности вещества GRS хорошо проникать в ткани. Высокий кажущийся общий клиренс (Cl/F) при приеме препарата в дозах 20 и 40 мг подтверждает быструю элиминацию производного индолинона GRS из плазмы. Среднее время удерживания вещества в плазме (MRT) не превышало 4 ч. Таким образом, после приема препарата Граник® в дозах 20 и 40 мг субстанция GRS кратковременно находилась в плазме (таблица 2).

Производное индолинона GRS при приеме препарата Граник® в дозе 60 мг в течение 7 дней длительно сохранялось в плазме, об этом свидетельствуют следующие фармакокинетические параметры: период полуэлиминации ($T_{1/2}$) – 24,61 ± 10,40 ч, константа скорости терминальной элиминации (k_{el}) – 0,03 ± 0,01 $ч^{-1}$, среднее время удерживания вещества в плазме (MRT) – 10,64 ± 1,31 ч. Невысокие кажущийся общий клиренс (Cl/F) и кажущийся объем распределения (V_d/F) подтверждают длительное нахождение вещества GRS в плазме добровольцев (таблица 2).

Таблица 2. Фармакокинетические параметры производного индолинона GRS в первый и седьмой день после приема препарата Граник® в дозах 20 мг, 40 мг и 60 мг 1 раз в день [*n* = 12]

Table 2. Summary table of the pharmacokinetic parameters of the indolinone derivative GRS after multiple administrations of the Granik® drug at doses of 20 mg, 40 mg, and 60 mg once daily on Day 1 and Day 7 [*n* = 12]

Фармакокинетический параметр Pharmacokinetic parameter	Многократный прием Multiple dose					
	20 мг, когорта 1 20 mg, cohort 1		40 мг, когорта 2 40 mg, cohort 2		60 мг, когорта 3 60 mg, cohort 3	
	День 1 Day 1	День 7 Day 7	День 1 Day 1	День 7 Day 7	День 1 Day 1	День 7 Day 7
C_{max}, нг/мл C_{max}, ng/mL	13,82 ± 5,80	15,31 ± 8,06	19,20 ± 11,65	17,14 ± 9,02	54,32 ± 46,01	37,16 ± 26,59
T_{max}, ч T_{max}, h	1,13 (0,75; 1,25)	0,88 (0,50; 1,25)	1,00 (0,75; 1,31)	1,00 (0,69; 1,06)	1,50 (1,00; 2,25)	1,25 (0,94; 1,50)
$AUC_{(0-t)}$, нг · ч/мл $AUC_{(0-t)}$, ng · h/mL	42,07 ± 21,78	55,29 ± 53,02	45,34 ± 22,37	40,03 ± 17,23	402,08 ± 280,58	432,22 ± 394,23
$AUC_{(0-\infty)}$, нг · ч/мл $AUC_{(0-\infty)}$, ng · h/mL	49,43 ± 24,56	44,84 ± 16,32	70,71 ± 41,68	47,35 ± 21,41	1308,94 ± 859,11	4656,45 ± 4160,59
k_{el}, $ч^{-1}$ k_{el}, h^{-1}	0,26 ± 0,13	0,24 ± 0,12	0,25 ± 0,12	0,36 ± 0,19	0,04 ± 0,03	0,03 ± 0,01
$T_{1/2}$, ч $T_{1/2}$, h	3,55 ± 1,97	4,34 ± 3,61	13,12 ± 31,17	3,69 ± 5,09	27,50 ± 14,50	24,61 ± 10,40
MRT, ч MRT, h	3,41 ± 1,26	4,42 ± 2,31	2,95 ± 1,13	3,35 ± 1,78	10,64 ± 2,71	10,64 ± 1,31
V_d/F, л V_d/F, L	96,19 (79,37; 197,25)	117,93 (71,70; 177,64)	202,55 (151,88; 257,35)	409,54 (175,15; 560,60)	3,47 (1,59; 6,49)	2,25 (2,03; 2,66)
Cl/F, л/ч Cl/F, L/h	437,04 (375,47; 938,41)	454,03 (379,54; 675,20)	833,13 (697,03; 1223,77)	1033,60 (831,69; 1603,42)	217,39 (105,83; 285,28)	140,57 (88,66; 956,38)
A_r	1,07 (0,93; 1,30)		0,75 (0,64; 1,11)		0,79 (0,36;1,09)	

Примечание. Для всех параметров, кроме T_{max} и A_r, приведены значения Mean ± SD (Mean – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, *n* – размер выборки). Для параметра T_{max} и A_r приведены значения Median (Q_1; Q_3) (Median – медиана, Q_1 – первый квартиль, Q_3 – третий квартиль).

Note. For all parameters, except for T_{max} and A_r, the values Mean ± SD are given (Mean is the arithmetic mean, SD is the standard deviation, *n* is the sample size). For the T_{max} and A_r parameter, the values Median (Q_1; Q_3) are given (Median is the median, Q_1 is the first quartile, Q_3 is the third quartile).

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

В доклинических исследованиях было показано, что вещество GRS является субстратом гликопротеина P. При приеме препарата Граник® молекулы GRS могут насыщать данный трансмембранный транспортер. С этим, вероятно, связан нелинейный характер фармакокинетики разрабатываемого лекарственного средства.

Коэффициент накопления производного индолинона GRS (A_r) статистически значимо не различался в зависимости от дозы (*p*-value = 0,180). Эти результаты подтверждают данные экспериментов об отсутствии кумулятивных свойств у производного индолинона GRS [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При приеме препарата Граник® в течение 7 дней вещество GRS не подвергается материальной кумуляции, хорошо переносится участниками исследования и вызывает НЯ лишь в единичных случаях. При приеме препарата Граник® в дозе 60 мг системная экспозиция и период полуэлиминации вещества GRS из плазмы добровольцев были значительно выше, чем при приеме препарата в дозах 20 и 40 мг. Полученные результаты позволяют перейти к следующей фазе клинического исследования препарата Граник®.

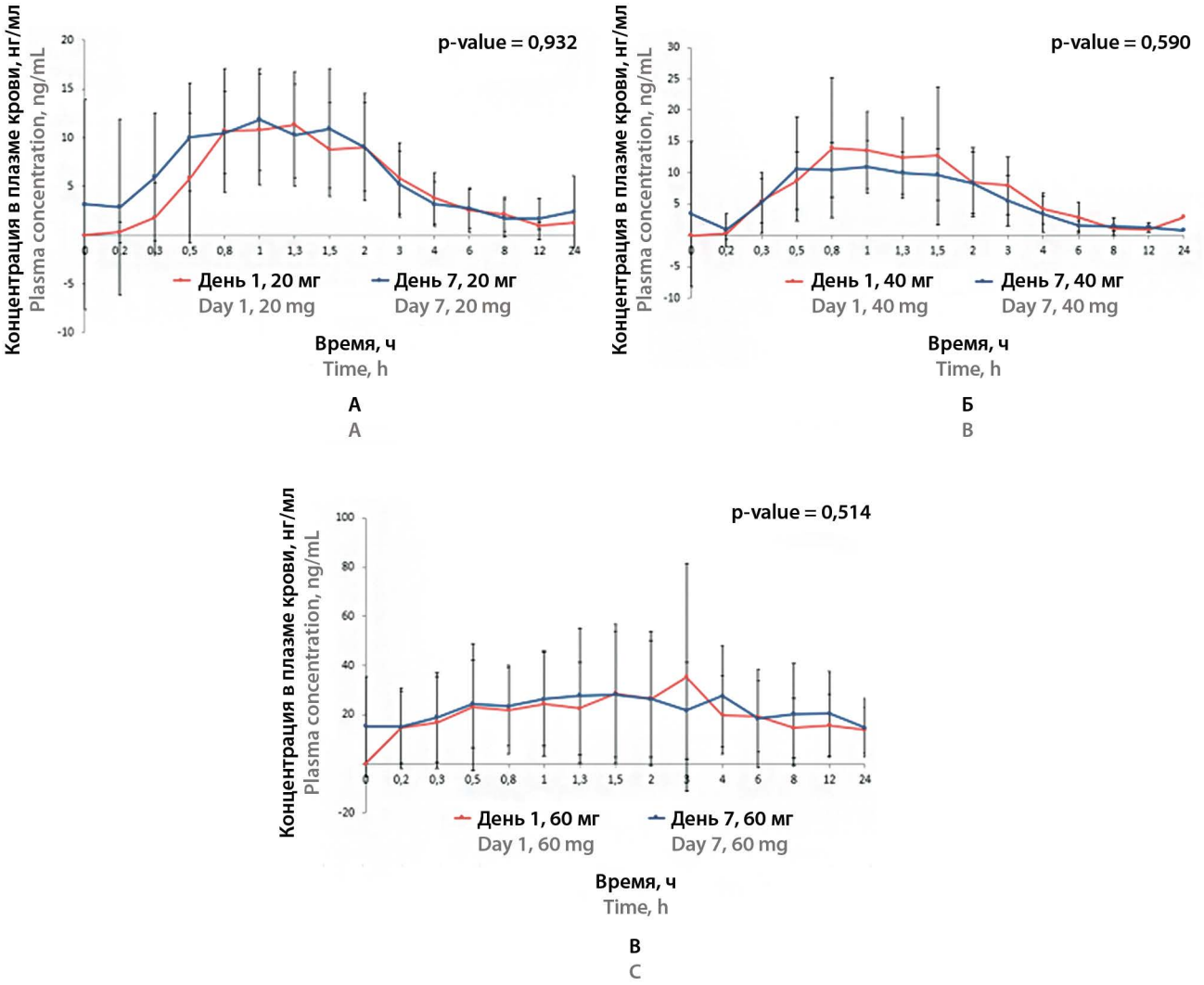


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Усредненные фармакокинетические профили (в линейных координатах) производного индолинона GRS после многократного приема препарата Граник® в первый и седьмой дни:

А – доза 20 мг; Б – доза 40 мг; В – доза 60 мг

Figure 2. Average pharmacokinetic profiles (on a linear scale) of the indolinone derivative GRS after multiple administrations of the Granik® drug on Day 1 and Day 7:

A – dose 20 mg; B – dose 40 mg; C – dose 60 mg

ЛИТЕРАТУРА

1. Хисматуллин Р. Р., Литвинов Р. И. Современные представления о патогенезе тромбозов различной этиологии. *Казанский медицинский журнал*. 2024;105(1):99–109. https://doi.org/10.17816/KMJ497349
2. Serebruany V., Cherepanov V., Fortmann S., Kim M. H. Mortality and oral anticoagulants in the Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. *Open Heart*. 2017;4(2):e000629. https://doi.org/10.1136/openhrt-2017-000629
3. Сумароков А. Б., Бурячковская Л. И., Учитель И. А. Кровотечения у больных с ишемической болезнью сердца при проведении терапии антиагрегантами. *КардиоСоматика*. 2011;2(3):29–34.
4. Кобалава Ж. Д., Лазарев П. В. Значение сигнального пути «оксид азота – растворимая гуанилатциклаза – циклический гуанозинмонофосфат» в патогенезе сердечной недостаточности и поиске новых терапевтических мишеней. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(6):3035. https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-3035

5. Humbert M., Coghlan J. G., Ghofrani H.-A., Grimminger F., He J.-G., Riemekasten G., Vizza C. D., Boeckenhoff A., Meier C., de Oliveira Pena J., Denton C. P. Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease: results from PATENT-1 and PATENT-2. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017;76(2):422–426. https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-209087
6. Frey R., Mück W., Unger S., Artmeier-Brandt U., Weimann G., Wensing G. Single-dose pharmacokinetics, pharmacodynamics, tolerability, and safety of the soluble guanylate cyclase stimulator BAY 63-2521: an ascending-dose study in healthy male volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2008;48(8):926–934. https://doi.org/10.1177/0091270008319793
7. Ghofrani H.-A., Galiè N., Grimminger F., Grünig E., Humbert M., Jing Z.-C., Keogh A. M., Langleben D., Kilama M. O., Fritsch A., Neuser D., Rubin L. J. Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(4):330–340. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1209655
8. Быков В. В., Быкова А. В., Дзюман А. Н., Иванов В. В., Хазанов В. А., Венгеровский А. И., Удут В. В. Противоатеросклеротическое действие нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы в эксперименте. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022;174(9):319–323. https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-174-9-319-323
9. Быков В. В., Быкова А. В., Станкевич С. А., Алиев О. И., Сидехменова А. В., Дунаева О. И., Хазанов В. А., Венгеровский А. И., Удут В. В. Фармакологические эффекты нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы при экспериментальной легочной артериальной гипертензии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):14–22. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22
10. Быков В. В., Быкова А. В., Алиев О. И., Станкевич С. А., Хазанов В. А., Венгеровский А. И., Удут В. В. Влияние нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы на агрегацию тромбоцитов и функции сосудистого эндотелия при экспериментальном ишемическом инсульте на фоне артериальной гипертензии. *Артериальная гипертензия*. 2022;28(6):710–717. https://doi.org/10.18705/1607-419X-2022-28-6-710-717
11. Bykov V. V., Leonov K. A., Serebrov V. Yu., Chernysheva G. A., Smol'yakova V. I., Solov'ev M. A., Udut E. V., Fisenko V. P., Udut V. V. Metabolism of a New Antiaggregant, Indolinone Derivative. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020;168(6):739–742. https://doi.org/10.1007/s10517-020-04792-y
12. Быков В. В., Леонов К. А., Серебров В. Ю., Удут В. В. Фармакокинетика циркулирующего пула антиагреганта индолинонового ряда. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2019;3:44–51. https://doi.org/10.31549/2542-1174-2019-3-44-51

REFERENCES

1. Khismatullin R. R., Litvinov R. I. Modern concepts about the pathogenesis of thrombosis of various etiologies. *Kazan Medical Journal*. 2024;105(1):99–109. (In Russ.) https://doi.org/10.17816/KMJ497349
2. Serebruany V., Cherepanov V., Fortmann S., Kim M. H. Mortality and oral anticoagulants in the Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. *Open Heart*. 2017;4(2):e000629. https://doi.org/10.1136/openhrt-2017-000629
3. Sumarokov A. B., Buryachkovskaya L. I., Uchitel I. A. Bleeding in patients with chd during antiplatelet therapy. *CardioSomatics*. 2011;2(3):29–34. (In Russ.)
4. Kobalava Zh. D., Lazarev P. V. Nitric oxide – soluble guanylate cyclase – cyclic guanosine monophosphate signaling pathway in the pathogenesis of heart failure and search for novel therapeutic targets. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(6):3035. (In Russ.) https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-3035
5. Humbert M., Coghlan J. G., Ghofrani H.-A., Grimminger F., He J.-G., Riemekasten G., Vizza C. D., Boeckenhoff A., Meier C., de Oliveira Pena J., Denton C. P. Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease: results from PATENT-1 and PATENT-2. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017;76(2):422–426. https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-209087
6. Frey R., Mück W., Unger S., Artmeier-Brandt U., Weimann G., Wensing G. Single-dose pharmacokinetics, pharmacodynamics, tolerability, and safety of the soluble guanylate cyclase stimulator BAY 63-2521: an ascending-dose study in healthy male volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 2008;48(8):926–934. https://doi.org/10.1177/0091270008319793
7. Ghofrani H.-A., Galiè N., Grimminger F., Grünig E., Humbert M., Jing Z.-C., Keogh A. M., Langleben D., Kilama M. O., Fritsch A., Neuser D., Rubin L. J. Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(4):330–340. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1209655
8. Bykov V. V., Bykova A. V., Dzyuman A. N., Ivanov V. V., Khazanov V. A., Vengerovsky A. I., Udut V. V. Anti-atherosclerotic action of a new soluble guanylate cyclase stimulator in an experiment. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022;174(9):319–323. (In Russ.) https://doi.org/10.47056/0365-9615-2022-174-9-319-323
9. Bykov V. V., Bykova A. V., Stankevich S. A., Aliev O. I., Sidekhmenova A. V., Dunaeva O. I., Khazanov V. A., Vengerovskii A. I., Udut V. V. Pharmacological effects of a new soluble guanylate cyclase stimulator in experimental pulmonary arterial hypertension. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):14–22. https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22
10. Bykov V. V., Bykova A. V., Aliev O. I., Stankevich S. A., Khazanov V. A., Vengerovsky A. I., Udut V. V. Influence of a new stimulator of soluble guanylate cyclase on platelet aggregation and vascular endothelial function in experimental ischemic stroke against the background of arterial hypertension. *Arterial Hypertension*. 2022;28(6):710–717. (In Russ.) https://doi.org/10.18705/1607-419X-2022-28-6-710-717
11. Bykov V. V., Leonov K. A., Serebrov V. Yu., Chernysheva G. A., Smol'yakova V. I., Solov'ev M. A., Udut E. V., Fisenko V. P., Udut V. V. Metabolism of a New Antiaggregant, Indolinone Derivative. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020;168(6):739–742. https://doi.org/10.1007/s10517-020-04792-y
12. Bykov V. V., Leonov K. A., Serebrov V. Yu., Udut V. V. Pharmacokinetics of an antiplatelet drug of indolinone series in the bloodstream. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2019;(3):44–51. https://doi.org/10.31549/2542-1174-2019-3-44-51

Оригинальная статья / Research article

УДК 612.461.2; 612.463.1

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2344

Check for updates

CC BY 4.0

Сравнительная нефропротективная эффективность производных малоновой кислоты (этмабена и малобена) при ишемически-реперфузионном повреждении почек у крыс

А. Ю. Гришина✉, **Ю. Э. Генералова**, **А. С. Иванов**, **И. А. Титович**, **Д. Ю. Ивкин**

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:** Гришина Анна Юрьевна. **E-mail:** grishina.anna@pharminnotech.com

Резюме

Введение. В данной работе оценивали нефропротекторный потенциал производных малоновой кислоты (ПМК) при остром и подостром повреждении почек ишемического генеза. Модель преренальной недостаточности воспроизводили путем 60-минутной тепловой ишемии почки.

Цель. Изучение нефропротекторного эффекта ПМК при почечной недостаточности ишемического генеза в остром и подостром периодах.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на модели тепловой ишемии почки, вызванной окклюзией правой почечной артерии на 60 мин. В ходе месячного курса монотерапии сравнивали эффекты 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил) амино]бензойной кислоты (этмабен, 60 мг/кг) и 4,4'-(пропандиамидо)дибензоата натрия (малобен, 60 мг/кг) с препаратом сравнения – этилметилгидроксипиридина сукцинатом (Мексидол®, 50 мг/кг). Для оценки функции почек на 3-и и 30-е сутки после ишемии анализировали концентрацию креатинина и мочевины в сыворотке крови, скорость клубочковой фильтрации (СКФ), клиренс креатинина и уровень экскреции электролитов, экспрессию генов антиоксидантной защиты, а также провели гистологическое исследование.

Результаты и обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о выраженной эффективности ПМК в терапии острого ишемического повреждения почек. В группе животных, получавших этмабен, наблюдалось статистически значимое снижение сывороточных уровней креатинина и мочевины, а также увеличение скорости клубочковой фильтрации при отсутствии заметного влияния на диурез. Малобен, в свою очередь, оказывал более выраженное влияние на диурез и экскрецию электролитов в остром периоде. Оба исследуемых соединения продемонстрировали способность улучшать экскреторную функцию почек, что проявлялось в усилении выведения креатинина и уменьшении тяжести олигоанурической фазы острой нефропатии.

Заключение. Выявлено, что изучаемые препараты активируют экскреторную функцию почек, способствуют нормализации клиренса креатинина и ослаблению проявлений острого олигоанурического синдрома, стабилизируя состояние животных с острым почечным повреждением.

Ключевые слова: креатинин, HIF1a, почечное повреждение, ишемия, 4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино]бензойная кислота, 4,4'-(пропандиамидо)дибензоат натрия, этилметилгидроксипиридина сукцинат

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

Вклад авторов. Д. Ю. Ивкин – идея и планирование эксперимента, подготовка и редактирование рукописи, курирование проекта, утверждение окончательного варианта рукописи. А. Ю. Гришина – проведение хирургических вмешательств, введение препаратов, анализ данных, написание черновика рукописи, биохимический анализ крови, подготовка и редактирование рукописи. Ю. Э. Генералова – проведение элементного анализа мочи и крови. А. С. Иванов – молекулярно-биологический анализ (ПЦР RT). И. А. Титович – курирование проекта, редактирование рукописи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием ресурсов ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

© Гришина А. Ю., Генералова Ю. Э., Иванов А. С., Титович И. А., Ивкин Д. Ю., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Grishina A. Yu., Generalova J. E., Ivanov A. S., Titovich I. A., Ivkin D. Yu., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Гришина А. Ю., Генералова Ю. Э., Иванов А. С., Титович И. А., Ивкин Д. Ю. Сравнительная нефропротективная эффективность производных малоновой кислоты (этмабена и малобена) при ишемически-реперфузионном повреждении почек у крыс. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):227–240. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2344

Поступила в редакцию: 17.04.2026
Поступила после рецензирования: 22.05.2026
Принята к публикации: 31.07.2026

Comparative nephroprotective efficacy of malonic acid derivatives (etmaben and maloben) in renal ischemia-reperfusion injury in rats

Anna Yu. Grishina✉, **Julia E. Generalova**, **Artem S. Ivanov**, **Irina A. Titovich**, **Dmitry Yu. Ivkin**

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Anna Yu. Grishina. **E-mail:** grishina.anna@pharminnotech.com

Abstract

Introduction. This study assessed the nephroprotective potential of malonic acid derivatives (MADs) in acute and subacute ischemic renal injury. A model of prerenal failure was simulated using 60-minute warm renal ischemia.

Aim. To study the nephroprotective effect of MADs in acute and subacute ischemic renal failure.

Materials and methods. The experiment was conducted using a model of warm renal ischemia induced by 60-minute occlusion of the right renal artery. During a month-long monotherapy course, the effects of 4-[(3-ethoxy-3-oxopropanoyl) amino]benzoic acid (etmaben, 60 mg/kg) and sodium 4,4'-(propanediamido)dibenzoate (maloben, 60 mg/kg) were compared with the reference drug, ethylmethylhydroxypyridine succinate (Mexidol®, 50 mg/kg). To assess renal function on days 3 and 30 after ischemia, serum creatinine and urea concentrations, glomerular filtration rate (GFR), creatinine clearance, electrolyte excretion rate, and antioxidant gene expression were analyzed, and histological examination was performed.

Results and discussion. The obtained data indicate the significant efficacy of MADs in the treatment of acute ischemic kidney injury. In the group of animals receiving etmaben, a statistically significant decrease in serum creatinine and urea levels, as well as an increase in glomerular filtration rate, was observed, with no significant effect on diuresis. Maloben, in turn, had a more pronounced effect on diuresis and electrolyte excretion during the acute period. Both studied compounds demonstrated the ability to improve renal excretory function, manifested by increased creatinine elimination and a reduction in the severity of the oligoanuric phase of acute nephropathy.

Conclusion. It was found that the studied drugs activate renal excretory function, contribute to the normalization of creatinine clearance and the attenuation of the manifestations of acute oligoanuric syndrome, stabilizing the condition of animals with acute kidney injury.

Keywords: creatinine, HIF1a, renal injury, ischemia, 4-[(3-ethoxy-3-oxopropanoyl)amino]benzoic acid, sodium 4,4'-(propanediamido) dibenzoate, ethylmethylhydroxypyridine succinate

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

Contribution of the authors. Dmitry Yu. Ivkin – study conception and design, manuscript writing and editing, project supervision, approval of the final version of the manuscript. Anna Yu. Grishina – surgical interventions, drug administration, data collection and analysis, blood biochemical analysis, draft manuscript writing, manuscript writing and editing. Julia E. Generalova – urine and blood elemental analysis. Artem S. Ivanov – molecular biological analysis (RT-PCR). Irina A. Titovich – project supervision, approval of the final version of the manuscript.

Funding. The results were obtained using the resources of the Shared Core Facility "Analytical Center of Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Russia" under Agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021, with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

For citation: Grishina A. Yu., Generalova J. E., Ivanov A. S., Titovich I. A., Ivkin D. Yu. Comparative nephroprotective efficacy of malonic acid derivatives (etmaben and maloben) in renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Drug development & registration*. 2026;15(3):227–240. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2344

Received: 17.04.2026
Revised: 22.05.2026
Accepted: 31.07.2026

ВВЕДЕНИЕ

Острое почечное повреждение (ОПП) является жизнеугрожающим синдромом, характеризующимся быстрым снижением функции почек, летальность при котором может достигать 50 % [1, 2]. Распространенность ОПП в популяции составляет 181–288 случаев на 100 000 населения, что подчеркивает актуальность поиска эффективных методов фармакологической коррекции [3]. Одной из частых причин развития ОПП является ишемически-реперфузионное повреждение (ИРП), возникающее при временном прекращении почечного кровотока с последующим его восстановлением [4].

Патогенез ИРП представляет собой сложный каскад взаимосвязанных процессов. Важную роль в повреждении тканей играет генерация активных форм кислорода (АФК) в начальный период реперфузии [5]. Согласно современным представлениям, заметный вклад в этот процесс вносит сукцинат. Показано, что в период ишемии происходит его накопление в тканях, а при реперфузии быстрое окисление сукцината сукцинатдегидрогеназой (СДГ) приводит к генерации АФК вследствие обратного транспорта электронов в митохондриальном комплексе I [6, 7]. Данный механизм рассматривается как перспективная терапевтическая мишень для защиты почек от ИРП [8].

В связи с этим особый интерес представляют соединения, способные модулировать сукцинатзависимые сигнальные пути. Производные малоновой кислоты (ПМК) могут конкурентно ингибировать СДГ и рассматриваются как потенциальные регуляторы энергетического метаболизма [9]. Ранее было показано, что ПМК способны влиять на активность антиоксидантных ферментов и процессы окислительного фосфорилирования, что определяет перспективность их изучения в условиях ишемии [10, 11].

В настоящем исследовании рассматриваются два соединения из класса ПМК. Этмабен (4-[(3-этокси-3-оксопропаноил)амино]бензойная кислота) ранее продемонстрировал кардиопротекторные свойства на моделях инфаркта миокарда, что позволяет предположить его эффективность и при ишемическом повреждении почек [12]. Малобен (4,4′-(пропандиамидо)дибензоат натрия) проявляет гепатопротекторную активность и способен блокировать рецептор сукцината SUCNR1, опосредующий провоспалительные эффекты [13]. Учитывая, что накопление сукцината является общим патогенетическим звеном для различных ишемических состояний, оба соединения представляют интерес для терапии ОПП.

Целью настоящего исследования стало изучение нефропротекторного эффекта ПМК (этмабена и малобена) при ИРП почек у крыс в остром и подостром периодах в сравнении с эталонным антиоксидантом этилметилгидроксипиридина сукцинатом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы аутбредные крысы-самцы массой 318 ± 8,5 г, полученные из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область). Все животные содержались в стандартизированных условиях вивария при свободном доступе к полнорационному гранулированному корму и воде *ad libitum*. Содержание и все процедуры с животными соответствовали требованиям СанПиН 3.3686-21, правилам надлежащей лабораторной практики ЕАЭС и были одобрены комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (протокол № Rats-01-2024 от 03.10.2024 г.).

Экспериментальные группы

Животные были рандомизированы на 5 групп по 10 животных.

1 группа – Интактная;

2 группа – Почечная ишемия в течение 60 мин + вода очищенная;

3 группа – Почечная ишемия в течение 60 мин + малобен 60 мг/кг (синтезирован отделом органического синтеза ФГБОУ ВО СПХФУ);

4 группа – Почечная ишемия в течение 60 мин + этмабен 60 мг/кг (синтезирован отделом органического синтеза ФГБОУ ВО СПХФУ);

5 группа – Почечная ишемия в течение 60 мин + 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) (Мексидол®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 125 мг, производства «Фармасофт», Россия, серия 3331123, срок годности до 10.2026) 50 мг/кг.

Все препараты вводили внутрижелудочно с помощью зонда 27G с оливой на конце 1 раз в сутки в течение 30 дней, начиная сразу после восстановления кровотока. Животные группы 2 (патология без лечения) получали очищенную воду в эквивалентном объеме по той же схеме.

Моделирование ишемического повреждения

После внутримышечного введения анестезии (золазепама гидрохлорид 0,5 мг/кг + ксилазин 0,1 мл/кг) животным выполняли срединную лапаротомию. Производили скелетирование правой почечной ножки с выделением почечной артерии. Ишемию почки вызывали путем наложения микрососудистого зажима только на почечную артерию продолжительностью 60 мин. Успешность окклюзии подтверждалась появлением пурпурного окрашивания почки. Левая (контралатеральная) почка оставалась интактной на протяжении всего эксперимента для оценки системного влияния терапии и максимального приближения модели к клинической реальности (одностороннее поражение). После снятия зажима визуально контролировали восстановление кровотока (возвращение

почки к нормальному цвету). Антикоагулянты не использовались. Операцию завершали послойным ушиванием передней брюшной стенки отдельными узловыми викриловыми швами.

Сбор биологического материала

На 3-и и 30-е сутки после операции животных помещали в метаболические клетки для сбора суточной мочи с последующим измерением ее объема и проведением анализа. Взятие крови для биохимического исследования осуществляли в те же временные точки. На 31-е сутки после завершения сбора мочи и крови животных выводили из эксперимента с последующей некропсией и забором почечной ткани для гистологического и молекулярно-биологического анализа.

Биохимический анализ крови и мочи

Концентрацию креатинина, мочевины и щелочной фосфатазы в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе ERBA XL-100 (Erba Lachema, Чехия). Уровень электролитов (натрий, калий) и креатинина в моче и плазме измеряли методом капиллярного электрофореза на системе «КАПЕЛЬ-105». Общий анализ мочи проводили полуколичественным методом с использованием тест-полосок UrineRS H10 на анализаторе CL-50 Plus (оценивали белок, лейкоциты, относительную плотность, pH). Микроскопию осадка мочи выполняли для выявления кристаллов и клеточных элементов.

Расчет функциональных показателей почек

Скорость клубочковой фильтрации (СКФ), почечную экскрецию электролитов и фракционную экскрецию натрия (FENa) рассчитывали по стандартным формулам с использованием показателей диуреза, концентрации креатинина и электролитов в плазме и моче.

Гистологическое исследование

Фрагменты почечной ткани фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине, подвергали стандартной гистологической проводке с обезвоживанием в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Срезы толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопию и фоторегистрацию препаратов проводили при увеличениях ×200.

Полимеразно-цепная реакция в реальном времени

Экспрессию генов оценивали в гомогенатах почечной ткани, полученных на 30-е сутки. Выделение РНК проводили с использованием реактива «Лира» (ООО «Биолабмикс», Россия) с последующей очисткой от геномной ДНК термолабильной ДНКазой и осаждением LiCl. Концентрацию и чистоту РНК оценивали на нанофотометре Implen (Германия). Обратную транскрипцию выполняли с помощью набора MMLV-RT-Kit (ЗАО «Евроген», Россия) с 1 мкг тотальной РНК на реакцию. ПЦР-РВ проводили на термоциклере QuantStudio 5 (Applied Biosystems, Inc., США) с использованием набора 5X qPCRmix-HS SYBR (ЗАО «Евроген», Россия). Был выполнен анализ экспрессии генов HIF1a, Cpt1b, Glud1, Nrf2. Каждый образец анализировали в двух технических повторах. Уровень экспрессии целевых генов нормализовали к референсным генам и рассчитывали относительно интактной группы методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Фармакокинетическое исследование с ВЭЖХ-детектированием

Для подтверждения проникновения этмабена в ткань-мишень на 30-е сутки эксперимента проводили забор ткани почки через 30 мин после последнего внутрижелудочного введения. Выбор временной точки был обусловлен данными фармакокинетики: установлено, что при внутрижелудочном введении крысам в дозе 26 мг/кг период полувыведения ($T_{½}$) этмабена составляет 28 мин, а время достижения максимальной концентрации (T_{max}) находится в диапазоне 20–40 мин. Концентрацию этмабена определяли методом ВЭЖХ. Предел количественного определения метода составил 30 нг/мл.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета GraphPad Prism 10.1.0 (GraphPad Software, США). Нормальность распределения оценивали по критерию Колмогорова – Смирнова. Для сравнения групп при нормальном распределении применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с пост-хок-тестом Тьюки для множественных сравнений. Для данных с распределением, отличным от нормального, использовали критерий Краскела – Уоллиса с пост-хок-тестом Данна. Различия считали статистически значимыми при $p < 0{,}05$. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения (M ± SD).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выживаемость животных

Моделирование 60-минутной тепловой ишемии почки сопровождалось высокой летальностью в контрольной группе. К третьим суткам после операции в группе ТИП (ишемия) выживаемость составила 30 %. Терапевтическое вмешательство значимо повышало выживаемость: в группах, получавших малобен (60 мг/кг) и этмабен (60 мг/кг), этот показатель достиг 80 %, а в группе ЭМГПС (50 мг/кг) – 90 %. Все выжившие животные дожили до конечной точки эксперимента (30-е сутки).

Влияние терапии на функциональные показатели почек

Диурез и СКФ. На 3-и сутки (точка 1р) после операции минутный диурез во всех группах с ишемическим повреждением был достоверно снижен по сравнению с интактной группой ($p < 0,01$). В группах, получавших терапию, наблюдалась тенденция к увеличению диуреза относительно контроля, однако эти различия не достигали статистической значимости ($p > 0,05$). К 30-м суткам (точка 2р) эксперимента в группах лечения было зафиксировано статистически значимое восстановление диуреза. В группе малобена минутный диурез превышал показатель группы ТИП на 103 % ($p < 0,01$), в группе ЭМГПС – на 107 % ($p < 0,01$). В группе этмабена также наблюдалось увеличение диуреза, однако оно не достигало статистической значимости относительно группы ТИП ($p > 0,05$) (рисунок 1).

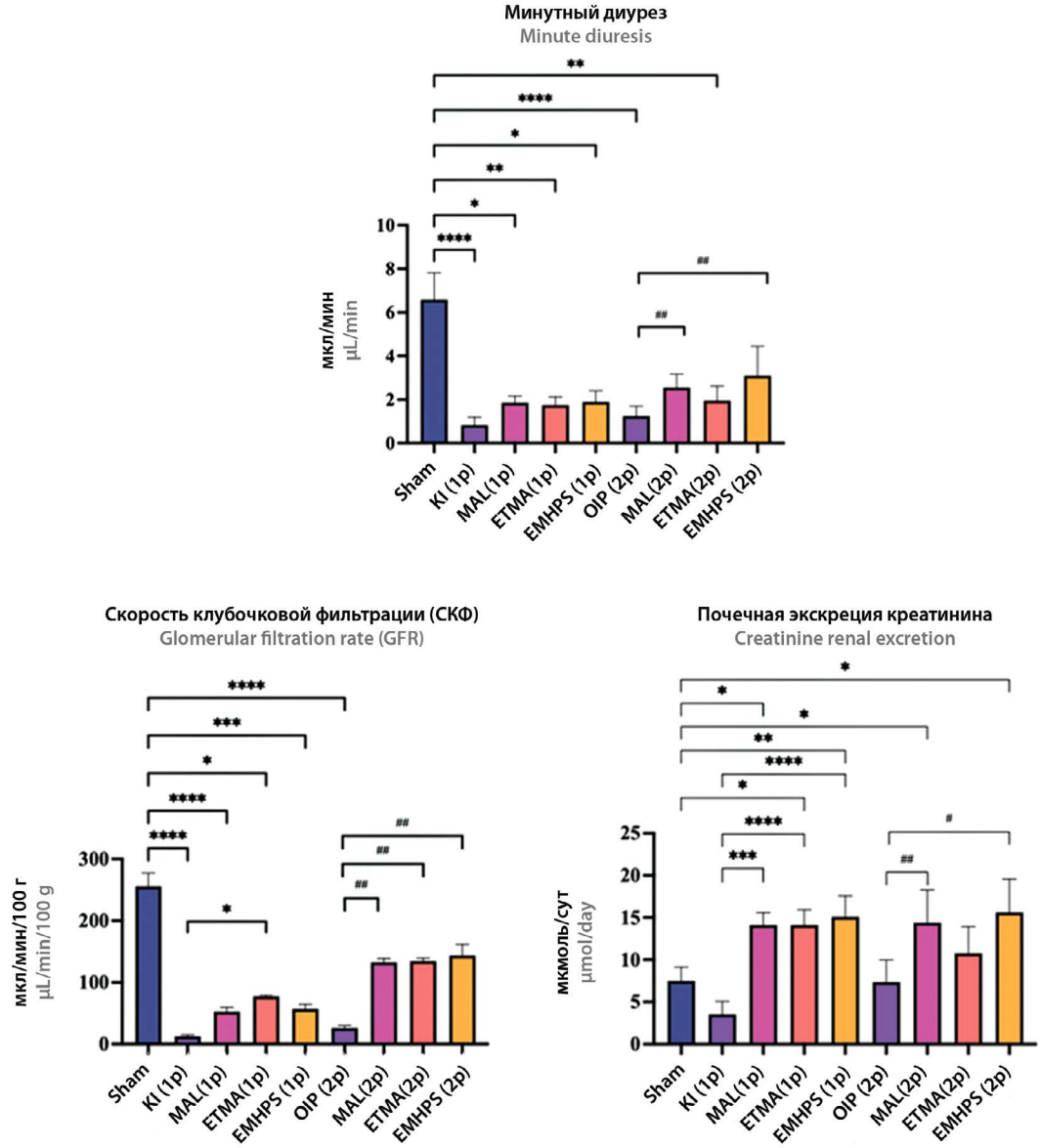


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Экскреция креатинина у крыс на 3-и (1р) и 30-е сутки (2р) после ишемии почки.

Sham – ложнооперированная группа; KI – группа патологии (ишемия); MAL – малобен (60 мг/кг); ETMA – этмабен (60 мг/кг); EMHPS – препарат сравнения ЭМГПС (50 мг/кг). Данные представлены как M ± SD

Figure 1. Creatinine excretion in rats on days 3 (1p) and 30 (2p) after renal ischemia.

Sham – sham-operated group; KI – ischemia-reperfusion injury (control); MAL – maloben (60 mg/kg); ETMA – etmaben (60 mg/kg); EMHPS – reference drug (50 mg/kg). Data are presented as mean ± SD

Анализ СКФ выявил нефропротективный эффект исследуемых соединений уже в остром периоде. На 3-и сутки в группах лечения отмечалось достоверное увеличение СКФ по сравнению с контролем: в группе малобена этот показатель был выше на 340 %, в группе этмабена – на 503 %, а в группе ЭМГПС – на 350 % ($p < 0,01$ для всех сравнений). К 30-м суткам эксперимента положительная динамика сохранялась, при этом наибольшее значение СКФ к концу исследования было отмечено в группе этмабена, где показатель превышал контрольный на 444 % ($p < 0,01$). Статистически значимых различий в СКФ между группами малобена, этмабена и ЭМГПС на 30-е сутки зафиксировано не было ($p > 0,05$).

Азотовыделительная функция и биохимические маркеры повреждения. Анализ биохимических показателей сыворотки крови подтвердил нефропротективный эффект исследуемых соединений. В контрольной группе ТИП на 3-и сутки наблюдалось статистически значимое повышение уровня креатинина и мочевины по сравнению с интактными животными ($p < 0,01$), что свидетельствует о развитии острого почечного повреждения. На фоне применения этмабена было зафиксировано статистически значимое снижение концентрации мочевины в сыворотке крови как на 3-и (на 38 %, $p < 0,01$), так и на 30-е сутки (на 35 %, $p < 0,01$) по сравнению с группой ТИП. К 30-м суткам эксперимента во всех группах лечения наблюдалась позитивная динамика: содержание креатинина в сыворотке крови достоверно снижалось, в то время как экскреция креатинина с мочой увеличивалась по сравнению с контролем ($p < 0,01$). Данная динамика свидетельствует о восстановлении скорости клубочковой фильтрации и улучшении выделительной функции почек под влиянием терапии. Дополнительным подтверждением нефропротективного эффекта стало снижение уровня щелочной фосфатазы под воздействием этмабена на 10 % в остром периоде и на 34 % на 30-й день эксперимента ($p < 0,01$ по сравнению с контролем), что отражает ослабление признаков тубулярного повреждения (рисунок 2).

Протеинурия. В контрольной группе на 3-и сутки зафиксировано статистически значимое повышение экскреции белка с мочой ($p < 0,01$ против группы 1), что отражает нарушение целостности клубочкового фильтра и дисфункцию канальцевого эпителия. Терапия этмабеном значимо снижала протеинурию в остром периоде на 61 % по сравнению с группой ТИП ($p < 0,05$). К 30-м суткам устойчивое снижение экскреции белка сохранялось в группах этмабена и ЭМГПС ($p < 0,01$), демонстрируя долгосрочный нефропротективный эффект.

Электролитный баланс и канальцевая функция. В остром периоде применение малобена приводило к выраженному увеличению экскреции натрия (на 170 %, $p < 0,01$) и калия (на 603 %, $p < 0,01$) по сравнению с нелеченными животными. К концу эксперимента натрийурез в группе малобена превышал контрольные значения на 410 % ($p < 0,01$). В группе ЭМГПС натрийурез был выше на 83 % ($p < 0,01$), а в группе этмабена наблюдалось значимое увеличение экскреции калия. Показатель фракционной экскреции натрия (FENa), являющийся маркером канальцевой функции и почечной перфузии, был значимо снижен в группе ТИП на 3-и сутки (менее 1 %), что характерно для преренальной азотемии и снижения эффективного почечного кровотока. Во всех группах, получавших терапию, значения FENa оставались в пределах физиологической нормы на всех этапах наблюдения, что указывает на сохранение способности канальцев к реабсорбции натрия и поддержание адекватной почечной гемодинамики на фоне лечения (рисунок 3).

Общий анализ мочи и микроскопия осадка

В остром периоде эксперимента в контрольной группе было зафиксировано статистически значимое увеличение концентрации белка и количества лейкоцитов по сравнению с интактными животными ($p < 0,01$), что свидетельствует о выраженном повреждении почечной ткани и развитии воспалительной реакции в ответ на И/Р. К 30-м суткам наблюдения лейкоцитурия сохранялась в группе животных, получавших малобен, что может указывать на персистирующий воспалительный процесс в почечной ткани. Статистически значимые изменения относительной плотности мочи были отмечены только в завершающей фазе эксперимента: в группе малобена зарегистрировано снижение относительной плотности мочи на 1,9 % по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). В конце исследования в контрольной группе было выявлено достоверное изменение pH мочи в сторону щелочных значений, аналогичная тенденция наблюдалась в группах малобена и ЭМГПС.

При микроскопии мочевого осадка во всех группах с моделированным ишемическим повреждением были обнаружены кристаллы уратов и оксалатов, а также клетки почечного эпителия и лейкоциты. Наибольшая выраженность этих изменений наблюдалась в группе патологии без лечения. Наличие клеток почечного эпителия подтверждает факт десквамации канальцевого эпителия вследствие ишемического повреждения, а обнаружение лейкоцитов указывает на развитие воспалительной реакции в интерстиции почек (рисунок 4).

Гистопатологическое исследование почек

Результаты гистологического анализа почек полностью подтвердили данные функциональных исследований. В группе ТИП выявлялись распространенные некротические изменения паренхимы почек: некроз канальцевого эпителия (звездочки), выраженная гидропическая и баллонная дистрофия, очаговый некроз клубочков, а также резкое полнокровие сосудов и кровоизлияния. В группах малобена и ЭМГПС

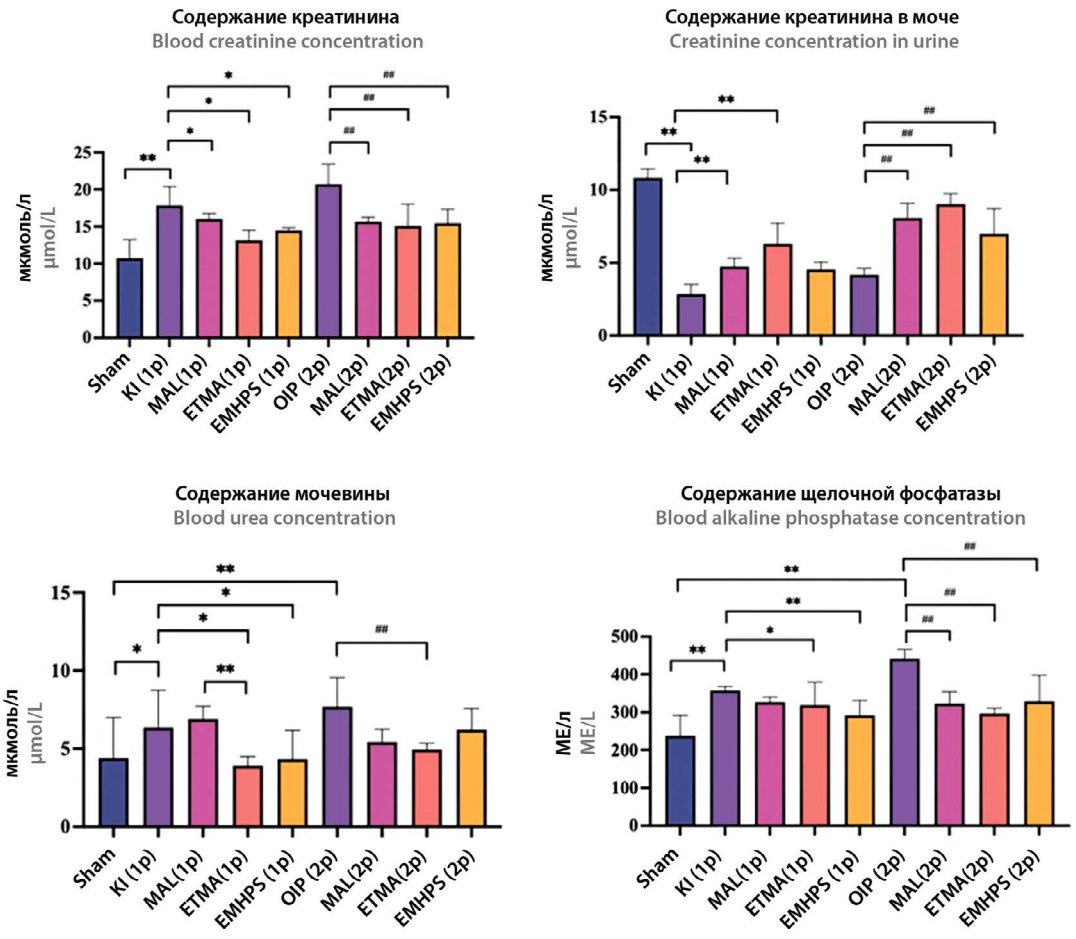


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Биохимические показатели сыворотки крови и мочи у крыс на 3-и (1p) и 30-е сутки (2p) после ишемии почки.

Sham – ложнооперированная группа; KI – группа патологии (ишемия); MAL – малобен (60 мг/кг); ETMA – этмабен (60 мг/кг); EMHPS – препарат сравнения ЭМГПС (50 мг/кг). Данные представлены как M ± SD

Figure 2. Biochemical parameters of blood serum and urine in rats on days 3 (1p) and 30 (2p) after renal ischemia.

Sham – sham-operated group; KI – ischemia-reperfusion injury (control); MAL – maloben (60 mg/kg); ETMA – etmaben (60 mg/kg); EMHPS – reference drug (50 mg/kg). Data are presented as mean ± SD

отмечалась умеренно выраженная гидропическая дистрофия канальцевого эпителия и умеренный интерстициальный отек, при этом некротические изменения были менее выражены, чем в контроле. Наиболее сохранная морфологическая структура почечной ткани наблюдалась в группе этмабена: изменения ограничивались слабо выраженной гидропической дистрофией и минимальным интерстициальным отеком, а некротические изменения носили очаговый минимальный характер (рисунок 5).

Молекулярно-биологические показатели

Анализ экспрессии генов в ткани почки, выполненный на 30-е сутки эксперимента, проведен для групп интактного контроля, патологии и терапии этмабеном. Для группы препарата сравнения (ЭМГПС) анализ экспрессии генов не выполнялся, так как целью работы было изучение молекулярных механизмов действия ПМК.

В группе этмабена наблюдалось достоверное снижение экспрессии гена HIF1α по сравнению с контрольной группой патологии. Также зафиксировано снижение экспрессии GLUD1, участвующего в анаплерозе ЦТК. Анализ экспрессии гена NRF2 выявил, что в контрольной группе ТИП его уровень был значимо снижен по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$). В группе этмабена экспрессия NRF2 восстанавливалась до уровня здоровых животных и достоверно отличалась от группы патологии ($p = 0,049$).

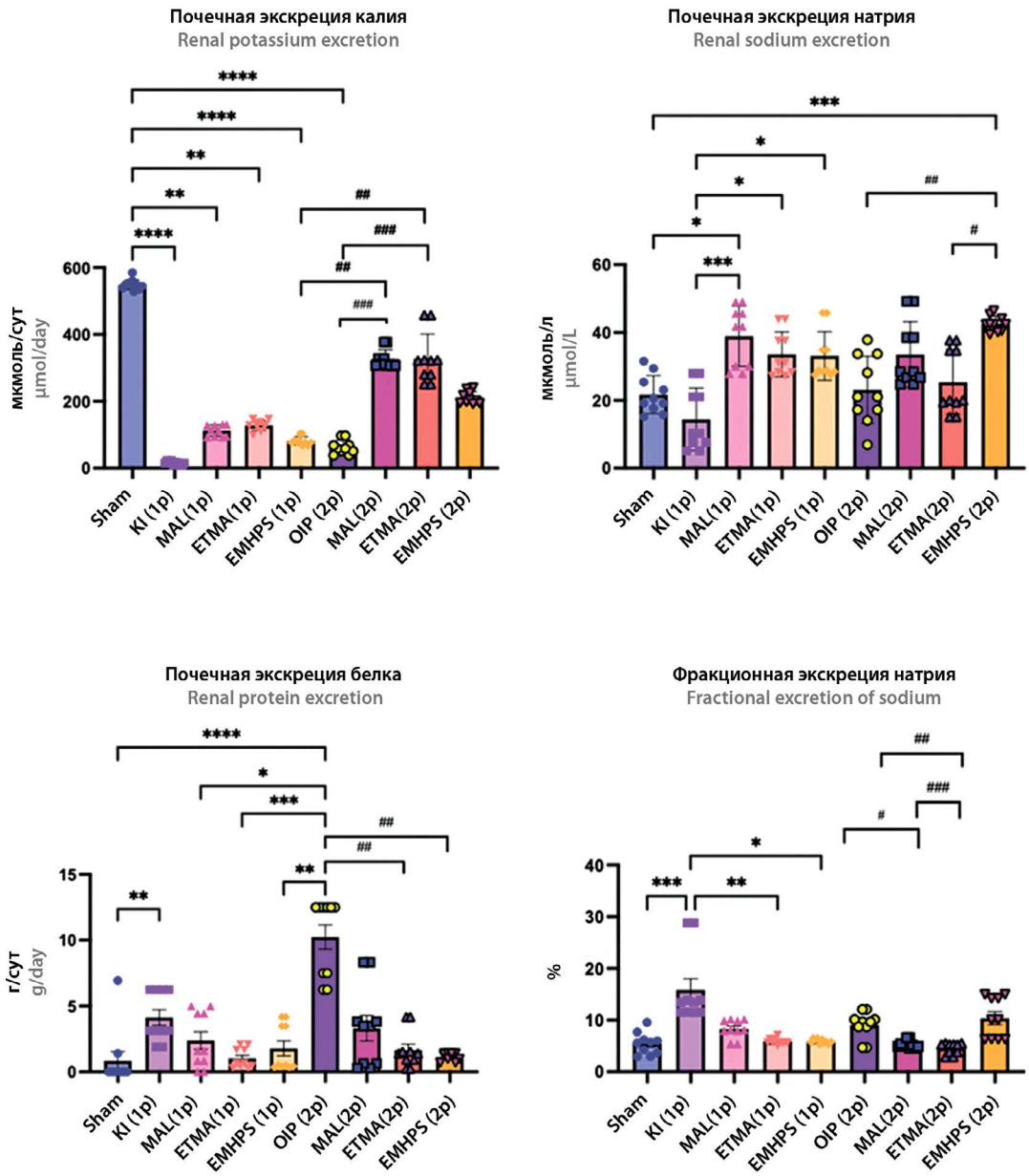


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Показатели канальцевой функции почек у крыс на 3-и (1p) и 30-е сутки (2p).

Sham – ложнооперированная группа; KI – группа патологии (ишемия); MAL – малобен (60 мг/кг); ETMA – этмабен (60 мг/кг); EMHPS – препарат сравнения ЭМГПС (50 мг/кг). Данные представлены как M ± SD

Figure 3. Renal tubular function parameters in rats on days 3 (1p) and 30 (2p).

Sham – sham-operated group; KI – ischemia-reperfusion injury (control); MAL – maloben (60 mg/kg); ETMA – etmaben (60 mg/kg); EMHPS – reference drug (50 mg/kg). Data are presented as mean ± SD

В группе этмабена также зафиксировано статистически значимое повышение экспрессии GPX1 по сравнению с интактным контролем ($p < 0,05$), что отражает сохранение компенсаторного антиоксидантного ответа. По остальным исследованным генам (NOX4, TXNRD1, TGFb) статистически значимых различий между группами выявлено не было (рисунок 6).

Распределение этмабена в ткани почки

Для подтверждения проникновения этмабена в орган-мишень на 31-е сутки эксперимента через 30 мин после последнего внутрижелудочного введения была определена концентрация соединения в ткани почки методом ВЭЖХ. Концентрация этмабена в

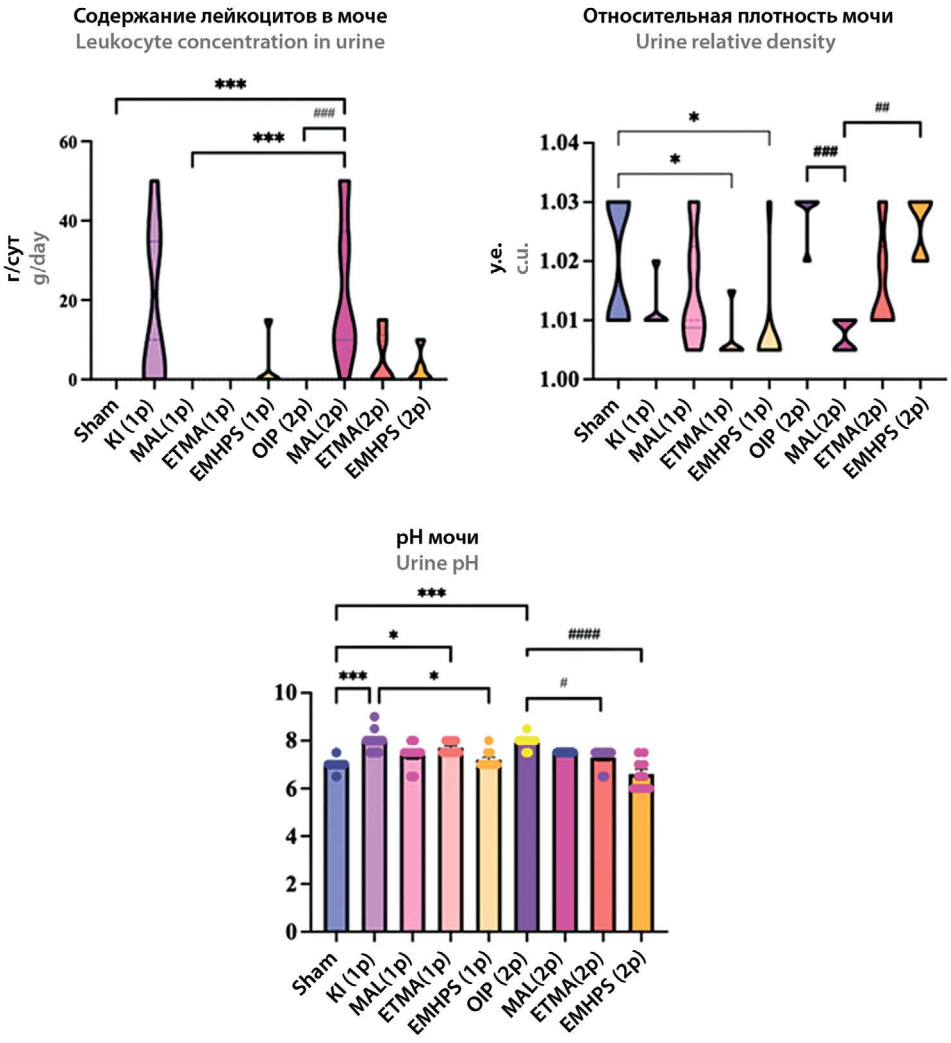


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Показатели общего анализа мочи у крыс на 3-и (1р) и 30-е сутки (2р) после ишемии почки.

Sham – ложнооперированная группа; KI – группа патологии (ишемия почки); MAL – малобен (60 мг/кг); ETMA – этмабен (60 мг/кг); EMHPS – препарат сравнения ЭМГПС (50 мг/кг). Данные представлены как M ± SD

Figure 4. Urinalysis parameters in rats on days 3 (1p) and 30 (2p) after renal ischemia.

Sham – sham-operated group; KI – ischemia-reperfusion injury (control); MAL – maloben (60 mg/kg); ETMA – etmaben (60 mg/kg); EMHPS – reference drug (50 mg/kg). Data are presented as mean ± SD

почечной ткани находилась в диапазоне 35–45 нг/мл, что подтверждает его способность накапливаться в органе-мишени при длительном курсовом введении. Интересно отметить, что ранее на модели хронической сердечной недостаточности концентрация этмабена в почках оказалась ниже предела количественного определения (<30 нг/мл), что свидетельствует о патогенетически обусловленной фармакокинетике: ишемическое повреждение, по-видимому, создает условия, способствующие более активному захвату или удержанию соединения в почечной ткани.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование продемонстрировало, что 30-дневный курс терапии ПМК достоверно улучшает выживаемость, функциональные параметры и морфологическую структуру почек у крыс с И/Р-повреждением. Полученные данные свидетельствуют о выраженном нефропротективном потенциале изучаемых соединений и позволяют провести сравнительный анализ их эффективности с антиоксидантом ЭМГПС.

Результатом работы стало статистически значимое повышение выживаемости животных в груп-

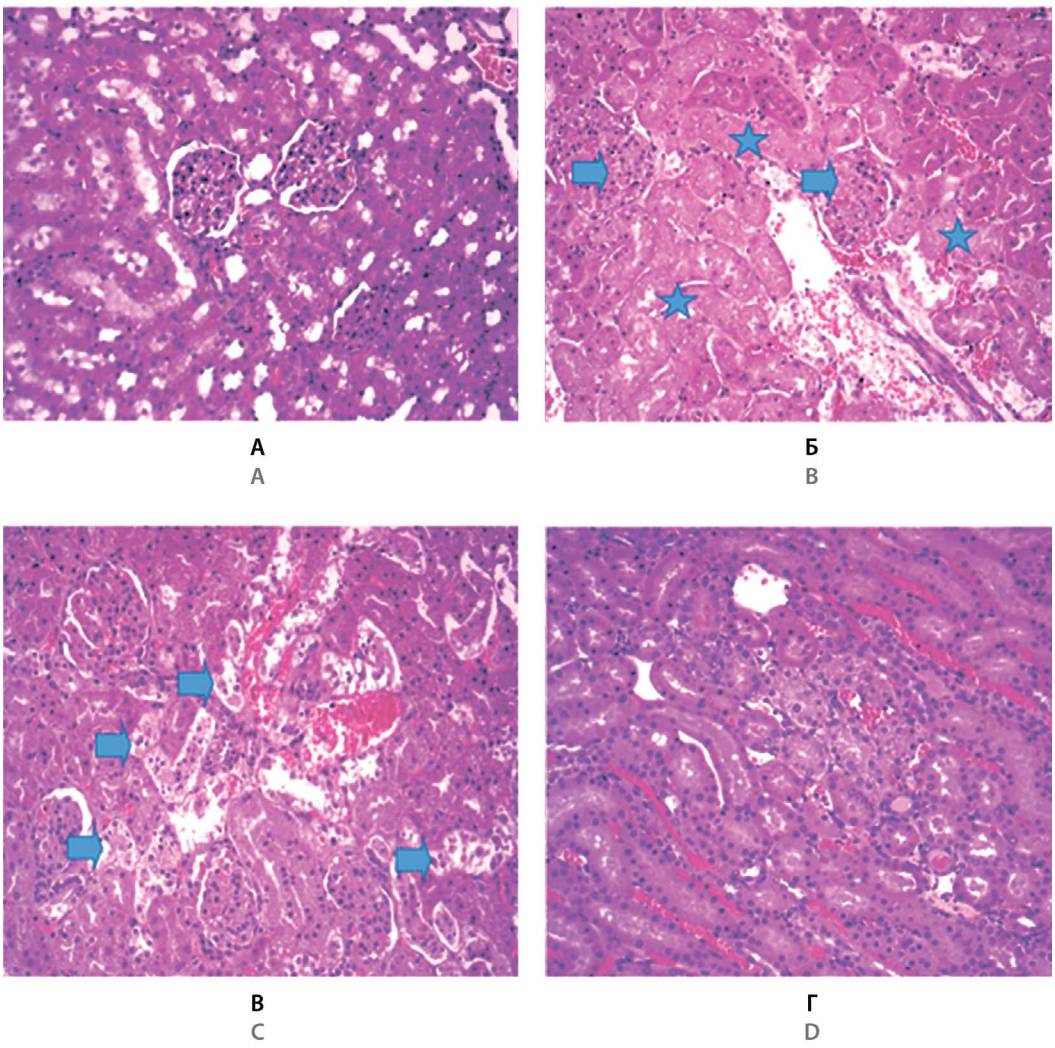


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. Микрофотографии ткани почки крыс на 30-е сутки после ишемии (окраска гематоксилином и эозином, ×200).

А – ложнооперированная группа (ЛО): нормальная ткань почки; Б – группа патологии (ТИП): распространенный некроз канальцевого эпителия, выраженная гидропическая и баллонная дистрофия, очаговый некроз клубочков, полнокровие сосудов, кровоизлияния; В – группа малобена (МАЛ): умеренно выраженный некроз (стрелки), выраженная гидропическая дистрофия канальцевого эпителия, полнокровие сосудов; Г – группа этмабена (ЭТМА): слабо выраженная гидропическая дистрофия канальцевого эпителия, минимальные некротические изменения

Figure 5. Micrographs of rat kidney tissue on the 30th day after ischemia (stained with hematoxylin and eosin, ×200).

A – sham-operated group (LO): normal kidney tissue; B – pathology group (WKI): widespread necrosis of the tubular epithelium, severe hydropic and ballooning degeneration, focal necrosis of the glomeruli, vascular congestion, hemorrhage; C – maloben group (MAL): moderate necrosis (arrows), severe hydropic degeneration of the tubular epithelium, vascular congestion; D – etmaben group (ETMA): mild hydropic degeneration of the tubular epithelium, minimal necrotic changes

пах терапии. В контрольной группе к третьим суткам после ишемии выживаемость составила 70 %, тогда как на фоне введения малобена этот показатель достиг 85 %, этмабена – 90 %, а в группе ЭМГПС – 90 %. Высокая летальность в контрольной группе (30 % к третьим суткам) ожидаема для данной модели и согласуется с литературными данными о тяжести 60-минутной тепловой ишемии почки [4, 8]. Учитывая, что у выживших животных на фоне лечения наблюдалось значимое улучшение азотовыделительной функции и электролитного баланса, можно предположить, что предотвращение летальных исходов связано с коррекцией метаболических нарушений, характерных для острой почечной не-

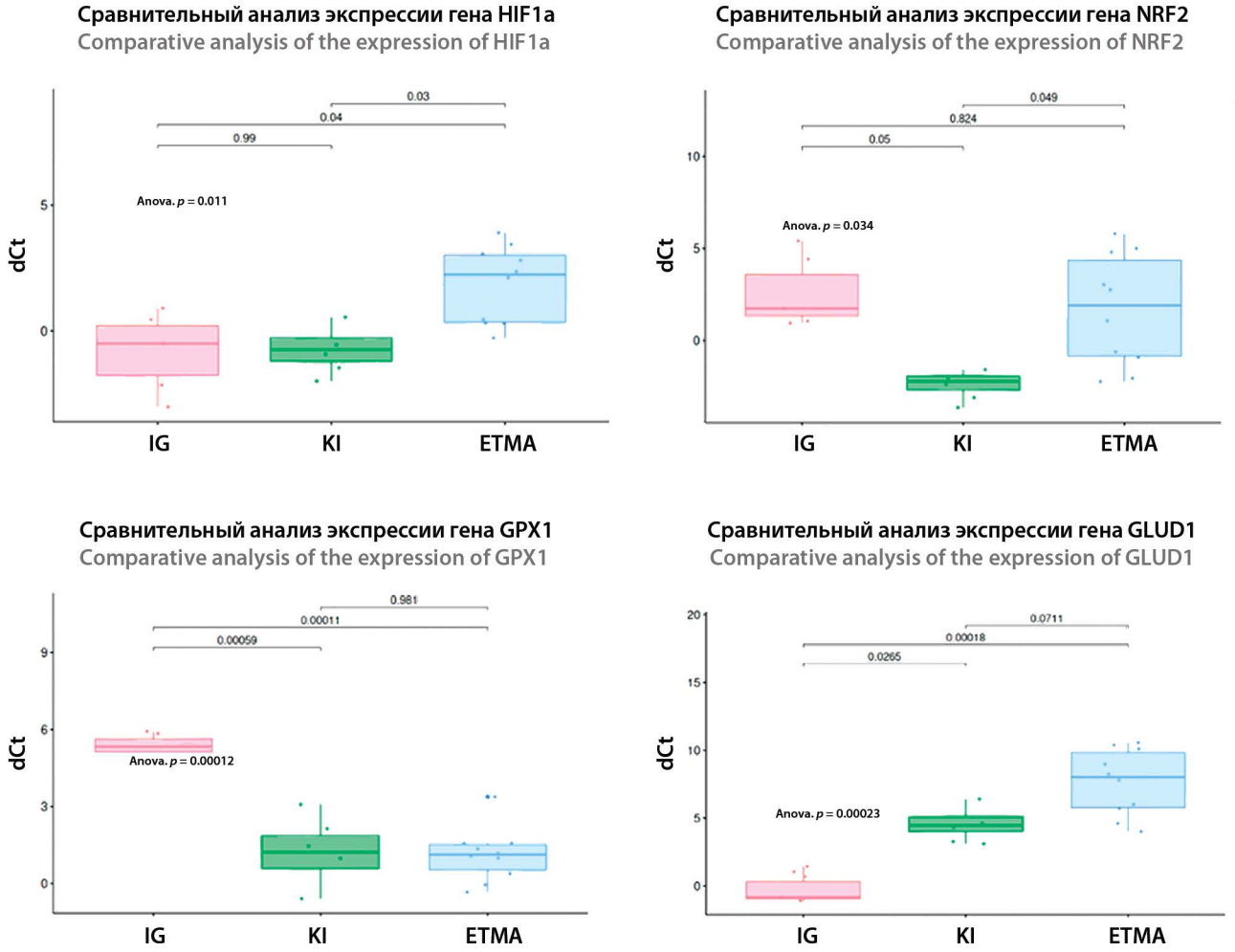


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 6. Анализ дифференциальной экспрессии генов в ткани почки крыс на 30-е сутки после ишемии.

IG – интактная группа; KI – ишемия почки; ETMA – этмабен (60 мг/кг). Уровень экспрессии генов нормализован к референсным генам и представлен относительно интактной группы (ИГ принята за 1) методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$

Figure 6. Analysis of differential gene expression in rat kidney tissue 30 days after ischemia.

IG – intact group; KI – kidney ischemia; ETMA – etmaben (60 mg/kg). Gene expression levels were normalized to reference genes and are shown relative to the intact group (IG set as 1) using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method

достаточности – гиперкалиемии, ацидоза и уремической интоксикации.

Важным подтверждением нефропротективного эффекта стали функциональные показатели почек: диурез, СКФ и азотовыделительная функция. Уже на 3-и сутки после ишемии во всех группах лечения наблюдалось достоверное увеличение СКФ по сравнению с контролем, причем максимальный прирост был зафиксирован в группе этмабена. К 30-м суткам эксперимента СКФ в группе этмабена по-прежнему оставалась самой высокой, хотя статистически значимых различий между тремя терапевтическими группами уже не наблюдалось. Это может свидетельствовать о том, что все три препарата эффективно запускают репаративные процессы, однако этмабен обеспечивает более быстрое восстановление фильтрационной функции уже в острую фазу повреждения.

Важно отметить, что позитивная динамика СКФ сопровождалась соответствующими изменениями биохимических маркеров. Снижение уровня креатинина и мочевины в сыворотке крови на фоне увеличения их экскреции с мочой к 30-м суткам во всех группах лечения свидетельствует о восстановлении азотовыделительной функции почек. Следует отметить способность этмабена значимо снижать уровень мочевины уже в остром периоде (на 38 %), что может иметь большое значение для предотвращения уремической интоксикации.

Дополнительным подтверждением протективного эффекта стало снижение уровня щелочной фосфатазы, как маркера тубулярного повреждения, под действием этмабена как на 3-и, так и на 30-е сутки.

При сравнительном анализе двух ПМК выявлены различия в их нефропротективном действии. Этмабен в большей степени способствовал сохранению морфологической структуры почки: в этой группе некротические изменения были минимальными, а дистрофия канальцевого эпителия носила слабовыраженный характер.

Малобен, напротив, оказался более сильным диуретиком и салуретиком, особенно в остром периоде, где он вызывал многократное увеличение экскреции натрия и калия. Однако к 30-м суткам в группе малобена сохранялась лейкоцитурия и отмечалось снижение относительной плотности мочи, что может указывать на неполную защиту канальцевого аппарата и персистирование воспалительного процесса.

Наблюдаемые различия могут быть обусловлены несколькими факторами. Во-первых, различная растворимость соединений: этмабен хуже растворим в воде, что может замедлять его всасывание, но обеспечивать более пролонгированное и стабильное действие на паренхиму почки, в то время как хорошо растворимый малобен быстро достигает высоких концентраций, оказывая сильное, но менее устойчивое влияние на канальцевые транспортные системы. Во-вторых, нельзя исключать различия в молекулярных мишенях. Ранее было показано, что малобен эффективен на модели стеатогепатита, где основную роль играет блокада рецептора сукцината SUCNR1 [12], тогда как этмабен проявил себя как кардиопротектор, что предполагает его преимущественное влияние на митохондриальное дыхание и, возможно, более активное проникновение в кардиомиоциты и нефроциты [13]. Таким образом, можно предположить, что малобен в большей степени модулирует сукцинатопосредованные воспалительные сигналы (через SUCNR1), тогда как этмабен оказывает прямое цитопротективное действие на митохондрии, что и объясняет его преимущество в сохранении гистоархитектоники почки.

Для понимания молекулярных механизмов нефропротективного действия этмабена был проведен анализ экспрессии генов, вовлеченных в гипоксический ответ, энергетический метаболизм и антиоксидантную защиту, на 30-е сутки после ишемии.

Снижение экспрессии HIF1a в группе этмабена по сравнению с контролем свидетельствует о купировании хронической тканевой гипоксии и восстановлении адекватной оксигенации почечной паренхимы [14]. Наблюдаемое снижение экспрессии Glud1 может указывать на перестройку энергетического обмена в нефроцитах, что характерно для адаптации клеток к постишемическим условиям [15, 17].

Одним из основных результатов стало восстановление экспрессии гена NRF2 под влиянием этмабена. В контрольной группе уровень NRF2 был значимо снижен, что, вероятно, отражает истощение адаптивных ресурсов клетки на фоне длительного оксидативного стресса [14]. Терапия этмабеном приводила к нормализации экспрессии NRF2 до уровня интактных животных ($p = 0{,}049$ по сравнению с группой ТИП). Учитывая вклад NRF2 в индукцию антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы), можно предположить, что этмабен не только пассивно защищает клетки от повреждения, но и активно восстанавливает эндогенные антиоксидантные механизмы [16]. Это согласуется с его способностью модулировать митохондриальное дыхание и снижать продукцию АФК, что было показано для других ПМК [9, 14]. Восстановление NRF2-опосредованной защиты может вносить значимый вклад в наблюдаемую эффективность этмабена в сохранении гистоархитектоники почечной ткани.

Особый интерес представляют данные фармакокинетического анализа. Концентрация этмабена в ткани почки, зафиксированная на уровне 35–45 нг/мл через 30 мин после введения на 31-е сутки эксперимента, подтверждает, что соединение проникает в орган-мишень и накапливается там при длительном курсовом введении. Короткий период полувыведения этмабена позволяет предположить, что его терапевтический эффект достигается не за счет постоянного присутствия в ткани, а благодаря повторной активации защитных механизмов при каждом введении.

В целом проведенное исследование показывает, что длительная терапия ПМК эффективно улучшает исход ИРП почек.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тридцатидневный курс терапии этмабеном и малобеном улучшает функциональные параметры почек, снижает протеинурию и нормализует электролитный баланс после ишемически-реперфузионного повреждения. Малобен оказывает более выраженное диуретическое действие, однако уступает этмабену в сохранении гистоархитектоники почки и восстановлении СКФ. На молекулярном уровне этмабен способствует нормализации экспрессии гена антиоксидантной защиты NRF2. Совокупность полученных данных позволяет рассматривать этмабен как наиболее перспективное в сравнении с малобеном соединение для дальнейшего доклинического изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cai J., Chen X., Liu X., Li Z., Shi A., Tang X., Xia P., Zhang J., Yu P. AMPK: The key to ischemia-reperfusion injury. *Journal of Cellular Physiology.* 2022;237(11):4079–4096. https://doi.org/10.1002/jcp.30875
2. Zhang M., Liu Q., Meng H., Duan H., Liu X., Wu J., Gao F., Wang S., Tan R., Yuan J. Ischemia-reperfusion injury: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2024;9:12. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01688-x

3. Cheung T. Y., Lam K., Leung S. C., Rainer T. H. Clinical epidemiology and outcomes of emergency department-acute kidney injury: A systematic review. *Heliyon*. 2024;10(9):e30580. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30580
4. Kellum J. A., Zarbock A. Why interventions to prevent acute kidney injury are needed now and why preventing long-term outcomes will only come later. *Intensive Care Medicine*. 2025;51(10):1898–1900. https://doi.org/10.1007/s00134-025-08080-z
5. Chouchani E. T., Murphy M. P. Succinate links ischaemia to reperfusion injury. *Nature Metabolism*. 2022;4(2):149–150.
6. Oh C. J., Kim M.-J., Lee J.-M., Kim D. H., Kim I.-Y., Park S., Kim Y., Lee K.-B., Lee S.-H., Lim C. W., Kim M., Lee J.-Y., Pagire H. S., Pagire S. H., Bae M. A., Chanda D., Thoudam T., Khang A. R., Harris R. A., Ahn J. H., Jeon J.-H., Lee I.-K. Inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase 4 ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury by reducing succinate accumulation during ischemia and preserving mitochondrial function during reperfusion. *Kidney International*. 2023;104(4):724–739. https://doi.org/10.1016/j.kint.2023.06.022
7. 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. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1752
8. Sorby-Adams A., Prime T. A., Miljkovic J. L., Prag H. A., Krieg T., Murphy M. P. A model of mitochondrial superoxide production during ischaemia-reperfusion injury for therapeutic development and mechanistic understanding. *Redox Biology*. 2024;72:103161. https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103161
9. Cao M., Zhao X., Xia F., Shi M., Zhao D., Li L., Jiang H. Mitochondrial dysfunction and metabolic reprogramming in acute kidney injury: mechanisms, therapeutic advances, and clinical challenges. *Frontiers in Physiology*. 2025;16:1623500. https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1623500
10. Valls-Lacalle L., Consegal M., Ganse F. G., Yáñez-Bisbe L., Pastor J., Ruiz-Meana M., Inserte J., Benito B., Ferreira-González I., Rodríguez-Sinovas A. Long-Term Protective Effects of Succinate Dehydrogenase Inhibition during Reperfusion with Malonate on Post-Infarction Left Ventricular Scar and Remodeling in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(8):4366. https://doi.org/10.3390/ijms25084366
11. Prag H. A., Aksentijevic D., Dannhorn A., Giles A. V., Mulvey J. F., Sauchanka O., Du L., Bates G., Reinhold J., Kula-Alwar D., Xu Z., Pellerin L., Goodwin R. J. A., Murphy M. P., Krieg T. Ischemia-Selective Cardioprotection by Malonate for Ischemia/Reperfusion Injury. *Circulation Research*. 2022;131(6):528–541. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.320717
12. Оковитый С. В., Ивкин Д. Ю., Анисимова Н. А., Белых М. А., Спасенкова О. М., Кириллова Н. В., Яковлев И. П., Чернов Н. М. Антистеатозное средство. Патент РФ на изобретение № RU 2702003 C1. 2019. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2702003C1/ru Ссылка активна на 15.04.2026.
13. 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. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1998
14. Xu B., Zhu Z., Shu H., Wang H., Lu X., Zhu X. Succinate links TCA cycle dysfunction to inflammation by activating HIF-1α signaling in acute kidney injury. *International Immunopharmacology*. 2025;161:115105. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2025.115105
15. Chen Y., Li Z., Zhang H., Chen H., Hao J., Liu H., Li X. Mitochondrial metabolism and targeted treatment strategies in ischemic-induced acute kidney injury. *Cell Death Discovery*. 2024;10(1):69.
16. Sies H., Jones D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2020;21(7):363–383. https://doi.org/ 10.1038/s41580-020-0230-3
17. Aparicio-Trejo O. E., Pedraza-Chaverri J. Mitochondria as a key target in the treatment of chronic kidney disease. *Archives of Medical Research*. 2023;54(7):102882.

REFERENCES

1. Cai J., Chen X., Liu X., Li Z., Shi A., Tang X., Xia P., Zhang J., Yu P. AMPK: The key to ischemia-reperfusion injury. *Journal of Cellular Physiology*. 2022;237(11):4079–4096. https://doi.org/10.1002/jcp.30875
2. Zhang M., Liu Q., Meng H., Duan H., Liu X., Wu J., Gao F., Wang S., Tan R., Yuan J. Ischemia-reperfusion injury: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024;9:12. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01688-x
3. Cheung T. Y., Lam K., Leung S. C., Rainer T. H. Clinical epidemiology and outcomes of emergency department-acute kidney injury: A systematic review. *Heliyon*. 2024;10(9):e30580. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30580
4. Kellum J. A., Zarbock A. Why interventions to prevent acute kidney injury are needed now and why preventing long-term outcomes will only come later. *Intensive Care Medicine*. 2025;51(10):1898–1900. https://doi.org/10.1007/s00134-025-08080-z
5. Chouchani E. T., Murphy M. P. Succinate links ischaemia to reperfusion injury. *Nature Metabolism*. 2022;4(2):149–150.
6. Oh C. J., Kim M.-J., Lee J.-M., Kim D. H., Kim I.-Y., Park S., Kim Y., Lee K.-B., Lee S.-H., Lim C. W., Kim M., Lee J.-Y., Pagire H. S., Pagire S. H., Bae M. A., Chanda D., Thoudam T., Khang A. R., Harris R. A., Ahn J. H., Jeon J.-H., Lee I.-K. Inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase 4 ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury by reducing succinate accumulation during ischemia and preserving mitochondrial function during reperfusion. *Kidney International*. 2023;104(4):724–739. https://doi.org/10.1016/j.kint.2023.06.022
7. 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 etmaben in human blood plasma. *Drug development & registration*. 2024;13(1):257–271. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-1-1752

8. Sorby-Adams A., Prime T. A., Miljkovic J. L., Prag H. A., Krieg T., Murphy M. P. A model of mitochondrial superoxide production during ischaemia-reperfusion injury for therapeutic development and mechanistic understanding. *Redox Biology*. 2024;72:103161. https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103161
9. Cao M., Zhao X., Xia F., Shi M., Zhao D., Li L., Jiang H. Mitochondrial dysfunction and metabolic reprogramming in acute kidney injury: mechanisms, therapeutic advances, and clinical challenges. *Frontiers in Physiology*. 2025;16:1623500. https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1623500
10. Valls-Lacalle L., Consegal M., Ganse F. G., Yáñez-Bisbe L., Pastor J., Ruiz-Meana M., Inserte J., Benito B., Ferreira-González I., Rodríguez-Sinovas A. Long-Term Protective Effects of Succinate Dehydrogenase Inhibition during Reperfusion with Malonate on Post-Infarction Left Ventricular Scar and Remodeling in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(8):4366. https://doi.org/10.3390/ijms25084366
11. Prag H. A., Aksentijevic D., Dannhorn A., Giles A. V., Mulvey J. F., Sauchanka O., Du L., Bates G., Reinhold J., Kula-Alwar D., Xu Z., Pellerin L., Goodwin R. J. A., Murphy M. P., Krieg T. Ischemia-Selective Cardioprotection by Malonate for Ischemia/Reperfusion Injury. *Circulation Research*. 2022;131(6):528–541. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.320717
12. Okovityy S. V., Ivkin D. Yu., Anisimova N. A., Belykh M. A., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Yakovlev I. P., Chernov N. M. Antisteatotic agent. Patent RUS No RU 2702003 C1. 2019. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2702003C1/ru Accessed: 15.04.2026. (In Russ.)
13. 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.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-1-1998
14. Xu B., Zhu Z., Shu H., Wang H., Lu X., Zhu X. Succinate links TCA cycle dysfunction to inflammation by activating HIF-1α signaling in acute kidney injury. *International Immunopharmacology*. 2025;161:115105. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2025.115105
15. Chen Y., Li Z., Zhang H., Chen H., Hao J., Liu H., Li X. Mitochondrial metabolism and targeted treatment strategies in ischemic-induced acute kidney injury. *Cell Death Discovery*. 2024;10(1):69.
16. Sies H., Jones D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2020;21(7):363–383. https://doi.org/ 10.1038/s41580-020-0230-3
17. Aparicio-Trejo O. E., Pedraza-Chaverri J. Mitochondria as a key target in the treatment of chronic kidney disease. *Archives of Medical Research*. 2023;54(7):102882.

Оригинальная статья / Research article

УДК 615.244; 616.36-003.826; 616.36-002; 616-092.9

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2389

Check for updates

CC BY 4.0

Экспериментальная оценка высоких доз L-орнитина L-аспартата при неалкогольном стеатогепатите и его внепеченочных осложнениях

В. А. Приходько[1]✉, Т. М. Матузок[1], К. С. Дорощук[2], А. А. Федорова[3], В. Е. Карев[4], А. С. Самарич[1], В. Е. Кованcков[1, 5], Е. А. Карелина[1], Н. А. Муравьева[1], М. О. Пятченков[2], А. Г. Марков[4], С. В. Оковитый[1, 4]

[1] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

[2] Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБВОУ ВО «ВМА им. С. М. Кирова» Минобороны России (ВМА). 194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, лит. Ж

[3] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологии им. И. П. Павлова» Российской академии наук (ИФ РАН). 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, набережная Макарова, д. 6

[4] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (СПбГУ). 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

[5] Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус». 354340, Россия, федеральная территория «Сириус», Олимпийский проспект, д. 1

✉ **Контактное лицо:** Приходько Вероника Александровна. **E-mail:** vaprikhodko@mail.ru

Резюме

Введение. В доклинических исследованиях на моделях неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) L-орнитина L-аспартат (LOLA) в дозе 1,5 г/кг/сут, эквивалентной рекомендованной для человека (9 г/сут), уменьшал не только выраженность поражения печени, но и проявления нейропсихических и скелетно-мышечных осложнений. Возможность применения более высоких доз LOLA может представлять интерес в рамках разработки новых подходов к фармакотерапии НАСГ.

Цель. Оценка влияния двукратных доз LOLA (3 г/кг/сут) на состояние печени и ассоциированные внепеченочные нарушения при экспериментальном НАСГ у мышей.

Материалы и методы. Мышей-самцов линии C57BL/6 возрастом 2 мес. рандомизировали на 3 группы: 1) Интакт ($n = 20$); 2) Контроль: алиментарно-токсическая модель НАСГ ($n = 25$); 3) LOLA: модель НАСГ + LOLA 3 г/кг 1 р/сут внутрижелудочно ($n = 25$). По окончании 3 мес. индукции НАСГ определяли концентрации аммиака и лактата в крови, уробилиногена и билирубина в моче, а также выполняли функциональную пробу Квика – Пытеля. Когнитивно-поведенческие функции животных оценивали в тестах «Открытое поле», «Черно-белая камера», «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» и «Распознавание нового объекта». Исследование барьерных функций тощей и толстой кишки проводили в камере Уссинга. В ткани печени оценивали выраженность воспаления, макро- и микровезикулярного стеатоза, некроза и фиброза.

Результаты и обсуждение. Курсовое введение LOLA предупреждало развитие гипераммониемии ($p < 0,05$) и билирубинурии ($p < 0,01$), уменьшало проявления тревожно- и/или депрессивноподобного поведения ($p < 0,05$, $p < 0,01$), а также улучшало краткосрочную распознающую память ($p < 0,05$) мышей. В ткани печени мышей, получавших LOLA, наблюдали значимое снижение выраженности некротических изменений ($p < 0,05$). Введение LOLA также предотвращало нарушение проницаемости эпителия тощей кишки ($p < 0,05$), но не оказывало значимого влияния на барьерную функцию толстой кишки.

Заключение. Полученные данные позволяют предполагать сопоставимую эффективность стандартных и двукратных суточных доз LOLA у мышей. Целесообразность и безопасность высокодозовых режимов терапии LOLA требуют оценки в прямых сравнительных исследованиях.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, метаболически ассоциированная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, метаболически ассоциированный стеатогепатит, L-орнитина L-аспартат, гипоаммониемические средства, гепатотропные средства

© Приходько В. А., Матузок Т. М., Дорощук К. С., Федорова А. А., Карев В. Е., Самарич А. С., Кованcков В. Е., Карелина Е. А., Муравьева Н. А., Пятченков М. О., Марков А. Г., Оковитый С. В., 2026

© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026

© Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Doroshchuk K. S., Fedorova A. A., Karev V. E., Samarich A. S., Kovanskov V. E., Karelina E. A., Muraveva N. A., Pyatchenkov M. O., Markov A. G., Okovityi S. V., 2026

© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

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

Вклад авторов. С. В. Оковитый, М. О. Пятченков, А. Г. Марков, В. А. Приходько – идея и планирование исследования. В. А. Приходько, Т. М. Матузок, К. С. Дорощук, А. А. Федорова, В. Е. Карев, А. С. Самарич, В. Е. Кованcков, Е. А. Карелина, Н. А. Муравьева – проведение экспериментов и обработка данных. В. А. Приходько, В. Е. Карев – подготовка иллюстраций. В. А. Приходько, А. А. Федорова, М. О. Пятченков, А. Г. Марков, С. В. Оковитый – подготовка и редактура рукописи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Приходько В. А., Матузок Т. М., Дорощук К. С., Федорова А. А., Карев В. Е., Самарич А. С., Кованcков В. Е., Карелина Е. А., Муравьева Н. А., Пятченков М. О., Марков А. Г., Оковитый С. В. Экспериментальная оценка высоких доз L-орнитина L-аспартата при неалкогольном стеатогепатите и его внепеченочных осложнениях. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):241–255. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2389

Поступила в редакцию: 02.06.2026
Поступила после рецензирования: 26.06.2026
Принята к публикации: 26.08.2026

Experimental evaluation of high-dose L-ornithine L-aspartate in nonalcoholic steatohepatitis and its extrahepatic complications

Veronika A. Prikhodko[1]✉, Tatyana M. Matuzok[1], Ksenia S. Doroshchuk[2], Arina A. Fedorova[3], Vadim E. Karev[4], Alexey S. Samarich[1], Vladislav E. Kovanskov[1, 5], Ekaterina A. Karelina[1], Nina A. Muraveva[1], Mikhail O. Pyatchenkov[2], Alexander G. Markov[4], Sergey V. Okovityi[1, 4]

[1] Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia
[2] S. M. Kirov Military Medical Academy. 6J, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia
[3] Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences. 6, Makarova Embankment, Saint Petersburg, 199034, Russia
[4] Saint Petersburg State University. 7–9, Universitetskaya Embankment, Saint Petersburg, 199034, Russia
[5] Sirius University of Science and Technology. 1, Olympic prospekt, Sirius Federal Territory, 354340, Russia

✉ **Corresponding author:** Veronika A. Prikhodko. **E-mail:** vaprikhodko@mail.ru

Abstract

Introduction. In preclinical studies using models of nonalcoholic steatohepatitis (NASH), L-ornithine L-aspartate (LOLA) at 1.5 g/kg/day, a dose equivalent to the recommended human dose of 9 g/day, attenuated not only liver injury but also neuropsychiatric and skeletal muscle complications. The possibility of using higher LOLA doses may be of interest in the development of new approaches to the pharmacotherapy of NASH.

Aim. To evaluate the effects of a twofold LOLA dose (3 g/kg/day) on liver injury and associated extrahepatic disorders in mice with experimental NASH.

Materials and methods. Two-month-old male C57BL/6 mice were randomized into three groups: 1) Intact ($n = 20$); 2) Control: diet- and toxin-induced NASH model ($n = 25$); 3) LOLA: NASH model + LOLA administered via oral gavage at 3 g/kg once daily ($n = 25$). After 3 months of NASH induction, blood ammonia and lactate, urinary urobilinogen and bilirubin were measured, and the Quick-Pytel functional test was performed. Animal behavior and cognitive function were assessed using the "Open field", "Light-dark box", "Spontaneous alternation in the T-maze", and "Novel object recognition" tests. Liver tissue was examined for the severity of inflammation, macrovesicular and microvesicular steatosis, necrosis, and fibrosis. Barrier function of the jejunum and colon was evaluated using the Ussing chamber.

Results and discussion. Course administration of LOLA prevented the development of hyperammonemia ($p < 0.05$) and bilirubinuria ($p < 0.01$), ameliorated anxiety- and/or depression-like behavior ($p < 0.05$, $p < 0.01$), and improved short-term recognition memory ($p < 0.05$) in mice. In the liver tissue of LOLA-treated mice, a significant reduction in necrosis severity was observed ($p < 0.05$). LOLA administration also prevented the increase in jejunal epithelial permeability ($p < 0.05$), but had no significant effect on the barrier function of the colon.

Conclusion. The obtained data suggest potentially comparable efficacy of standard and twofold daily doses of LOLA in mice. The feasibility and safety of high-dose LOLA regimens require further evaluation in direct comparative studies.

Keywords: nonalcoholic fatty liver disease, metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, metabolic dysfunction-associated steatohepatitis, L-ornithine L-aspartate, hypoammonemic agents, hepatotropic agents

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

Contribution of the authors. Sergey V. Okovityi, Mikhail O. Pyatchenkov, Alexander G. Markov, Veronika A. Prikhodko – study design and planning. Veronika A. Prikhodko, Tatyana M. Matuzok, Ksenia S. Doroshchuk, Arina A. Fedorova, Vadim E. Karev, Alexey S. Samarich, Vladislav E. Kovanskov, Ekaterina A. Karelina, Nina A. Muraveva – experiment conduction and data analysis. Veronika A. Prikhodko, Vadim E. Karev – visualization. Veronika A. Prikhodko, Arina A. Fedorova, Mikhail O. Pyatchenkov, Alexander G. Markov, 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. 075-2021-685 from 26 July 2021) with financial support from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

For citation: Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Doroshchuk K. S., Fedorova A. A., Karev V. E., Samarich A. S., Kovanskov V. E., Karelina E. A., Muraveva N. A., Pyatchenkov M. O., Markov A. G., Okovityi S. V. Experimental evaluation of high-dose L-ornithine L-aspartate in nonalcoholic steatohepatitis and its extrahepatic complications. *Drug development & registration*. 2026;15(3):241–255. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2389

Received: 02.06.2026
Revised: 26.06.2026
Accepted: 26.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольная (метаболически ассоциированная) жировая болезнь печени (НАЖБП, МАЖБП) охватывает спектр патологических состояний от стеатоза до стеатогепатита (НАСГ), фиброза и цирроза печени, в основе развития которых лежит системная метаболическая дисфункция [1]. С учетом актуальной номенклатуры и диагностических критериев [2, 3] среднемировая распространенность МАЖБП у взрослых оценивается на уровне 38 % (в РФ – 42,3 % по индексу FLI [4]) и характеризуется постоянным ростом [5]. Несмотря на чрезвычайно высокую медико-социальную значимость, возможности фармакотерапии НАЖБП и НАСГ по-прежнему ограниченны, а разработка новых лекарственных средств и доказательная оценка их эффективности остаются актуальной задачей [6, 7].

L-орнитина L-аспартат (LOLA) – соль L-орнитина и L-аспарагиновой кислоты, облегчающая детоксификацию аммиака в перипортальных гепатоцитах за счет включения L-орнитина в цикл мочевины, а также в перивенозных гепатоцитах, скелетных мышцах и головном мозге – за счет превращения L-аспартата в L-глутамат с дальнейшим аминированием до L-глутамина [8]. Основной целью применения LOLA у пациентов с прецирротическими стадиями НАЖБП является коррекция гипераммониемии [1], однако за счет обезвреживания аммиака он также способен уменьшать повреждение гепатоцитов и активацию звездчатых клеток печени, замедляя прогрессирование стеатоза, воспаления и фиброза. Кроме этого, путем снижения концентраций аммиака в крови LOLA способствует уменьшению системного клеточного повреждения, что позволяет рассматривать его как средство коррекции ассоциированных с гипераммониемией внепеченочных осложнений НАЖБП, таких как гепатогенная слабость, саркопения и психоневрологические нарушения [8, 9–12].

Ранее в серии экспериментов было продемонстрировано, что курсовое введение LOLA внутрь в дозе 1,5 г/кг/сут, эквивалентной рекомендованной для человека (9 г/сут) [1, 13], не только оказывает положительное влияние на морфологию печени, но и уменьшает проявления тревожно- и депрессивноподобного поведения, способствует сохранению зрительно-пространственной памяти и функции нейромоторного аппарата, а также увеличивает физическую работоспособность у мышей с алиментарно-токсическим НАСГ [14–16]. В диапазоне доз 0,2–2 г/кг/сут LOLA также улучшал клинико-лабораторные показатели и морфологическую картину печени, а также параметры липидного спектра крови, способствовал сохранению мышечной массы и предупреждал развитие миостеатоза и саркопении у грызунов [17–20].

Более высокие дозы LOLA (18 г/сут, что эквивалентно 3 г/кг/сут для мышей [13]) находят применение в лечении алкогольной болезни печени [21, 22] и цирроза печени [10], однако целесообразность их использования при НАСГ остается открытым вопросом. В связи с вышесказаннным **целью данного исследования** стала оценка влияния LOLA в дозе 3 г/кг/сут на состояние печени и ассоциированные внепеченочные нарушения при экспериментальном НАСГ у мышей.

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 (протокол № Mice-05/Ct-24). Эксперименты были выполнены на 70 мышах-самцах линии C57Bl/6 возрастом 2 мес., полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» (Московская область, РФ) одной партией в возрасте 2 мес. и прошедших карантин в течение 14 дней.

Мышей рандомизировали методом случайных чисел на 3 группы: 1) Интакт: здоровые животные ($n = 20$); 2) Контроль: модель НАСГ без лечения ($n = 25$); 3) LOLA: модель НАСГ с экспериментальным лечением ($n = 25$). Для индукции НАСГ использовали модифицированную комбинированную модель, сочетающую потребление высокожирового, высокоуглеводного корма и введение тетрахлорметана [23, 24]. Животные групп Контроль и LOLA на протяжении 3 мес. получали корм, приготовлявшийся *ex tempore* и содержавший 62,5 % стандартного корма («Полнорационный экструдированный комбикорм ЛБК-120 для лабораторных животных (крыс, мышей)», ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Россия), 19,0 % топленого говяжьего жира, 10,0 % D-фруктозы (Amylum Nişasta Sanayi Ve Ticaret A.Ş, Турция), 8,0 % изолята соевого белка (Linyi Shansong Biological Products Co., Ltd., Китай) и 0,5 % холестерина (АО «ЛенРеактив», Россия).

Животные групп Контроль и LOLA дополнительно получали тетрахлорметан (АО «ЛенРеактив», Россия) внутрибрюшинно в дозе 0,16 мг/кг 2 р/нед в виде свежеприготовленного раствора в миндальном масле [23, 24]; контрольная группа получала эквиобъемные количества растворителя. Все мыши получали воду, соответствовавшую требованиям СанПиН 2.1.3684-21. Доступ к корму и воде был обеспечен *ad libitum*. Группе LOLA на протяжении всего периода исследования вводили внутрижелудочно с помощью зонда препарат (Гепа-Мерц®, гранулы для приготовления раствора для приема внутрь, Merz Pharma GmbH & Co. KGaA, Германия) в дозе 3 г/кг 1 р/сут в виде свежеприготовленного водного раствора. Группы Интакт и Контроль получали эквиобъемные количества растворителя.

На протяжении всего периода эксперимента (3 мес.) еженедельно фиксировали случаи летального исхода и осуществляли взвешивание животных. По окончании исследования в цельной крови, взятой из латеральной хвостовой вены натощак, определяли концентрации аммиака (мкмоль/л) и лактата (ммоль/л) с помощью анализаторов PocketChem BA PA-4140 (ARKRAY, Inc., Япония) и Accutrend Plus (Roche Diagnostics, Швейцария) соответственно. В моче, собранной при помощи индивидуальных метаболических клеток (ZOONLAB GmbH, Германия), измеряли концентрации уробилиногена и билирубина (мкмоль/л) с использованием тест-полосок URS-14 (Changchun Wancheng Bio-Electron Co., Ltd., КНР). Дополнительно выполняли функциональную печеночную пробу Квика – Пытеля по ранее опубликованному протоколу [25].

Поведение и когнитивно-мнестические функции животных оценивали в тестах «Открытое поле» [26], «Черно-белая камера» [27], «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» [28] и «Распознавание нового объекта» [29] по конвенциональным протоколам с использованием установок производства ООО «НПК Открытая Наука» (Россия) и программы для видеотрекинга VideoMot2 3.0.1 (TSE Systems GmbH, Германия). С помощью аппарата TSE Grip Strength Meter (TSE Systems GmbH, Германия) измеряли силу хвата (г) передними и всеми четырьмя конечностями в трех последовательных попытках с последующим усреднением результатов.

Исследование барьерных функций и проницаемости ткани тощей и толстой кишки проводили в камере Уссинга (World Precision Instruments, США) по ранее описанной методике [30].

После выведения животных из эксперимента образцы ткани печени после стандартной пробоподготовки окрашивали гематоксилином и эозином и исследовали путем микроскопии в проходящем свете с использованием микроскопа Axio Scope.A1 (Carl Zeiss, Германия). Оценивали активность гепатита по шкале METAVIR-A, выраженность макро- и микровезикулярного стеатоза гепатоцитов, некроза и фиброза по шкале METAVIR-F. Каждый показатель оценивали по шкале: 0 – отсутствует; 1 – слабо выражен; 2 – умеренно выражен; 3 – выражен; анализ данных осуществляли по ранее опубликованной методике [15].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Prism 10.4.1 (GraphPad Software Inc., США) и R 4.2.3 (R Foundation for Statistical Computing, Австрия) с интегрированной средой разработки RStudio 2026.04.0 (Posit PBC, США). Анализ выживаемости проводили по методу Каплана – Мейера с использованием теста Шенфельда, лог-рангового теста Мантела – Кокса для оценки значимости межгрупповых различий и метода Мантела – Хенсела для расчета риска летального исхода.

Нормальность распределения количественных данных по другим конечным точкам проверяли с помощью W-критерия Шапиро – Уилка. При нормальном распределении значимость межгрупповых различий оценивали путем однофакторного ANOVA с поправкой Даннетта, при ином распределении – при помощи теста Краскела – Уоллиса с поправкой Данна. Порог статистической значимости во всех случаях устанавливали на уровне $p < 0,05$. Данные на графиках отражены в виде «среднее (+); медиана; межквартильный интервал; 5–95-й процентильный интервал».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период моделирования НАСГ в группах Контроль и LOLA погибли 4 (16,0 %) и 6 (24,0 %) животных соответственно; в группе Интакт случаи гибели отсутствовали. Отношение рисков летального исхода между группами Контроль и LOLA составило 1,61 [95 % доверительный интервал: 0,46; 5,72]. Ограниченное среднее время выживания (± стандартная ошибка среднего) равнялось 12,0 ± 0,0, 11,0 ± 0,5 и 10,2 ± ± 0,7 нед. в группах Интакт, Контроль и LOLA соответственно. Межгрупповые различия между параметрами функций выживаемости не имели статистической значимости (рисунок 1, А). Наблюдаемый уровень летальности является типичным для схожих с использованной нами алиментарно-токсических моделей НАСГ и связан не столько с прогрессирующим поражением печени и недостаточностью органа, сколько с выраженными обменными нарушениями, возникающими при резком и радикальном изменении состава пищевого рациона [23, 31, 32].

В группе Интакт наблюдали значимый прирост массы тела за 3 мес. в среднем на 13,7 % ($p < 0,01$); в группах, подвергнутых моделированию НАСГ, масса тела значимо не изменялась (рисунок 1, В). Межгрупповые различия в массе тела не имели статистической значимости на протяжении всего экспериментального периода. Наблюдаемая задержка набора массы тела в группах Контроль и LOLA может быть объяснена изменением пищевого поведения и адаптацией обменных процессов у животных к потреблению высококалорийного рациона [33].

При биохимическом анализе крови в группе Контроль было обнаружено статистически значимое увеличение концентраций аммиака ($p < 0,01$) и лактата ($p < 0,05$) (рисунок 2, А). Гипераммониемия является распространенным феноменом, сопровождающим НАЖБП/НАСГ даже на прецирротических стадиях и играющим роль самостоятельного фактора прогрессирования заболевания и развития осложнений, включая нейропсихические нарушения и саркопению [11, 12, 34]. Курсовое введение LOLA в профилактическом режиме полностью предупреждало формирование гипераммониемии ($p < 0,05$ по сравнению с Контролем), способствуя сохранению концентраций аммиака на уровне здоровых животных.

Повышение уровней лактата в крови является маркером нарушения аэробного энергетического обмена, углеводного и липидного, гомеостаза, митохондриальной дисфункции и резистентности тканей к инсулину. Накопление лактата и неспецифическое лактилирование белков рассматривается как один из сравнительно мало изученных аспектов системной метаболической дисфункции при НАЖБП и еще один потенциальный фактор ее прогрессирования [35]. Применение LOLA не оказывало статистически значимого влияния на уровни лактата в крови животных (рисунок 2, А).

В моче животных с моделью НАСГ наблюдали статистически значимое увеличение концентраций уробилиногена и билирубина по сравнению с их отсутст-

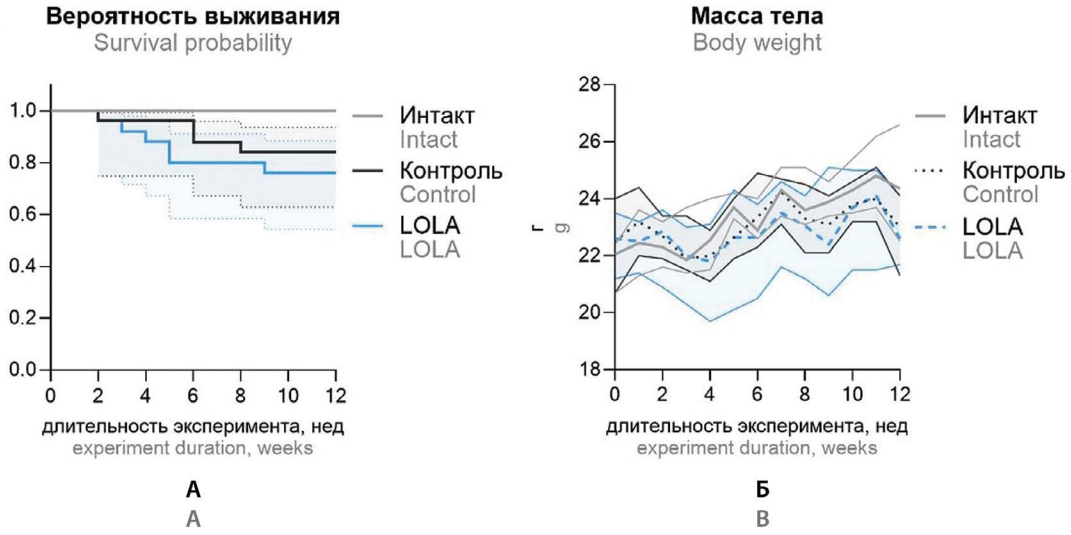


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Выживаемость (А) и динамика массы тела (В) животных (среднее; стандартное отклонение). LOLA – L-орнитина L-аспартат

Figure 1. Survival probability (A) and animal body weight dynamics (B) (mean; standard deviation). LOLA – L-ornithine L-aspartate

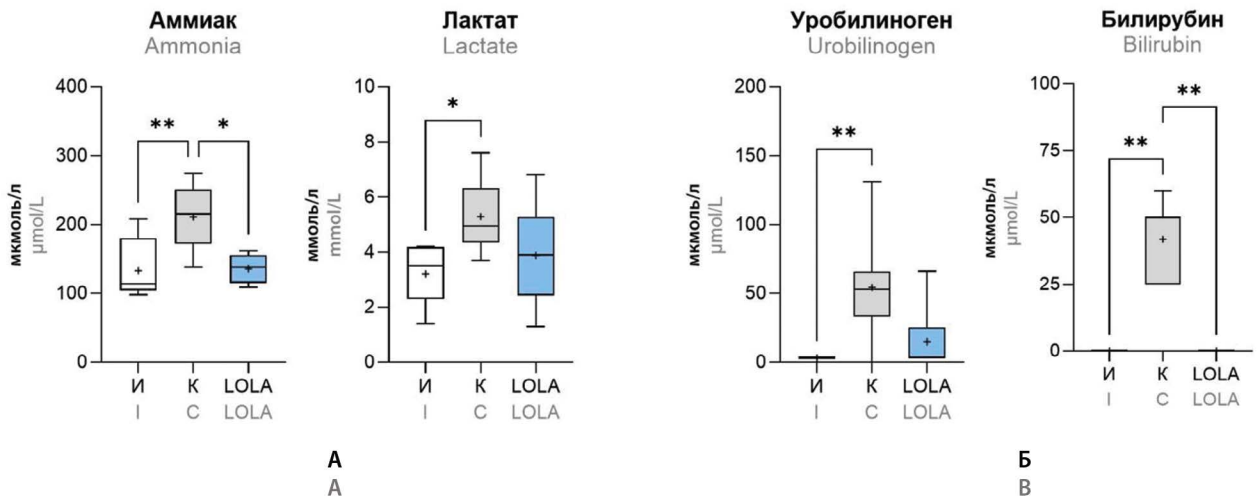


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Биохимические показатели крови (А) и мочи (В).
И – Интакт; К – Контроль; LOLA – L-орнитина L-аспартат. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Figure 2. Biochemical parameters of blood (A) and urine (B).
I – Intact; C – Control; LOLA – L-ornithine L-aspartate. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

вием или следовыми количествами у здоровых особей ($p < 0,01$ для обоих) (рисунок 2, В). Присутствие желчных пигментов в моче является характерным неспецифическим признаком поражений паренхимы печени; ранее аналогичные изменения были установлены у крыс с НАЖБП, индуцированной с использованием гиперкалорийной диеты и гиподинамии [36]. Курсовое введение LOLA полностью предупреждало появление в моче билирубина ($p < 0,01$) и способствовало незначительному ($p = 0,07$) снижению концентраций уробилиногена по сравнению с группой без лечения (рисунок 2, В). При проведении пробы Квика – Пытеля не наблюдали статистически значимых различий между экспериментальными группами, что может свидетельствовать об отсутствии грубых нарушений антитоксической функции печени у животных [25].

В тесте «Открытое поле» у животных с НАСГ наблюдали значимое увеличение общего времени, проводимого в неподвижном состоянии, снижение числа посещенных сегментов ($p < 0,05$ для обоих), а также тенденцию ($p = 0,07$) к сокращению пройденной дистанции. Наблюдаемые изменения с наибольшей вероятностью отражают угнетение общей двигательной активности, характерное для грызунов с алиментарными и комбинированными моделями НАСГ [24, 33, 38]. LOLA статистически значимо уменьшал долю времени, проводимого без движения ($p < 0,05$), а также увеличивал преодолеваемое мышами расстояние ($p < 0,01$) и число посещенных сегментов поля ($p < 0,05$) (рисунок 3, А). В других оцениваемых показателях (скорость передвижения, время, проведенное в центре поля, число замираний, стоек, актов груминга и заглядываний в отверстия) межгрупповых различий зафиксировано не было.

В тесте «Черно-белая камера» мыши с моделью НАСГ проводили меньше времени в целом и времени без движения в белой зоне ($p < 0,05$ для обоих), что может быть проявлением тревожно- и/или депрессивноподобного поведения [14, 24, 33, 38, 39]. Животные, дополнительно получавшие LOLA, проводили больше времени ($p < 0,01$) и преодолевали большее расстояние ($p < 0,05$) в белой камере, а также проводили значимо меньше времени в черной камере при первом ее посещении ($p < 0,01$) (рисунок 3, В). Другие оцениваемые показатели (скорость передвижения, частота замираний, стоек и актов груминга в белой камере, число выглядываний из черной камеры, число переходов между камерами, латентность первого посещения черной камеры) оставались без значимых изменений во всех экспериментальных группах.

Вышеописанные поведенческие изменения могут отражать анксиолитическое действие LOLA, продемонстрированное ранее для более низких его доз (1,5 г/кг/сут) на экспериментальной модели НАСГ [14]. Кроме этого, восстановление общей двигательной активности может указывать на уменьшение депрессивноподобного поведения под влиянием LOLA, косвенным подтверждением чего является наличие у него антиангедонического эффекта при НАСГ [16].

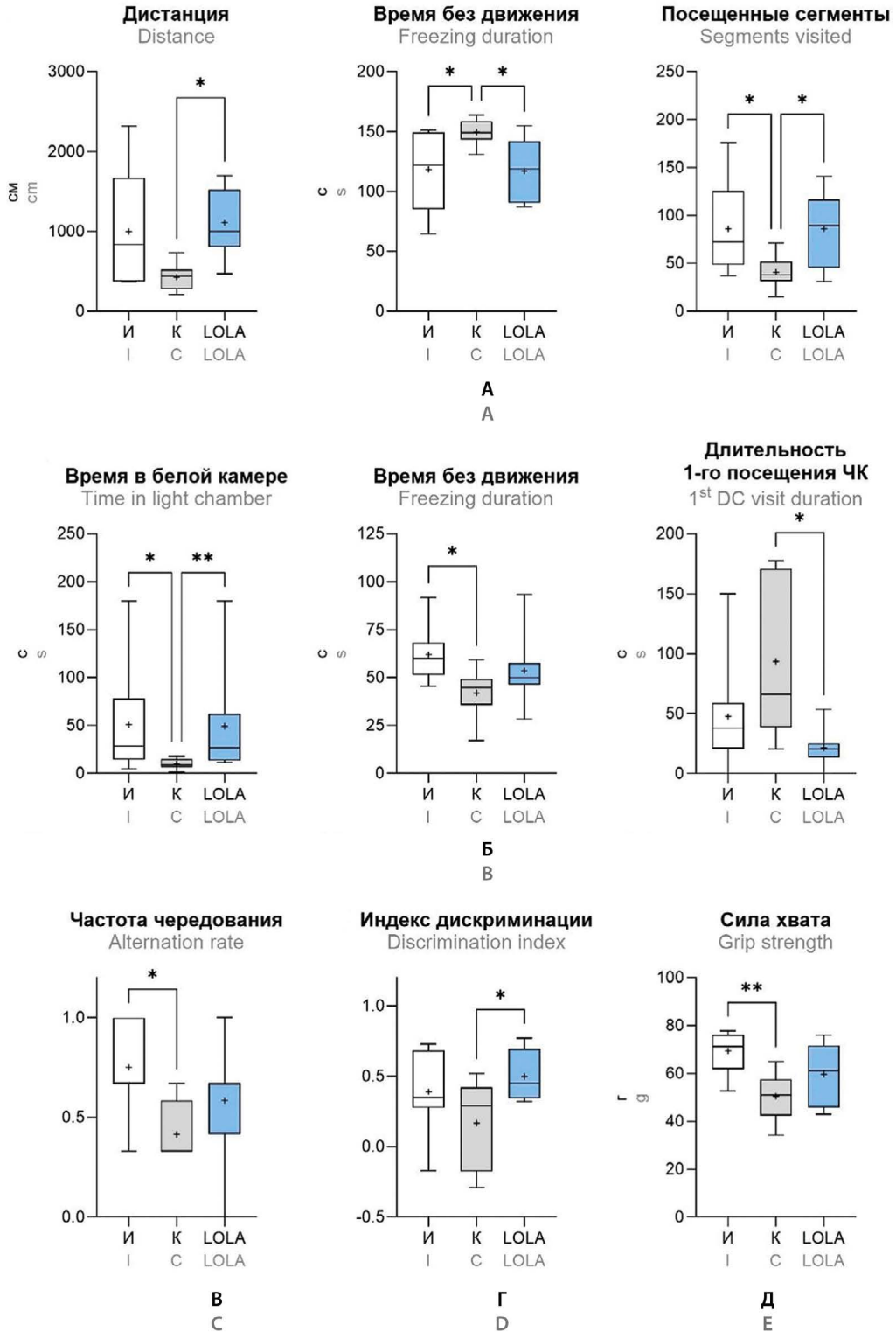


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Показатели поведения животных в тестах «Открытое поле» (А), «Черно-белая камера» (В), «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» (С), «Распознавание нового объекта» (D) и сила хвата передними конечностями (Е).

И – Интакт; К – Контроль; LOLA – L-орнитина L-аспартат; ЧК – черная камера. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Figure 3. Animal behavior parameters in the "Open field" (A), "Light-dark box" (B), "Spontaneous alternation in the T-maze" (C), "Novel object recognition" (D) tests and forelimb grip strength (E).

I – Intact; C – Control; LOLA – L-ornithine L-aspartate; DC – dark chamber. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

В тесте «Спонтанное чередование в Т-лабиринте» в группе Контроль наблюдали статистически значимое ($p < 0,05$) снижение частоты чередования рукавов лабиринта, свидетельствовавшее об отсутствии предпочтения новизны (рисунок 3, C). Среднее значение частоты чередования менее 0,50 может быть признаком как индифферентности вследствие нарушения краткосрочной памяти, так и минимально выраженной неофобической реакции [28, 40]. Нарушение рабочей зрительно-пространственной памяти при НАСГ и гипераммониемии у грызунов связывают с поражением нейронов гиппокампа, таламуса, энторинальной коры и других структур головного мозга, а также дисрегуляцией дофамин- и норадренергической нейротрансмиссии [40, 41]. Применение LOLA не оказывало влияния на частоту чередования в Т-лабиринте, однако значимо ($p < 0,5$) увеличивало степень дискриминации между объектами в тесте «Распознавание нового объекта» (рисунок 3, C, 3, D). Аналогичные эффекты в обоих тестах были продемонстрированы ранее для более низких (1,5 г/кг/сут) доз LOLA [42].

В группе мышей с моделью НАСГ наблюдали статистически значимое ($p < 0,01$) снижение силы хвата перекладины передними, но не всеми четырьмя конечностями (рисунок 3, E). В то время как уменьшение силы хвата может быть признаком саркопении как одного из наиболее характерных внепеченочных осложнений НАЖБП/НАСГ [43], с учетом наблюдаемых поведенческих изменений нельзя исключать и возможность снижения мотивационного компонента, имеющего значение при проведении динамометрических тестов с активным участием животного [44].

В образцах печени, полученных от мышей с моделью НАСГ, наблюдали статистически значимый ($p < 0,05$) микро- и макровезикулярный стеатоз, лобулярное воспаление и формирование очагов некроза, что соответствует морфологической картине стеатогепатита [45]. Значимые признаки фиброза печени по шкале METAVIR-F отсутствовали во всех группах. Введение LOLA сопровождалось значимым ($p < 0,05$) снижением медианной выраженности некротических изменений, а также тенденцией ($p = 0,06$) к уменьшению стеатоза печени без дифференциации по диаметру липидных включений (рисунок 4, A). Полученные результаты согласуются с данными, полученными ранее на аналогичных моделях НАСГ для доз LOLA от 0,2 до 2 г/кг/сут [14, 15, 18, 20].

В группе мышей с моделью НАСГ наблюдали статистически значимые изменения, свидетельствующие о сегмент-специфичном повреждении кишечного эпителия с развитием патологической гиперпроницаемости. Так, в тощей кишке наблюдали значимое ($p < 0,05$) увеличение парацеллюлярной проницаемости для макромолекул, в то время как в толстой кишке – снижение значений трансэпителиального сопротивления (ТЭС) ($p < 0,01$) и тока «короткого замыкания» ($p < 0,05$), характеризующих нарушение барьерных функций и увеличение активного транспорта через эпителий (рисунок 4, B, 4, C). Повышение проницаемости кишечника при НАСГ может быть связано с изменениями состава кишечного микробиома, нарушением вторичного синтеза и энтерогепатической циркуляции желчных кислот, а также токсическим воздействием избытка аммиака. В свою очередь, транслокация бактерий, продуктов их обмена и сигнальных молекул в системный кровоток с формированием эндотоксемии усугубляет повреждение печени и повышает риск внепеченочных осложнений [46–49].

Курсовое введение LOLA предотвращало нарушение проницаемости эпителия тощей кишки ($p < 0,05$), однако не оказывало значимого влияния на изменения, наблюдаемые в толстой кишке (рисунок 4, B, 4, C). Положительное влияние различных солей L-орнитина (L-аспартата, α-кетоглутарата) на состав и метаболическую активность кишечной микробиоты было показано в ряде экспериментов на различных животных моделях [50, 51], а также клинических исследований с участием пациентов с циррозом печени [52, 53]. Кроме этого, посредством восстановления активности цикла мочевины LOLA может предотвращать избыточную активацию синтеза глутамина, одним из неблагоприятных эффектов которой является обратное высвобождение аммиака в просвете кишки [9]. Обсуждается потенциальное влияние L-орнитина, продуцируемого резидентными штаммами *Lactobacillus* spp., на поддержание структурной целостности слизистой оболочки кишки, регуляции ее пролиферации и иммуновоспалительного ответа [54, 55]. Возможные механизмы влияния LOLA на проницаемость кишечного барьера и его вклад в общий терапевтический эффект при НАСГ и гипераммониемии требуют дальнейшего уточнения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено, что высокие дозы LOLA (3 г/кг/сут, эквивалентные 18 г/сут для человека) при экспериментальном НАСГ у мышей уменьшают выраженность некротических изменений в печени и устраняют билирубинурию, а также предупреждают формирование тревожно-депрессивного поведенческого фенотипа и нарушение краткосрочной распознающей памяти, но не оказывают влияния на общую смертность. Согласно полученным результатам, внепеченочные эффекты LOLA могут быть обусловлены снижением уровней аммиака в системном кровотоке и частичным восстановлением нарушенной проницаемости эпителия тощей кишки.

Таким образом, общий профиль фармакологической активности в отношении морфологии печени и ассоциированных внепеченочных осложнений позволяет предварительно предполагать сопоставимую эффективность LOLA при использовании стандартных и двукратных суточных доз у животных. Целесообразность и безопасность применения высокодозовых режимов терапии LOLA требует тщательной оценки в прямых сравнительных исследованиях.

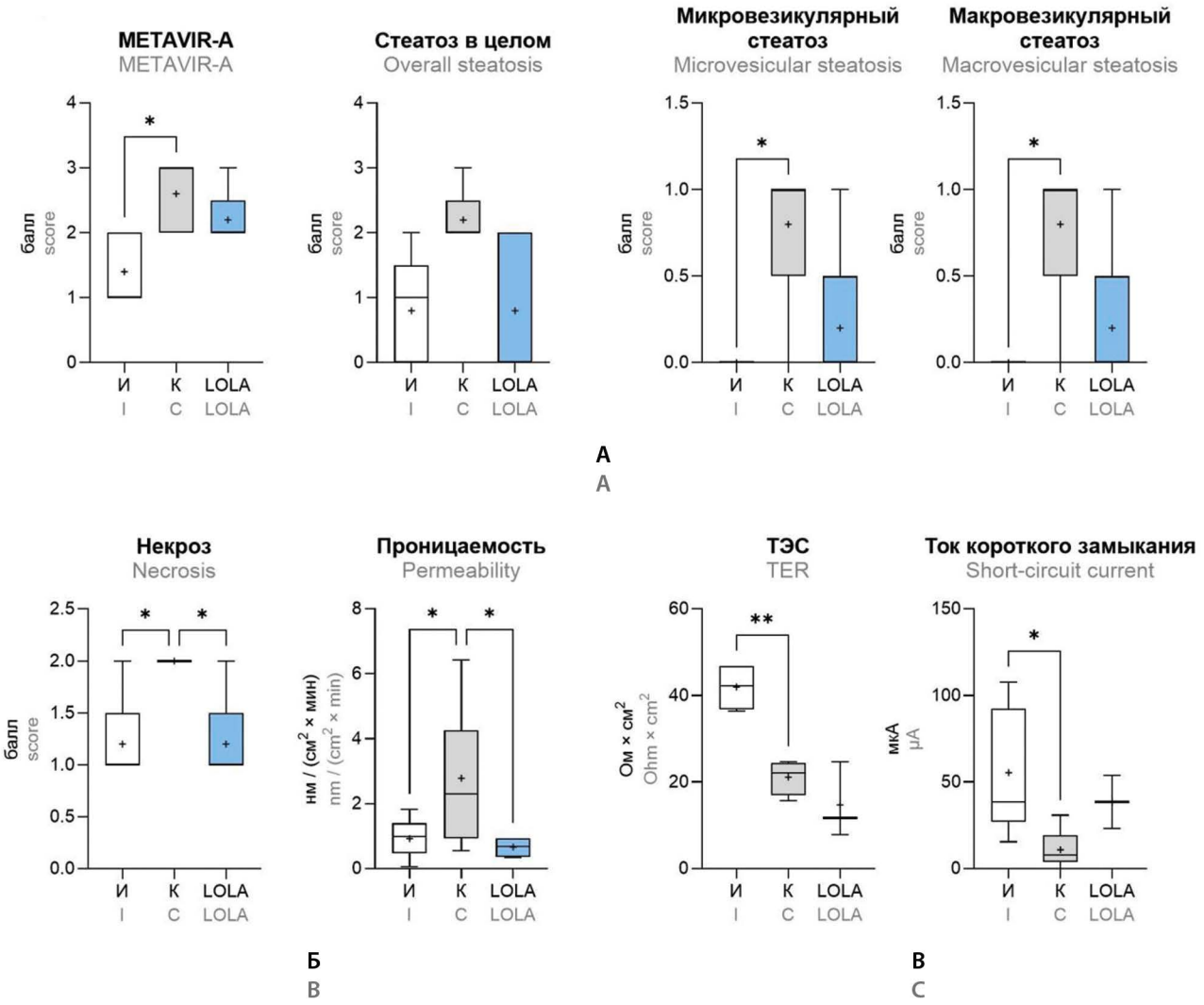


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Показатели морфологии печени (А); показатели проницаемости эпителия тощей (В) и толстой (С) кишки. И – Интакт; К – Контроль; LOLA – L-орнитина L-аспартат; ТЭС – трансэпителиальное сопротивление. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Figure 4. Parameters of liver morphology (A); parameters of jejunal (B) and colonic (C) epithelium permeability. I – Intact; C – Control; LOLA – L-ornithine L-aspartate; TER – transepithelial resistance. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В. Т., Драпкина О. М., Маевская М. В., Райхельсон К. Л., Оковитый С. В., Жаркова М. С., Гречишникова В. Р., Абдулганиева Д. И., Алексеенко С. А., Ардатская М. Д., Бакулин И. Г., Бакулина Н. В., Богомолов П. О., Бредер В. В., Винницкая Е. В., Гейвандова Н. И., Голованова Е. В., Гриневич В. Б., Дощицин В. Л., Дудинская Е. Н., Ершова Е. В., Кодзоева Х. Б., Козлова И. В., Комшилова К. А., Конев Ю. В., Корочанская Н. В., Котовская Ю. В., Кравчук Ю. А., Лоранская И. Д., Маев И. В., Мартынов А. И., Мехтиев С. Н., Мишина Е. Е., Надинская М. Ю., Никитин И. Г., Осипенко М. Ф., Остроумова О. Д., Павлов Ч. С., Погосова Н. В., Радченко В. Г., Ройтберг Г. Е., Сайфутдинов Р. Г., Самсонов А. А., Селиверстов П. В., Ситкин С. И., Тарасова Л. В., Тарзиманова А. И., Ткачева О. Н., Ткаченко Е. И., Трошина Е. А., Туркина С.В., Успенский Ю. П., Фоминых Ю. А., Хлынова О. В., Цыганова Ю. В., Шамхалова М. Ш., Шархун О. О., Шестакова М. В. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени, Российской гастроэнтерологической ассоциации, Российского общества профилактики неинфекционных заболеваний, Российской ассоциации эндокринологов, Российского научного медицинского общества терапевтов, Национального общества профилактической кардиологии, Российской ассоциации геронтологов и гериатров по неалкогольной жировой болезни печени. *Российский журнал гастроэнтероло-*

гии, гепатологии, колопроктологии. 2025;35(1):94–152. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2025-35-1-94-152
2. Rinella M. E., Lazarus J. V., Ratziu V., Francque S. M., Sanyal A. J., Kanwal F., Romero D., Abdelmalek M. F., Anstee Q. M., Arab J. P., Arrese M., Bataller R., Beuers U., Boursier J., Bugianesi E., Byrne C. D., Castro Narro G. E., Chowdhury A., Cortez-Pinto H., Cryer D. R., Cusi K., El-Kassas M., Klein S., Eskridge W., Fan J., Gawrieh S., Guy C. D., Harrison S. A., Kim S. U., Koot B. G., Korenjak M., Kowdley K. V., Lacaille F., Loomba R., Mitchell-Thain R., Morgan T. R., Powell E. E., Roden M., Romero-Gómez M., Silva M., Singh S. P., Sookoian S. C., Spearman C. W., Tiniakos D., Valenti L., Vos M. B., Wong V. W.-S., Xanthakos S., Yilmaz Y., Younossi Z., Hobbs A., Villota-Rivas M., Newsome P. N. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Journal of Hepatology*. 2023;79(6):1542–1556. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.06.003
3. Райхельсон К. Л., Маевская М. В., Жаркова М. С., Гречишникова В. Р., Оковитый С. В., Деева Т. А., Марченко Н. В., Прашнова М. К., Ивашкин В. Т. Жировая болезнь печени: новая номенклатура и ее адаптация в Российской Федерации. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2024;34(2):35–44. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2024-961
4. Драпкина О. М., Евстифеева С. Е., Шальнова С. А., Куценко В. А., Баланова Ю. А., Имаева А. Э., Капустина А. В., Котова М. Б., Максимов С. А., Муромцева Г. А., Литинская О. А., Покровская М. С., Филичкина Е. М., Сопленкова А. Г., Гоманова Л. И., Долудин Ю. В., Ефимова И. А., Борисова А. Л., Карамнова Н. С., Швабская О. Б., Викторова И. А., Прищепа Н. Н., Редько А. Н., Якушин С. С., Репкина Т. В., Гоношилова Т. О., Кудрявцев А. В., Белова Н. И., Шагров Л. Л., Самотруева М. А., Ясенявская А. Л., Чернышева Е. Н., Глуховская С. В., Левина И. А., Ширшова Е. А., Доржиева Е. Б., Урбанова Е. З., Боровкова Н. Ю., Курашин В. К., Токарева А. С., Рагино Ю. И., Симонова Г. И., Худякова А. Д., Никулин В. Н., Аслямов О. Р., Хохлова Г. В., Соловьева А. В., Родионов А. А., Крячкова О. В., Шамурова Ю. Ю., Танцырева И. В., Барышникова И. Н., Атаев М. Г., Раджабов М. О., Исаханова М.М., Уметов М.А., Эльгарова Л.В., Хакуашева И. А., Ямашкина Е. И., Есина М. В., Куняева Т. А., Никитина А. М., Спиридонова Ю. Е., Саввина Н. В., Наумова Е. А., Юдин В. С., Кескинов А. А., Каштанова Д. А., Юдин С. М., Концевая А. В. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени и ее ассоциации с сердечно-сосудистыми факторами риска (данные российских эпидемиологических исследований). *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(2):4316. https://doi.org/10.15829/1728-8800-2025-4316
5. Younossi Z. M., Kalligeros M., Henry L. Epidemiology of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Clinical and Molecular Hepatology*. 2025;31(Suppl):S32–S50. https://doi.org/10.3350/cmh.2024.0431
6. Zhi Y., Dong Y., Li X., Zhong W., Lei X., Tang J., Mao Y. Current Progress and Challenges in the Development of Pharmacotherapy for Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2024;40(7):e3846. https://doi.org/10.1002/dmrr.3846
7. Prikhodko V. A., Okovityi S. V. Current Drug Development Pipeline for MASLD and MASH: Focusing on Cardiovascular Comorbidities. *Biomedicines*. 2026;14(4):909. https://doi.org/10.3390/biomedicines14040909
8. Kircheis G., Lüth S. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) in Hepatic Encephalopathy. *Drugs*. 2019;79(Suppl 1):23–29. https://doi.org/10.1007/s40265-018-1023-2
9. Butterworth R. F. L-Ornithine L-Aspartate for the Treatment of Sarcopenia in Chronic Liver Disease: The Taming of a Vicious Cycle. *Canadian Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2019;2019:8182195. https://doi.org/10.1155/2019/8182195
10. Надинская М. Ю., Маевская М. В., Бакулин И. Г., Бессонова Е. Н., Буеверов А. О., Жаркова М. С., Оковитый С. В., Островская А. С., Гуляева К. А., Ивашкин В. Т. Диагностическое и прогностическое значение гипераммониемии у пациентов с циррозом печени, печеночной энцефалопатией и саркопенией (соглашение специалистов). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2024;34(1):85–100. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2024-34-1-85-100
11. Ismaiel A., Ciornolutchii V., Popa S.-L., Dumitrascu D. L. Can ammonia scavenging treat MASLD? Evaluating the evidence for L-ornithine L-aspartate–A systematic review. *European Journal of Clinical Investigation*. 2026;56(2):e70185. https://doi.org/10.1111/eci.70185
12. Надинская М. Ю., Оковитый С. В., Приходько В. А., Шептулина А. Ф., Деева Т. А., Маевская М. В., Осипенко М. Ф. Клиническое значение гипераммониемии при неалкогольной жировой болезни печени. *Медицинский Совет*. 2026;(8):100–112. https://doi.org/10.21518/ms2026-204
13. Nair A., Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 2016;7(2):27–31. https://doi.org/10.4103/0976-0105.177703
14. Приходько В. А., Сысоев Ю. И., Поверяева М. А., Бунят А. В., Карев В. Е., Ивкин Д. Ю., Суханов Д. С., Шустов Е. Б., Оковитый С. В. Влияние эмпаглифлозина и L-орнитина L-аспартата на поведенческо-когнитивные функции и физическую работоспособность при экспериментальном стеатогепатите. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2020;(3):53–62. https://doi.org/10.24075/vrgmu.2020.034
15. Prikhodko V. A., Karev V. E., Sysoev Yu. I., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V. A Simple Algorithm for Semiquantitative Analysis of Scored Histology Data in the R Environment, on the Example of Murine Non-Alcoholic Steatohepatitis Pharmacotherapy. *Livers*. 2022;2(4):412–424. https://doi.org/10.3390/livers2040031
16. Приходько В. А., Самарич А. С., Матузок Т. М., Шаркова У. В., Дорощук К. С., Пятченков М. О., Оковитый С. В. Антиангедонический эффект орнитина аспартата при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите. *Биомедицина*. 2025;21(3):113–116. https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-3-113-116
17. Pichon C., Nachit M., Gillard J., Vande Velde G., Lanthier N., Leclercq I. A. Impact of L-ornithine L-aspartate on non-alcoholic steatohepatitis-associated hyperammonemia and muscle alterations. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:1051157. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1051157
18. Wang Z., Wang M., Li J., Yang R., Zeng J., Pan Q., Fan P. Protective effects of L-ornithine L-aspartate on mice with nonalcoholic steatohepatitis and sarcopenic obesity. *Journal of Practical Hepatology*. 2021;24(5):657–660. https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-5069.2021.05.013

19. Rodrigues de Freitas L. B., Longo L., Filippi-Chiela E., de Souza V. E. G., Behrens L., Pereira M. H. M., Leonhard L. C., Zanettini G., Pinzon C.E., Luchese E., Semmelmann Pereira Lima G. J., Cerski C. T., Uribe-Cruz C., Álvares-da-Silva M. R. Ornithine Aspartate and Vitamin-E Combination Has Beneficial Effects on Cardiovascular Risk Factors in an Animal Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats. *Biomolecules*. 2022;12(12):1773. https://doi.org/10.3390/biom12121773
20. Longo L., Aguiar Marschner R., Rodrigues de Freitas L. B., de Bona L. R., Behrens L., Pereira M. H. M., de Souza V. E. G., Leonhard L. C., Zanettini G., Pinzon C. E., Semmelmann Pereira Lima G. J., Schmidt Cerski C. T., Uribe-Cruz C., Magagnin Wajner S., Álvares-da-Silva M. R. Redefining the Role of Ornithine Aspartate and Vitamin E in Metabolic-Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease through Its Biochemical Properties. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):6839. https://doi.org/10.3390/ijms25136839
21. Goh E. T., Stokes C. S., Sidhu S. S., Vilstrup H., Gluud L. L., Morgan M. Y. L-ornithine L-aspartate for prevention and treatment of hepatic encephalopathy in people with cirrhosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018;5(5):CD012410. https://doi.org/10.1002/14651858.CD012410.pub2
22. Драпкина О. М., Ивашкин В. Т., Маев И. В., Ливзан М. А., Дроздова Л. Ю., Жаркова М. С., Ипатов П. В., Калинина А. М., Люсина Е. О., Маевская М. В., Свищева А. А., Шепель Р. Н., Шептулина А. Ф. Диспансерное наблюдение пациентов с алкогольным циррозом печени врачом-терапевтом в первичном звене здравоохранения. Методические рекомендации. *Первичная медико-санитарная помощь*. 2025;2(1):115–145. https://doi.org/10.15829/3034-4123-2025-33
23. Tsuchida T., Lee Y. A., Fujiwara N., Ybanez M., Allen B., Martins S., Fiel M. I., Goossens N., Chou H.-I., Hoshida Y., Friedman S. L. A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer. *Journal of Hepatology*. 2018;69(2):385–395. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.011
24. Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V. Glycyrrhizinic Acid and Phosphatidylcholine Combination as a Preventive Therapy for Experimental Murine Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Livers*. 2024;4(1):63–83. https://doi.org/10.3390/livers4010006
25. Приходько В. А., Матузок Т. М., Карев В. Е., Изотова А. Б., Оковитый С. В. Адаптация протокола пробы Квика – Пытеля для оценки антитоксической функции печени у мышей. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(1):202–209. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2256
26. Seibenhener M. L., Wooten M. C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2015;(96):52434. https://doi.org/10.3791/52434-v
27. Bourin M., Hascoët M. The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*. 2003;463(1–3):55–65. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01274-3
28. Deacon R. M. J., Rawlins J. N. P. T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols*. 2006;1(1):7–12. https://doi.org/10.1038/nprot.2006.2
29. Leger M., Quiedeville A., Bouet V., Haelewyn B., Boulouard M., Schumann-Bard P., Freret T. Object recognition test in mice. *Nature Protocols*. 2013;8(12):2531–2537. https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155
30. Федорова А. А., Пятченков М. О., Дмитриева Е. А., Калашников Е. А., Иванова Г. Т., Марков А. Г. Барьерные свойства эпителия кишки в динамике развития нефропатии. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. 2025;111(11):1844–1859. https://doi.org/10.7868/S2658655X25110101
31. Zhang G., Wang X., Chung T.-Y., Ye W., Hodge L., Zhang L., Chng K., Xiao Y.-F., Wang Y. J. Carbon tetrachloride (CCl_4) accelerated development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/steatohepatitis (NASH) in MS-NASH mice fed western diet supplemented with fructose (WDF). *BMC Gastroenterology*. 2020;20(1):339. https://doi.org/10.1186/s12876-020-01467-w
32. Sodum N., Rao V., Cheruku S. P., Kumar G., Sankhe R., Kishore A., Kumar N., Rao C. M. Amelioration of high-fat diet (HFD) + CCl4 induced NASH/NAFLD in CF-1 mice by activation of SIRT-1 using cinnamoyl sulfonamide hydroxamate derivatives: in-silico molecular modelling and in-vivo prediction. *3 Biotech*. 2022;12(7):147. https://doi.org/10.1007/s13205-022-03192-5
33. Приходько В. А., Матузок Т. М., Елецкая Е. И., Семивеличенко Е. Д., Карев В. Е., Караваева А. В., Ереско С. О., Селизарова Н. О., Ивкин Д. Ю., Оковитый С. В. Гепато- и нейротропная активность комбинации янтарной кислоты, метионина и рибофлавина при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2024;87(8):7–15. https://doi.org/10.30906/0869-2092-2024-87-8-7-15
34. Anand A. C., Acharya S. K. The Story of Ammonia in Liver Disease: An Unraveling Continuum. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2024;14(4):101361. https://doi.org/10.1016/j.jceh.2024.101361
35. Chen H., Ye Y., He T., Li B., Wang Q. Protein lactylation in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: a mechanistic review. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2026;18(1):75. https://doi.org/10.1186/s13098-026-02105-3
36. Бунят А. В., Спасенкова О. М., Карев В. Е., Караваева А. В., Ивкин Д. Ю., Куликов А. Н., Оковитый С. В., Кириллова Н. В. Модификация модели неалкогольной жировой болезни печени у крыс при сочетании гиперкалорийной диеты и гиподинамии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):155–165. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165
37. Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V. Glycyrrhizinic Acid and Phosphatidylcholine Combination as a Preventive Therapy for Experimental Murine Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Livers*. 2024;4(1):63–83. https://doi.org/10.3390/livers4010006
38. Yang J., Ou W., Lin G., Wang Y., Chen D., Zeng Z., Chen Z., Lu X., Wu A., Lin C., Liang Y. PAMK Ameliorates Non-Alcoholic Steatohepatitis and Associated Anxiety/Depression-like Behaviors Through Restoring Gut Microbiota and Metabolites in Mice. *Nutrients*. 2024;16(22):3837. https://doi.org/10.3390/nu16223837
39. Du H., Zhou Y., Wang J., Bai X., Tao B., Chen M. High-fat Fructose diet induces neuroinflammation and anxiety-like behaviors by modulating liver-brain axis communication. *Psychopharmacology*. 2025;242(12):2651–2664. https://doi.org/10.1007/s00213-025-06820-z

40. Pinçon A., De Montgolfier O., Akkoyunlu N., Daneault C., Pouliot P., Villeneuve L., Lesage F., Levy B. I., Thorin-Trescases N., Thorin É., Ruiz M. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, and the Underlying Altered Fatty Acid Metabolism, Reveals Brain Hypoperfusion and Contributes to the Cognitive Decline in APP/PS1 Mice. *Metabolites*. 2019;9(5):104. https://doi.org/10.3390/metabo9050104
41. Higarza S. G., Arboleya S., Gueimonde M., Gómez-Lázaro E., Arias J. L., Arias N. Neurobehavioral dysfunction in non-alcoholic steatohepatitis is associated with hyperammonemia, gut dysbiosis, and metabolic and functional brain regional deficits. *PLoS One*. 2019;14(9):e0223019. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223019
42. Приходько В. А. Влияние орнитина аспартата и эмпаглифлозина на проявления мнестического дефицита при экспериментальном стеатогепатите. *Биомедицина*. 2022;18(3):128–132. https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-128-132
43. Liu C.-H., Zeng Q.-M., Kim W., Kim S. U., Younossi Z. M., Targher G., Byrne C. D., Mantzoros C. S., Charatcharoenwitthaya P., Leclercq I. A., Romero-Gómez M., Tang H., Zheng M.-H. Sarcopenia and MASLD: novel insights and the future. *Nature Reviews. Endocrinology*. 2026;22(3):139–152. https://doi.org/10.1038/s41574-025-01197-7
44. Deacon R. M. J. Measuring the strength of mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2013;(76):2610. https://doi.org/10.3791/2610
45. Lackner C., Gouw A. S. H., Avancini Ferreira Alves V., Arola J., Bedossa P., Behling C., Brunt E. M., Burt A., Clouston A., Cummings O., Goodman Z. D., Guido M., Guy C., Hubscher S. G., Hytiroglou P., Kleiner D., Pai R., Paradis V., Park Y. N., Rastogi A., Schirmacher P., Wee A., Yano H., Yeh M., Avian A., Tiniakos D. G. Consensus position statements for the standardized application of histological grading and staging systems in MASH clinical trials. *Journal of Hepatology*. 2026;84(4):693–701. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2025.09.019
46. Симаненков В. И., Маев И. В., Ткачева О. Н., Алексеенко С. А., Андреев Д. Н., Бордин Д. С., Власов Т. Д., Воробьёва Н. М., Гриневич В. Б., Губонина И. В., Дробижев М. Ю., Ефремов Н. С., Каратеев А. Е., Котовская Ю. В., Кравчук Ю. А., Кривобородов Г. Г., Кульчавеня Е. В., Лила А. М., Маевская М. В., Полуэктова Е. А., Попкова Т. В., Саблин О. А., Соловьева О. И., Суворов А. Н., Тарасова Г. Н., Трухан Д. И., Федотова А. В. Синдром повышенной эпителиальной проницаемости в клинической практике. Мультидисциплинарный национальный консенсус. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(1):2758. https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-2758
47. Benedé-Ubieto R., Cubero F. J., Nevzorova Y. A. Breaking the barriers: the role of gut homeostasis in Metabolic-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD). *Gut Microbes*. 2024;16(1):2331460. https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2331460
48. Теплюк Д. А., Левина О. Н., Павлов Ч. С., Сороколетов С. М., Пашкова Е. Ю., Аметов А. С., Большаков С. А., Шутов Е. В. Микробиом кишечника и неалкогольная жировая болезнь печени: перспективы лекарственной терапии. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2024;(10):178–187. https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-230-10-178-187
49. Luo X., Wang K., Jiang C. Gut microbial enzymes and metabolic dysfunction-associated steatohepatitis: Function, mechanism, and therapeutic prospects. *Cell Host & Microbe*. 2025;33(6):836–853. https://doi.org/10.1016/j.chom.2025.04.020
50. Li Y., Bao X., Yang F., Tian J., Su W., Yin J., Yao K., Li T., Yin Y. Ornithine α-Ketoglutarate Alleviates Inflammation *via* Regulating Ileal Mucosa Microbiota and Metabolites in Enterotoxigenic *Escherichia coli*-Infected Pigs. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:862498. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.862498
51. Wang T., Tian J., Su W., Yang F., Yin J., Jiang Q., Li Y., Yao K., Li T., Yin Y. Effect of Ornithine α-Ketoglutarate on Intestinal Microbiota and Serum Inflammatory Cytokines in Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis. *Nutrients*. 2023;15(11):2476. https://doi.org/10.3390/nu15112476
52. Horvath A., Traub J., Aliwa B., Bourgeois B., Madl T., Stadlbauer V. Oral Intake of L-Ornithine-L-Aspartate Is Associated with Distinct Microbiome and Metabolome Changes in Cirrhosis. *Nutrients*. 2022;14(4):748. https://doi.org/10.3390/nu14040748
53. Habich D., Horvath A., Feldbacher N., Rebol L., Nepel M., Madl T., Habisch H.-J., Baumann-Durchschein F., Fürst S., Plank J., Rainer F., Spindelböck W., Stauber R. E., Tatscher E., Wagner M., Zollner G., Stadlbauer V. An observational study on the effect of l-ornithine-l-aspartate (LOLA) on the gut microbiome in liver cirrhosis. A single center phase 4 study. *Clinical Nutrition*. 2026;56:106522. https://doi.org/10.1016/j.clnu.2025.11.007
54. Qi H., Li Y., Yun H., Zhang T., Huang Y., Zhou J., Yan H., Wei J., Liu Y., Zhang Z., Gao Y., Che Y., Su X., Zhu D., Zhang Y., Zhong J., Yang R. Lactobacillus maintains healthy gut mucosa by producing L-Ornithine. *Communications Biology*. 2019;2:171. https://doi.org/10.1038/s42003-019-0424-4
55. Li Y., Liu Y., Wang J., Gao Y., Zhang Y., Yang R. Gut microbiota L-ornithine promotes resistance to obesity through metabolites mediated immunosuppressive macrophages. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2025;82(1):426. https://doi.org/10.1007/s00018-025-05882-8

REFERENCES

1. Ivashkin V. T., Drapkina O. M., Maevskaya M. V., Raikhelson K. L., Okovityi S. V., Zharkova M. S., Grechishnikova V. R., Abdulganieva D. I., Alekseenko S. A., Ardatskaya M. D., Bakulin I. G., Bakulina N. V., Bogomolov P. O., Breder V. V., Vinnitskaya E. V., Geyvandova N. I., Golovanova E. V., Grinevich V. B., Doshchitsin V. L., Dudinskaya E. N., Ershova E. V., Kodzoeva K. B., Kozlova I. V., Komshilova K. A., Konev Yu. V., Korochanskaya N. V., Kotovskaya Yu. V., Kravchuk Yu. A., Loranskaya I. D., Maev I. V., Martynov A. I., Mekhtiev S. N., Mishina E. E., Nadinskaia M. Yu., Nikitin I. G., Osipenko M. F., Ostroumova O. D., Pavlov Ch. S., Pogosova N. V., Radchenko V. G., Roytberg G. E., Saifutdinov R. G., Samsonov A. A., Seliverstov P. V., Sitkin S. I., Tarasova L. V., Tarzimanova A. I., Tkacheva O. N., Tkachenko E. I., Troshina E. A., Turkina S. V., Uspenskiy Yu. P., Fominykh Yu. A., Khlynova O. V., Tsyganova Yu. V., Shamkhalova M. Sh., Sharkhun O. O., Shestakova M. V. Clinical Guidelines of the Russian Society for the Study of the Liver, Russian Gastroenterological Association, Russian Society for the Prevention of Non-Communicable Diseases, Russian Association of Endocrinologists, Russian Scientific Medical Society of Therapists, National Society of Preventive Cardiology, Russian Association of

Gerontologists and Geriatricians on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2025;35(1):94–152. (In Russ.) https://doi.org/10.22416/1382-4376-2025-35-1-94-152

2. Rinella M. E., Lazarus J. V., Ratziu V., Francque S. M., Sanyal A. J., Kanwal F., Romero D., Abdelmalek M. F., Anstee Q. M., Arab J. P., Arrese M., Bataller R., Beuers U., Boursier J., Bugianesi E., Byrne C. D., Castro Narro G. E., Chowdhury A., Cortez-Pinto H., Cryer D. R., Cusi K., El-Kassas M., Klein S., Eskridge W., Fan J., Gawrieh S., Guy C. D., Harrison S. A., Kim S. U., Koot B. G., Korenjak M., Kowdley K. V., Lacaille F., Loomba R., Mitchell-Thain R., Morgan T. R., Powell E. E., Roden M., Romero-Gómez M., Silva M., Singh S. P., Sookoian S. C., Spearman C. W., Tiniakos D., Valenti L., Vos M. B., Wong V. W.-S., Xanthakos S., Yilmaz Y., Younossi Z., Hobbs A., Villota-Rivas M., Newsome P. N. A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Journal of Hepatology*. 2023;79(6):1542–1556. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2023.06.003
3. Raikhelson K. L., Maevskaya M. V., Zharkova M. S., Grechishnikova V. R., Okovityi S. V., Deeva T. A., Marchenko N. V., Prashnova M. K., Ivashkin V. T. Steatotic Liver Disease: New Nomenclature and Its Localization in the Russian Federation. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2024;34(2):35–44. (In Russ.) https://doi.org/10.22416/1382-4376-2024-961
4. Drapkina O. M., Evstifeeva S. E., Shalnova S. A., Kutsenko V. A., Balanova Yu. A., Imaeva A. E., Kapustina A. V., Kotova M. B., Maksimov S. A., Muromtseva G. A., Litinskaya O. A., Pokrovskaya M. S., Filichkina E. M., Soplenkova A. G., Gomanova L. I., Doludin Yu. V., Efimova I. A., Borisova A. L., Karamnova N. S., Shvabskaya O. B., Viktorova I. A., Prishchepa N. N., Redko A. N., Yakushin S. S., Repkina T. V., Gonoshilova T. O., Kudryavtsev A. V., Belova N. I., Shagrov L. L., Samotrueva M. A., Yasenyavskaya A. L., Chernysheva E. N., Glukhovskaya S. V., Levina I. A., Shirshova E. A., Dorzhieva E. B., Urbanova E. Z., Borovkova N. Yu., Kurashin V. K., Tokareva A. S., Ragino Yu. I., Simonova G. I., Khudyakova A. D., Nikulin V. N., Aslyamov O. R., Khokhlova G. V., Solovyova A. V., Rodionov A. A., Kryachkova O. V., Shamurova Yu. Yu., Tantsyreva I. V., Baryshnikova I. N., Ataev M. G., Radzhabov M. O., Isakhanova M. M., Umetov M. A., Elgarova L. V., Khakuasheva I. A., Yamashkina E. I., Esina M. V., Kunyaeva T. A., Nikitina A. M., Spiridonova Yu. E., Savvina N. V., Naumova E. A., Yudin V. S., Keskinov A. A., Kashtanova D. A., Yudin S. M., Kontsevaya A. B. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular risk factors (data from Russian epidemiological studies). *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(2):4316. (In Russ.) https://doi.org/10.15829/1728-8800-2025-4316
5. Younossi Z. M., Kalligeros M., Henry L. Epidemiology of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Clinical and Molecular Hepatology*. 2025;31(Suppl):S32–S50. https://doi.org/10.3350/cmh.2024.0431
6. Zhi Y., Dong Y., Li X., Zhong W., Lei X., Tang J., Mao Y. Current Progress and Challenges in the Development of Pharmacotherapy for Metabolic Dysfunction-Associated Steatohepatitis. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2024;40(7):e3846. https://doi.org/10.1002/dmrr.3846
7. Prikhodko V. A., Okovityi S. V. Current Drug Development Pipeline for MASLD and MASH: Focusing on Cardiovascular Comorbidities. *Biomedicines*. 2026;14(4):909. https://doi.org/10.3390/biomedicines14040909
8. Kircheis G., Lüth S. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) in Hepatic Encephalopathy. *Drugs*. 2019;79(Suppl 1):23–29. https://doi.org/10.1007/s40265-018-1023-2
9. Butterworth R. F. L-Ornithine L-Aspartate for the Treatment of Sarcopenia in Chronic Liver Disease: The Taming of a Vicious Cycle. *Canadian Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2019;2019:8182195. https://doi.org/10.1155/2019/8182195
10. Nadinskaia M. Yu., Maevskaya M. V., Bakulin I. G., Bessonova E. N., Bueverov A. O., Zharkova M. S., Okovityi S. V., Ostrovskaya A. S., Gulyaeva K. A., Ivashkin V. T. Diagnostic and Prognostic Value of Hyperammonemia in Patients with Liver Cirrhosis, Hepatic Encephalopathy, and Sarcopenia (Experts' Agreement). *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2024;34(1):85–100. (In Russ.) https://doi.org/10.22416/1382-4376-2024-34-1-85-100
11. Ismaiel A., Ciornolutchii V., Popa S.-L., Dumitrascu D. L. Can ammonia scavenging treat MASLD? Evaluating the evidence for L-ornithine L-aspartate–A systematic review. *European Journal of Clinical Investigation*. 2026;56(2):e70185. https://doi.org/10.1111/eci.70185
12. Nadinskaia M. Y., Okovityi S. V., Prikhodko V. A., Sheptulina A. F., Deeva T. A., Maevskaya M. V., Osipenko M. F. Clinical significance of hyperammonemia in non-alcoholic fatty liver disease. *Medical Council*. 2026;(8):100–112. (In Russ.) https://doi.org/10.21518/ms2026-204
13. Nair A., Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 2016;7(2):27–31. https://doi.org/10.4103/0976-0105.177703
14. Prikhodko V. A., Sysoev Y. I., Poveryaeva M. A., Bunyat A. V., Karev V. E., Ivkin D. Yu., Sukhanov D. S., Shustov E. B., Okovityi S. V. Effects of empagliflozin and L-ornithine L-aspartate on behavior, cognitive functions, and physical performance in mice with experimentally induced steatohepatitis. *Bulletin of Russian State Medical University*. 2020;(3):53–62. (In Russ.) https://doi.org/10.24075/vrgmu.2020.034
15. Prikhodko V. A., Karev V. E., Sysoev Yu. I., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V. A Simple Algorithm for Semiquantitative Analysis of Scored Histology Data in the R Environment, on the Example of Murine Non-Alcoholic Steatohepatitis Pharmacotherapy. *Livers*. 2022;2(4):412–424. https://doi.org/10.3390/livers2040031
16. Prikhodko V. A., Samarich A. S., Matuzok T. M., Sharkova U. V., Doroshchuk K. S., Pyatchenkov M. O., Okovitiy S. V. Antianhedonic Effect of Ornithine Aspartate in Experimental Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Journal Biomed*. 2025;21(3):113–116. (In Russ.) https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-3-113-116
17. Pichon C., Nachit M., Gillard J., Vande Velde G., Lanthier N., Leclercq I. A. Impact of L-ornithine L-aspartate on non-alcoholic steatohepatitis-associated hyperammonemia and muscle alterations. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:1051157. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1051157
18. Wang Z., Wang M., Li J., Yang R., Zeng J., Pan Q., Fan P. Protective effects of L-ornithine L-aspartate on mice with nonalcoholic steatohepatitis and sarcopenic obesity. *Journal of Practical Hepatology*. 2021;24(5):657–660. https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-5069.2021.05.013
19. Rodrigues de Freitas L. B., Longo L., Filippi-Chiela E., de Souza V. E. G., Behrens L., Pereira M. H. M., Leonhard L. C., Zanettini G., Pinzon C.E., Luchese E., Semmelmann Perei-

ra Lima G. J., Cerski C. T., Uribe-Cruz C., Álvares-da-Silva M. R. Ornithine Aspartate and Vitamin-E Combination Has Beneficial Effects on Cardiovascular Risk Factors in an Animal Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rats. *Biomolecules*. 2022;12(12):1773. https://doi.org/10.3390/biom12121773

20. Longo L., Aguiar Marschner R., Rodrigues de Freitas L. B., de Bona L. R., Behrens L., Pereira M. H. M., de Souza V. E. G., Leonhard L. C., Zanettini G., Pinzon C. E., Semmelmann Pereira Lima G. J., Schmidt Cerski C. T., Uribe-Cruz C., Magagnin Wajner S., Álvares-da-Silva M. R. Redefining the Role of Ornithine Aspartate and Vitamin E in Metabolic-Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease through Its Biochemical Properties. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):6839. https://doi.org/10.3390/ijms25136839
21. Goh E. T., Stokes C. S., Sidhu S. S., Vilstrup H., Gluud L. L., Morgan M. Y. L-ornithine L-aspartate for prevention and treatment of hepatic encephalopathy in people with cirrhosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018;5(5):CD012410. https://doi.org/10.1002/14651858.CD012410.pub2
22. Drapkina O. M., Ivashkin V. T., Maev I. V., Livzan M. A., Drozdova L. Y., Zharkova M. S., Ipatov P. V., Kalinina A. M., Lyusina E. O., Mayevskaya M. V., Svishcheva A. A., Shepel R. N., Sheptulina A. F. Outpatient follow-up of patients with alcohol-associated liver cirrhosis by a primary care physician. Guidelines. *Primary Health Care (Russian Federation)*. 2025;2(1):115–145. (In Russ.) https://doi.org/10.15829/3034-4123-2025-33
23. Tsuchida T., Lee Y. A., Fujiwara N., Ybanez M., Allen B., Martins S., Fiel M. I., Goossens N., Chou H.-I., Hoshida Y., Friedman S. L. A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer. *Journal of Hepatology*. 2018;69(2):385–395. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.011
24. Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V. Glycyrrhizinic Acid and Phosphatidylcholine Combination as a Preventive Therapy for Experimental Murine Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Livers*. 2024;4(1):63–83. https://doi.org/10.3390/livers4010006
25. Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Karev V. E., Izotova A. B., Okovityi S. V. Adaptation of the Quick – Pytel test protocol for the assessment of liver antitoxic function in mice. *Drug development & registration*. 2026;15(1):202–209. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2256
26. Seibenhener M. L., Wooten M. C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2015;(96):52434. https://doi.org/10.3791/52434-v
27. Bourin M., Hascoët M. The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*. 2003;463(1–3):55–65. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01274-3
28. Deacon R. M. J., Rawlins J. N. P. T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols*. 2006;1(1):7–12. https://doi.org/10.1038/nprot.2006.2
29. Leger M., Quiedeville A., Bouet V., Haelewyn B., Boulouard M., Schumann-Bard P., Freret T. Object recognition test in mice. *Nature Protocols*. 2013;8(12):2531–2537. https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155
30. Fedorova A. A., Pyatchenkov M. O., Dmitrieva E. A., Kalashnikov E. A., Ivanova G. T., Markov A. G. Barrier Properties of the Intestinal Epithelium in the Dynamics of Nephropathy Progression. *Russian Journal of Physiology*. 2025;111(11):1844–1859. https://doi.org/10.7868/S2658655X25110101
31. Zhang G., Wang X., Chung T.-Y., Ye W., Hodge L., Zhang L., Chng K., Xiao Y.-F., Wang Y. J. Carbon tetrachloride (CCl_4) accelerated development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/steatohepatitis (NASH) in MS-NASH mice fed western diet supplemented with fructose (WDF). *BMC Gastroenterology*. 2020;20(1):339. https://doi.org/10.1186/s12876-020-01467-w
32. Sodum N., Rao V., Cheruku S. P., Kumar G., Sankhe R., Kishore A., Kumar N., Rao C. M. Amelioration of high-fat diet (HFD) + CCl4 induced NASH/NAFLD in CF-1 mice by activation of SIRT-1 using cinnamoyl sulfonamide hydroxamate derivatives: in-silico molecular modelling and in-vivo prediction. *3 Biotech*. 2022;12(7):147. https://doi.org/10.1007/s13205-022-03192-5
33. Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Eletskaya E. I., Semivelichenko E. D., Karev V. E., Karavaeva A. V., Eresko S. O., Ivkin D. Yu., Selizarova N. O., Okovityi S. V. Hepato- and neurotropic activity of a combination of succinic acid, methionine, and riboflavin in experimental non-alcoholic steatohepatitis. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2024;87(8):7–15. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/0869-2092-2024-87-8-7-15
34. Anand A. C., Acharya S. K. The Story of Ammonia in Liver Disease: An Unraveling Continuum. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2024;14(4):101361. https://doi.org/10.1016/j.jceh.2024.101361
35. Chen H., Ye Y., He T., Li B., Wang Q. Protein lactylation in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: a mechanistic review. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2026;18(1):75. https://doi.org/10.1186/s13098-026-02105-3
36. Bunjat A. V., Spasenkova O. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Ivkin D. J., Kulikov A. N., Okovityi S. V., Kirillova N. V. Modification of a model of non-alcoholic fat liver disease in rats with a combination of a hypercaloric diet and hypodynamia. *Drug development & registration*. 2021;10(4):155–165. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165
37. Prikhodko V. A., Matuzok T. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V. Glycyrrhizinic Acid and Phosphatidylcholine Combination as a Preventive Therapy for Experimental Murine Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Livers*. 2024;4(1):63–83. https://doi.org/10.3390/livers4010006
38. Yang J., Ou W., Lin G., Wang Y., Chen D., Zeng Z., Chen Z., Lu X., Wu A., Lin C., Liang Y. PAMK Ameliorates Non-Alcoholic Steatohepatitis and Associated Anxiety/Depression-like Behaviors Through Restoring Gut Microbiota and Metabolites in Mice. *Nutrients*. 2024;16(22):3837. https://doi.org/10.3390/nu16223837
39. Du H., Zhou Y., Wang J., Bai X., Tao B., Chen M. High-fat Fructose diet induces neuroinflammation and anxiety-like behaviors by modulating liver-brain axis communication. *Psychopharmacology*. 2025;242(12):2651–2664. https://doi.org/10.1007/s00213-025-06820-z
40. Pinçon A., De Montgolfier O., Akkoyunlu N., Daneault C., Pouliot P., Villeneuve L., Lesage F., Levy B. I., Thorin-Trescases N., Thorin É., Ruiz M. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, and the Underlying Altered Fatty Acid Metabolism, Re-

veals Brain Hypoperfusion and Contributes to the Cognitive Decline in APP/PS1 Mice. *Metabolites*. 2019;9(5):104. https://doi.org/10.3390/metabo9050104
41. Higarza S. G., Arboleya S., Gueimonde M., Gómez-Lázaro E., Arias J. L., Arias N. Neurobehavioral dysfunction in non-alcoholic steatohepatitis is associated with hyperammonemia, gut dysbiosis, and metabolic and functional brain regional deficits. *PLoS One*. 2019;14(9):e0223019. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223019
42. Prikhodko V. A. Effects of Ornithine Aspartate and Empagliflozin on Memory Deficit Symptoms in Experimental Steatohepatitis. *Journal Biomed*. 2022;18(2):128–132. (In Russ.) https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-3-128-132
43. Liu C.-H., Zeng Q.-M., Kim W., Kim S. U., Younossi Z. M., Targher G., Byrne C. D., Mantzoros C. S., Charatcharoenwitthaya P., Leclercq I. A., Romero-Gómez M., Tang H., Zheng M.-H. Sarcopenia and MASLD: novel insights and the future. *Nature Reviews. Endocrinology*. 2026;22(3):139–152. https://doi.org/10.1038/s41574-025-01197-7
44. Deacon R. M. J. Measuring the strength of mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2013;(76):2610. https://doi.org/10.3791/2610
45. Lackner C., Gouw A. S. H., Avancini Ferreira Alves V., Arola J., Bedossa P., Behling C., Brunt E. M., Burt A., Clouston A., Cummings O., Goodman Z. D., Guido M., Guy C., Hubscher S. G., Hytiroglou P., Kleiner D., Pai R., Paradis V., Park Y. N., Rastogi A., Schirmacher P., Wee A., Yano H., Yeh M., Avian A., Tiniakos D. G. Consensus position statements for the standardized application of histological grading and staging systems in MASH clinical trials. *Journal of Hepatology*. 2026;84(4):693–701. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2025.09.019
46. Simanenkov V. I., Maev I. V., Tkacheva O. N., Alekseenko S. A., Andreev D. N., Bordin D. S., Vlasov T. D., Vorobyeva N. M., Grinevich V., Gubonina I. V., Drobizhev M. Yu., Efremov N. S., Karateev A. E., Kotovskaya Yu. V., Kravchuk I. A., Krivoborodov G. G., Kulchavenya E. V., Lila A. M., Mayevskaya M. V., Poluektova E. A., Popkova T. V., Sablin O. A., Solovyeva O. I., Suvorov A. N., Tarasova G. N., Trukhan D. I., Fedotova A. V. Syndrome of increased epithelial permeability in clinical practice. Multidisciplinary national Consensus. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(1):2758. (In Russ.) https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-2758
47. Benedé-Ubieto R., Cubero F. J., Nevzorova Y. A. Breaking the barriers: the role of gut homeostasis in Metabolic-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD). *Gut Microbes*. 2024;16(1):2331460. https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2331460
48. Teplyuk D. A., Levina O. N., Pavlov Ch. S., Sorokoletov S. M., Pashkova E. Yu., Ametov A. S., Bolshakov S. A., Shutov E. V. The gut microbiome and nonalcoholic fatty liver disease: prospects for drug therapy. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2024;(10):178–187. (In Russ.) https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-230-10-178-187
49. Luo X., Wang K., Jiang C. Gut microbial enzymes and metabolic dysfunction-associated steatohepatitis: Function, mechanism, and therapeutic prospects. *Cell Host & Microbe*. 2025;33(6):836–853. https://doi.org/10.1016/j.chom.2025.04.020
50. Li Y., Bao X., Yang F., Tian J., Su W., Yin J., Yao K., Li T., Yin Y. Ornithine α-Ketoglutarate Alleviates Inflammation *via* Regulating Ileal Mucosa Microbiota and Metabolites in Enterotoxigenic *Escherichia coli*-Infected Pigs. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:862498. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.862498
51. Wang T., Tian J., Su W., Yang F., Yin J., Jiang Q., Li Y., Yao K., Li T., Yin Y. Effect of Ornithine α-Ketoglutarate on Intestinal Microbiota and Serum Inflammatory Cytokines in Dextran Sulfate Sodium Induced Colitis. *Nutrients*. 2023;15(11):2476. https://doi.org/10.3390/nu15112476
52. Horvath A., Traub J., Aliwa B., Bourgeois B., Madl T., Stadlbauer V. Oral Intake of L-Ornithine-L-Aspartate Is Associated with Distinct Microbiome and Metabolome Changes in Cirrhosis. *Nutrients*. 2022;14(4):748. https://doi.org/10.3390/nu14040748
53. Habich D., Horvath A., Feldbacher N., Rebol L., Nepel M., Madl T., Habisch H.-J., Baumann-Durchschein F., Fürst S., Plank J., Rainer F., Spindelböck W., Stauber R. E., Tatscher E., Wagner M., Zollner G., Stadlbauer V. An observational study on the effect of l-ornithine-l-aspartate (LOLA) on the gut microbiome in liver cirrhosis. A single center phase 4 study. *Clinical Nutrition*. 2026;56:106522. https://doi.org/10.1016/j.clnu.2025.11.007
54. Qi H., Li Y., Yun H., Zhang T., Huang Y., Zhou J., Yan H., Wei J., Liu Y., Zhang Z., Gao Y., Che Y., Su X., Zhu D., Zhang Y., Zhong J., Yang R. Lactobacillus maintains healthy gut mucosa by producing L-Ornithine. *Communications Biology*. 2019;2:171. https://doi.org/10.1038/s42003-019-0424-4
55. Li Y., Liu Y., Wang J., Gao Y., Zhang Y., Yang R. Gut microbiota L-ornithine promotes resistance to obesity through metabolites mediated immunosuppressive macrophages. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2025;82(1):426. https://doi.org/10.1007/s00018-025-05882-8

Оригинальная статья / Research article

УДК 57.084

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2369

Check for updates

CC BY 4.0

Безопасность противоопухолевого лекарственного средства на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины (доклинические исследования)

Е. В. Кулигина[1, 2]✉, Д. И. Ржевский[3], А. Н. Мурашев[3], Г. В. Кочнева[4], О. А. Коваль[1], В. А. Рихтер[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д. Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН). 630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 8

[2] Общество с ограниченной ответственностью «Онкостар». 630090, Россия, г. Новосибирск, Советский район, микрорайон Академгородок, ул. Инженерная, д. 28

[3] Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук (Филиал ГНЦ ИБХ РАН). 142290, Россия, Московская область, г. Пущино, проспект Науки, д. 6

[4] Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора. 630559, Россия, Новосибирская область, рабочий поселок Кольцово

✉ **Контактное лицо:** Кулигина Елена Владимировна. **E-mail:** kuligina@1bio.ru

Резюме

Введение. Виротерапия – один из наиболее перспективных и активно развивающихся подходов в противоопухолевой терапии. Разработанный коллективом авторов ИХБФМ СО РАН и ГНЦВБ «Вектор» противоопухолевый препарат на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины продемонстрировал высокую противоопухолевую эффективность в отношении опухолей человека и животных. Для дальнейшей фармацевтической разработки вирусного препарата необходимо оценить его общую токсичность и фармакологическую безопасность в доклинических исследованиях.

Цель. Оценка общей токсичности и фармакологической безопасности противоопухолевого препарата на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины.

Материалы и методы. Исследование нетоксичного дозового уровня лекарственного средства (ЛС) проводили на самках мышей ICR, крыс Wistar и кроликов калифорнийских при внутривенном (в/в) введении ЛС в дозах, максимально возможных для каждого вида животных. Острую токсичность оценивали на мышах ICR и крысах SD при однократном в/в или подкожном (п/к) введении препарата в двух дозах: 1×10^7 БОЕ (эквипотенциальная терапевтическая доза для человека) и максимально возможной для каждого вида животных. Исследования субхронической токсичности проводили на крысах SD и кроликах NZW (новозеландский белый кролик) при многократном п/к введении ЛС (4 инъекции с интервалом в 1 неделю) в дозах 1×10^7 БОЕ и 5×10^7 БОЕ. Фармакологическую безопасность ЛС оценивали на крысах SD в рамках исследований субхронической токсичности.

Результаты и обсуждение. При исследовании нетоксичного дозового уровня онколитического вируса VV-GMCSF-Lact с доказанной противоопухолевой активностью достигнуты дозы, превышающие однократную терапевтическую дозу для человека (1×10^7 БОЕ) в 7,5 раз (мыши), 30 раз (крысы) и 150 раз (кролики). Наблюдаемые клинические признаки свидетельствуют о достижении доз, близких к максимально переносимым. Исследование острой токсичности показало, что при п/к введении препарат безопасен в дозах, эквивалентных терапевтической, пятикратной (мыши) и двадцатикратной (крысы) терапевтической для человека; при в/в введении в обозначенных дозах ЛС способно вызывать ответную реакцию со стороны органов иммунной системы. В исследованиях субхронической токсичности установлено, что ЛС безопасно в дозах 1×10^7 БОЕ и 5×10^7 БОЕ и не оказывает токсического влияния на показатели двигательной активности, сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Заключение. Доклинические исследования общей токсичности и фармакологической безопасности ЛС с доказанной противоопухолевой активностью, разработанного на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, показали, что ЛС безопасно в использованных дозах и может быть рекомендовано для клинических исследований.

© Кулигина Е. В., Ржевский Д. И., Мурашев А. Н., Кочнева Г. В., Коваль О. А., Рихтер В. А., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Kuligina E. V., Rzhevsky D. I., Murashev A. N., Kochneva G. V., Koval O. A., Richter V. A., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Ключевые слова: доклинические исследования, виротерапия, вирус осповакцины, VV-GMCSF-Lact, безопасность, токсичность

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

Вклад авторов. Е. В. Кулигина, О. А. Коваль, А. Н. Мурашев – идея и планирование эксперимента. Г. В. Кочнева – производство вирусного препарата. Д. И. Ржевский – проведение экспериментов и обработка данных. Е. В. Кулигина – подготовка рукописи. В. А. Рихтер – редактирование рукописи, общее руководство проектом.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств государственного контракта от 22.11.2017 г. № 14.N08.11.0189 по теме «Доклинические исследования лекарственного средства, действующего на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), для лечения рака молочной железы».

Для цитирования: Кулигина Е. В., Ржевский Д. И., Мурашев А. Н., Кочнева Г. В., Коваль О. А., Рихтер В. А. Безопасность противоопухолевого лекарственного средства на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины (доклинические исследования). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):256–270. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2369

Поступила в редакцию: 11.05.2026
Поступила после рецензирования: 21.07.2026
Принята к публикации: 31.08.2026

Safety of an antitumor drug based on the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact (preclinical studies)

Elena V. Kuligina[1, 2]✉, Dmitry I. Rzhevsky[3], Arkady N. Murashev[3], Galina V. Kochneva[4], Olga A. Koval[1], Vladimir A. Richter[1]

[1] Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICBFM SB RAS). 8, prospekt Akademika Lavrentieva, Novosibirsk, 630090, Russia
[2] Limited Liability Company "Oncostar". 28, Inzhenernaya str., Akademgorodok Microdistrict, Sovetsky District, Novosibirsk, 630090, Russia
[3] Branch of the M. M. Shemyakin Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences. 6, prospekt Nauki, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia
[4] State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector". Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russia

✉ **Corresponding author:** Elena V. Kuligina. **E-mail:** kuligina@1bio.ru

Abstract

Introduction. Virotherapy is one of the most promising and rapidly developing approaches in antitumor therapy. An antitumor drug based on the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact, developed by a team of researchers of the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS and the State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", has demonstrated high antitumor efficacy against human and animal tumors. For further pharmaceutical development of VV-GMCSF-Lact evaluation of its systemic toxicity and pharmacological safety in preclinical studies is required.

Aim. Evaluation of the general toxicity and pharmacological safety of an antitumor drug based on the recombinant strain of vaccinia virus VV-GMCSF-Lact.

Materials and methods. A non-toxic dose level study in females of ICR mice, Wistar rats, and California rabbits after intravenous (iv) administration at the maximum possible doses for each animal species was conducted. Acute toxicity of the drug was evaluated in ICR mice and SD rats with a single iv or subcutaneous (sc) administration of the drug at two doses: 1×10^7 PFU (human equipotent therapeutic dose) and the maximal dose for each animal species. Subchronic toxicity was studied in SD rats and New Zealand White rabbits with multiple sc administration (4 injections at 1-week intervals) of the drug at doses of 1×10^7 PFU and 5×10^7 PFU. The pharmacological safety of the drug was assessed in SD rats as part of subchronic toxicity studies.

Results and discussion. When determining the non-toxic dose level of the oncolytic virus VV-GMCSF-Lact with proven antitumor activity, doses exceeding the single human therapeutic dose (1×10^7 PFU) by 7.5 times (mice), 30 times (rats), and 150 times (rabbits) were achieved. The observed clinical signs indicated that the achieved doses were close to the maximum tolerated. Acute toxicity studies showed that subcutaneous administration of the drug was safe at doses equivalent to the human therapeutic dose, as well as at 5-fold (mice) and 20-fold (rats) the human therapeutic dose. Intravenous administration at the indicated doses could induce a response from the organs of the immune system. Subchronic toxicity study showed that the drug was safe at doses of 1×10^7 PFU and 5×10^7 PFU and did not exert toxic effects on motor activity, the cardiovascular system, or the respiratory system.

Conclusion. Preclinical studies of the general toxicity and pharmacological safety of a drug with proven antitumor activity, developed on the basis of the recombinant VV-GMCSF-Lact strain of the vaccinia virus, showed that the drug is safe at the doses used and can be recommended for clinical trials.

Keywords: preclinical studies, anticancer drugs, virotherapy, recombinant vaccinia virus, VV-GMCSF-Lact, safety, toxicity

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

Contribution of the authors. Elena V. Kuligina, Olga A. Koval, Arkady N. Murashev – concept and planning of the experiment. Galina V. Kochneva – production of the viral preparation. Dmitry I. Rzhevsky – conducting the experiments and processing the data. Elena V. Kuligina – manuscript preparation. Vladimir A. Richter – editing the manuscript, overall project management.

Funding. This research was funded by the State Contract dated 22.11.2017 No. 14.N08.11.0189 «Preclinical studies of a drug acting on the epidermal growth factor receptor (EGFR) for the treatment of breast cancer».

For citation: Kuligina E. V., Rzhevsky D. I., Murashev A. N., Kochneva G. V., Koval O. A., Richter V. A. Safety of an antitumor drug based on the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact (preclinical studies). *Drug development & registration*. 2026;15(3):256–270. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2369

Received: 11.05.2026
Revised: 21.07.2026
Accepted: 31.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на внушительный арсенал противоопухолевых препаратов и методов терапии, продолжительность жизни пациентов с отдельными видами рака (рак легких, поджелудочной железы, печени, колоректальный рак, глиобластома) увеличивается незначительно. Эти виды опухолей часто выявляются на поздних стадиях, имеют агрессивное течение и демонстрируют высокую летальность [1], и создание новых подходов к противоопухолевой терапии остается актуальной биомедицинской задачей.

В настоящее время одним из наиболее перспективных и быстро развивающихся подходов к лечению злокачественных новообразований является виротерапия, или терапия онколитическими вирусами (ОВ), которые способны не только избирательно лизировать опухолевые клетки, но и индуцировать системный и адаптивный иммунный ответ организма [2]. Одним из неоспоримых преимуществ виротерапии является возможность применения онколитических вирусов в комбинации с любыми другими противоопухолевыми терапевтическими подходами, и множество лекарственных препаратов на основе онколитических вирусов находятся сегодня в доклинических и клинических исследованиях [3–5].

Природными онколитическими свойствами обладают многие вирусы, но вирус осповакцины (ВО) имеет ряд неоспоримых преимуществ и может являться платформой для разработки противоопухолевых лекарств. ВО имеет длительную историю успешного медицинского применения в качестве противооспенной вакцины, и его структурно-функциональная организация хорошо изучена. Кроме того, вирус может быть дополнительно аттенуирован для безопасности применения у иммуносупрессивных пациентов. Геном ВО способен нести несколько протяженных трансгенов, кодирующих белки, усиливающие его онколитические свойства. ВО реплицируется исключительно в цитоплазме инфицированной клетки, что исключает возможность интеграции вирусной ДНК в геном клетки и обеспечивает дополнительную безопасность использования ВО в терапии. Для проникновения в опухолевую клетку этот вирус использует несколько механизмов, в том числе прямое слияние мембран клетки и вирусной частицы, что значительно расширяет спектр опухолей для терапии [6].

Предлагаемый к исследованию вирусный препарат – рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины – сконструирован на основе штамма Л-ИВП, несущего делеции фрагментов двух генов вирулентности – вирусной тимидинкиназы (tk) и ростового фактора (virus growth factor, VGF), в районы которых встроены гены гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) человека и онкотоксического белка лактаптина. VV-GMCSF-Lact показал высокую противоопухолевую эффективность в отношении опухолей человека и животных, обусловленную как онколитическими свойствами ВО, так и способностью продуктов трансгенов индуцировать противоопухолевый иммунный ответ и апоптоз опухолевых клеток [7–11]. Согласно данным проведенных исследований, VV-GMCSF-Lact является перспективной основой для разработки противоопухолевого лекарственного препарата [12–14].

Этап доклинических исследований являются обязательным при разработке инновационных лекарственных средств и предусматривает прежде всего оценку безопасности потенциального лекарства.

Данная работа посвящена оценке общей токсичности и фармакологической безопасности противоопухолевого лекарственного средства на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины. Объем проведенных исследований определялся техническим заданием государственного конт-

ракта от 22.11.2017 г. № 14.N08.11.0189 по теме «Доклинические исследования лекарственного средства, действующего на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), для лечения рака молочной железы».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемый препарат: лекарственный препарат на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины.

Состав на 1 мл:

Активное вещество:	
Штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины	$(1–2) \times 10^7$ БОЕ
ИХБФМ СО РАН, Россия	
Вспомогательные вещества:	
Натрия хлорид (ГОСТ 4233-77, Евр. фармакопея)	9 мг
Вода для инъекций (ФС.2.2.0019.15)	до 1 мл

Примечание. БОЕ – бляшкообразующие единицы.

Фармакотерапевтическая группа: противоопухолевые препараты.

Код АТХ: L01XX – прочие противоопухолевые препараты.

Препарат содержит рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, полученный в культуре клеток почки африканской зеленой мартышки 4647 и продуцирующий секретируемый ГМ-КСФ человека и несекретируемый онкотоксический белок лактаптин [7, 8].

Для создания необходимых доз ЛС в исследованиях общей токсичности использовали вирусный концентрат с титром вируса 10^9 БОЕ/мл, охарактеризованный в соответствии с проектом НД на субстанцию «Лекарственное средство на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, субстанция раствор замороженный».

Животные

В исследованиях безопасности ЛС использовали следующие виды животных: мыши ICR (возраст 7–8 недель, вес 25–35 г), крысы Wistar (возраст 6–9 недель, вес 160–210 г), крысы *Sprague Dawley* (SD) (возраст 6–7 недель, вес 160–230 г), калифорнийский кролик (возраст 3–4 месяца, вес 2,8–3,1 кг), новозеландский белый кролик (NZW) (возраст 3–4 месяца, вес 2,8–3,1 кг) разведения НПП ФИБХ РАН «Питомник лабораторных животных «Пущино».

Животные содержались согласно стандартам, определенным Директивой 2010/63/EU по защите животных, используемых в научных целях. Все эксперименты с животными выполнены в соответствии с требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (Страсбург, 1986). Процедуры с животными утверждены биоэтической комиссией ФИБХ РАН (протоколы № 649/18, 651/18, 657/18, 658/18) и выполнялись согласно утвержденному плану исследования и стандартным операционным процедурам (СОП) лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН, имеющей аккредитацию AAALAC (Association for Assessement and Accreditation of Laboratory Animal Care International).

Исследование общей токсичности и фармакологической безопасности ЛС

Исследования общей токсичности и фармакологической безопасности ЛС проведены в лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН (г. Пущино, Россия), которая имеет аккредитацию соответствия принципам GLP «Statement of OECD GLP Compliance» и включена Росаккредитацией в программу государственной инспекции на соответствие принципам GLP.

Дизайн исследований соответствует рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [15], а также руководства «OECD Guidelines for the testing of chemicals No 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents»[1].

Определение нетоксичного дозового уровня ЛС

При определении нетоксичного дозового уровня ЛС вводили самкам мышей ICR, крыс Wistar и кроликов калифорнийских: в хвостовую вену мышам и крысам и в ушную вену кроликам в дозах, максимально достижимых для каждого вида животных с учетом максимально возможного объема введения и концентрации активного вещества в препарате (таблица 1).

После введения ЛС за животными наблюдали в течение 14 дней, регистрировали массу тела и оценивали клинические признаки отклонений в состоянии здоровья. На 15-е сутки проводили некропсию животных, исследовали внешнее состояние тела, внутренних поверхностей и проходов, полости черепа, грудной, брюшной и тазовой полостей с находящимися в них органами и тканями, шею с органами и тканями, каркас и скелетно-мышечную систему.

Исследование острой токсичности ЛС

Исследование острой токсичности ЛС проводили на мышах ICR и крысах SD обоих полов (по 5 животных в каждой группе) с использованием трех серий ЛС. ЛС вводили животным п/к или в/в, однократно или дробно в течение суток в объеме 0,2 мл/живот-

[1] OECD. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 407. Available at: https://www.oecd.org/en/publications/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en.html Accessed: 14.07.2026.

Таблица 1. **Группы и дозы**

Table 1. **Groups and doses**

№ группы Group No.	Вещество Substance	Кол-во животных Number of animals		Номера животных Animal IDs		Доза (мл/жив/ч) Dose (mL/animal/h)	Режим введения Administration regimen	Концентрация Concentration
		M	F	M	F			
1 (мыши) 1 (mice)	VV-GMCSF-Lact	–	5	–	1–5	0,25	6 раз, интервал 1 ч 6 times, 1 h interval	$5{,}6 \times 10^7$ БОЕ/мл $5{,}6 \times 10^7$ PFU/mL
2 (крысы) 2 (rats)		–	5	–	6–10	1		$5{,}6 \times 10^7$ БОЕ/мл $5{,}6 \times 10^7$ PFU/mL
3 (кролики) 3 (rabbits)		–	5	–	11–15	5		$5{,}6 \times 10^7$ БОЕ/мл $5{,}6 \times 10^7$ PFU/mL

Примечание. M – самцы; F – самки.

Note. M – males; F – females.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ное или 1 мл/животное (мыши) и 0,2 мл/животное или 4 мл/животное (крысы) в дозах 1×10^7 БОЕ (эквипотенциальная терапевтическая доза для человека) и 5×10^7 БОЕ (в 5 раз превышающая терапевтическую дозу для человека, мыши) или 20×10^7 БОЕ (в 20 раз превышающая терапевтическую дозу для человека, крысы). Контрольным животным вводили физраствор в объеме 1 мл/мышь или 4 мл/крыса.

В ходе исследования у животных регистрировали вес тела, потребление корма и проявление клинических признаков токсичности ЛС. На 15-й день животных подвергали эвтаназии и некропсии с взвешиванием органов и осмотром их макроповреждений.

Исследование субхронической токсичности ЛС

Исследование токсичности ЛС при многократном введении проводили на крысах SD (по 6 животных в каждой группе) и кроликах NZW (по 3 в каждой группе), самцах и самках, при п/к введении (как наиболее приближенном к рекомендуемому в клинике внутриопухолевому введению). ЛС вводили животным в межлопаточную область еженедельно (4 инъекции) в дозах 1×10^7 БОЕ и 5×10^7 БОЕ в объеме 1 мл/животное. Контрольным животным вводили физиологический раствор в том же объеме.

Исследование фармакологической безопасности ЛС

Фармакологическую безопасность ЛС оценивали в рамках исследования субхронической токсичности препарата у крыс. Набор использованных в исследовании функциональных тестов соответствовал техническому заданию государственного контракта от 22.11.2017 г. № 14.N08.11.0189.

Через сутки после первого и последнего введения ЛС у животных (по 6 самцов и 6 самок из каждой группы) исследовали функциональную активность ЦНС, сердечно-сосудистой и дыхательной систем по следующим показателям:

- **Центральная нервная система.** Локомоторную активность оценивали с помощью прибора Optovarimex и системы обсчета ATM3 Auto System (Columbus Instruments, США). За 3 мин нахождения животного на стандартной площадке актометра регистрировали время подвижности и неподвижности, пройденный путь, количество стоек.
- **Сердечно-сосудистая система.** Систолическое артериальное давление и частоту сердечных сокращений регистрировали неинвазивным методом при помощи хвостовой манжеты с помощью установки NIBP PowerLab (ADInstruments Pty Ltd., Австралия).
- **Дыхательная система.** Частоту и глубину дыхания регистрировали при помощи установки FE141 Spirometer на компьютерной системе PowerLab 8/35 (ADInstruments Pty Ltd., Австралия).

Статистика

При определении нетоксичного дозового уровня, оценке острой и субхронической токсичности для всех количественных данных была применена описательная статистика: подсчитаны средние значения и стандартное отклонение, которые вместе со значением N (количество вариант в группе) были представлены в таблицах. Анализ межгрупповых различий изучаемых параметров при определении нетоксичного дозового уровня проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона (Wilcoxon). Для установления межгрупповых различий изучаемых параметров при оценке острой и субхронической токсичности применяли непараметрический

критерий Краскела – Уоллиса (Kruskal – Wallis) с последующим тестом множественных сравнений. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 7.1. Различия определяли при 5%-м уровне значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемый противоопухолевый вирусный препарат VV-GMCSF-Lact разработан на основе высокоаттенуированного штамма Л-ИВП: делеции фрагментов генов tk и vgf снижают вирулентность вируса более чем в 100 раз и обеспечивают дополнительную безопасность VV-GMCSF-Lact для онкологических пациентов, которые в большинстве случаев имеют иммунодефициты разной степени тяжести. При этом способность вируса реплицироваться в опухолевых клетках не снижается вследствие наличия в таких клетках большого количества предшественников синтеза белков и нуклеиновых кислот, а также их высокой митотической активности. Повышение адресности онколитической активности VV-GMCSF-Lact особенно актуально при внутривенном введении препарата, когда вирус способен «находить» отдаленные опухоли и метастазы, инфицировать их и эффективно реплицироваться, не повреждая здоровые органы и ткани.

Известно, что опухолевые клетки способны эффективно ускользать от иммунной системы хозяина, и введение генов иммуностимулирующих белков в геном ОВ широко используется в мировой практике. Одним из наиболее распространенных является ГМ-КСФ, ген которого был введен в геномы ряда ОВ, находящихся в клинических исследованиях, – аденовируса (Ad5/3-D24-GMCSF, ONCOS-102), вируса простого герпеса (HSV-2-GMCSF, OH2), вируса осповакцины (JX-594, Pexa Vec). В составе VV-GMCSF-Lact ген ГМ-КСФ экспрессируется под контролем природного промотора P7.5k ВО и продуцирует секретируемую форму биологически активного ГМ-КСФ человека [7]. Экспрессия гена ГМ-КСФ стимулирует противоопухолевый иммунный ответ, усиливая презентацию раковых антигенов, высвобождающихся из лизированных вирусом опухолевых клеток, иммунной системе за счет активации и рекрутирования антигенпрезентирующих клеток и стимуляции Т-лимфоцитов [16–19].

Ген лактаптина, кодирующий фрагмент каппа-казеина человека 23–134 а.о., экспрессируется под контролем синтетического промотора ВО P7.5synth и продуцирует несекретируемый онкотоксический белок лактаптин [2]. Экспрессия гена лактаптина приводит к усилению онкотоксической активности вируса за счет индукции апоптоза опухолевых клеток. При этом процесс регрессии опухоли и увеличение времени жизни экспериментальных животных наблюдаются как в иммунодефицитных, так и в иммунокомпетентных моделях [2, 9]. Кроме того, показано, что вирус одинаково эффективно лизирует чувствительные и устойчивые к химиотерапии опухоли и может использоваться как в режиме монотерапии, так и в комбинации с химиотерапевтическими препаратами, а также в комбинации с любыми другими терапевтическими подходами [2].

Согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» токсикологические исследования инновационных лекарственных средств проводят на здоровых половозрелых животных нескольких видов. Общепринятыми видами животных являются мыши, крысы и кролики [15]. Известно, что штаммы вируса осповакцины, имеющие делеции в генах tk и vgf, эффективно тормозят развитие опухолей мышей, крыс и кроликов [20–23]. Таким образом, исследуемое ЛС не является строго видоспецифичным (эффективным только в отношении тканей человека), что предполагает использование мышей, крыс и кроликов в качестве релевантных животных в доклинических исследованиях.

Диапазон терапевтических доз ЛС, определенный в доклинических экспериментах на ксенографтах опухолей человека и на мышиных опухолевых моделях, составляет как в отношении опухолей человека, так и в отношении опухоли мыши $1 \times 10^7 – 1 \times 10^8$ БОЕ (данные не опубликованы).

Определение нетоксичного дозового уровня

При определении нетоксичного дозового уровня были достигнуты дозы, превышающие однократную терапевтическую дозу для человека (1×10^7 БОЕ) в 7,5 раз (мыши), 30 раз (крысы) и 150 раз (кролики). При ежедневном осмотре гибели животных, тяжелого состояния и выраженных токсических клинических признаков выявлено не было. Основным клиническим признаком было посинение кончика хвоста у крыс и мышей сразу после введения. У кроликов отклонений в состоянии здоровья в процессе введения ЛС не наблюдалось. В последующие дни исследования отклонений в состоянии здоровья экспериментальных животных, связанных с действием ЛС, выявлено не было.

Введение ЛС вызвало снижение среднегруппового прироста массы тела у мышей и кроликов (статистически значимое – на 7-й день исследования). У крыс наблюдалось снижение индивидуальных значений массы тела к 7-му дню у 2 животных из 5 (таблица 2).

При некропсии в органах и тканях не было обнаружено макроскопических изменений, связанных с действием ЛС. Летальные дозы в ходе исследования достигнуты не были, и расчет среднелетальных доз не производился.

Таким образом, установлено, что введение ЛС вызывало кратковременное обратимое воздействие на общее состояние животных и прирост массы тела, без изменения морфологии внутренних органов. Наблюдаемые клинические признаки и снижение массы тела свидетельствуют о достижении доз, близких к максимально переносимым.

Таблица 2. Масса тела и прирост массы тела экспериментальных животных

Table 2. Body weight and body weight gain of experimental animals

Самки Females	Мыши Mice		Крысы Rats		Кролики Rabbits	
	Mean ± SD	*n*	Mean ± SD	*n*	Mean ± SD	*n*
День 1, масса тела, г Day 1, body weight, g	31,1 ± 1,3	5	165 ± 6	5	3012 ± 157	5
День 7, масса тела, г Day 7, body weight, g	29,7 ± 1,3	5	169 ± 12	5	2862 ± 193*	5
День 14, масса тела, г Day 14, body weight, g	31,0 ± 2,8	5	186 ± 12	5	2964 ± 152	5
День 7, прирост, % Day 7, weight gain, %	–4,3 ± 4,0	5	2,1 ± 5,1	5	–5,0 ± 2,0	5
День 14, прирост, % Day 7, weight gain, %	–0,3 ± 6,0	5	12,7 ± 4,0	5	–1,6 ± 1,3	5

Примечание. * $p < 0,05$ относительно 1-го дня на основании попарного теста Вилкоксона.

Note. * $p < 0.05$ compared with Day 1 based on the paired Wilcoxon test.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Острая токсичность лекарственного средства

При исследовании острой токсичности ЛС на мышах и крысах при п/к или в/в введении гибели животных, тяжелого состояния и выраженных токсических клинических признаков выявлено не было. Исключение составил один случай выраженной токсичности у крыс в группе, получавшей высокую дозу ЛС в/в: прогрессирующая потеря веса тела, нарушение походки, сгорбленность, пилоэрекция и вокализация.

В остальных группах введение ЛС не вызвало отклонений в приросте массы тела и потреблении корма. В ходе некропсии не было обнаружено патологических изменений внутренних органов, связанных с действием ЛС. При в/в ведении ЛС в высокой дозе и у мышей, и у крыс было выявлено статистически значимое увеличение относительной массы селезенки.

Таким образом, при исследовании острой токсичности ЛС при его однократном п/к введении мышам и крысам показано, что препарат безопасен в дозах, эквивалентных терапевтической, пятикратной (мыши) и двадцатикратной (крысы) терапевтической для человека. Введение ЛС в/в в дозе, в пять раз превышающей терапевтическую (мыши) и в 20 раз превышающей терапевтическую (крысы), способно вызывать ответную реакцию со стороны органов иммунной системы, что проявлялось в увеличении массы селезенки.

Субхроническая токсичность лекарственного средства

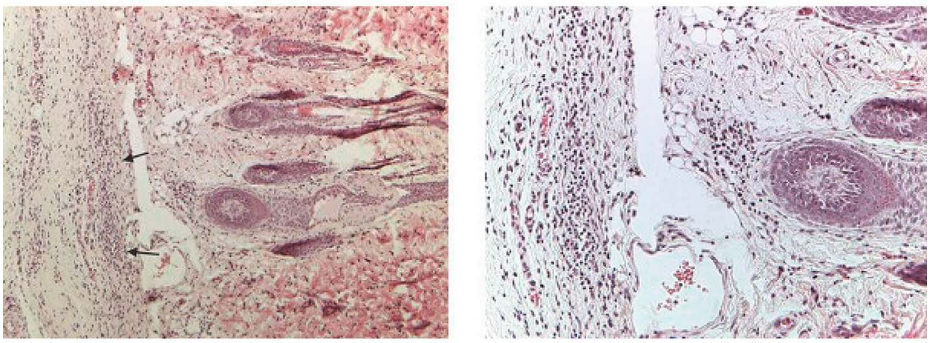
При изучении токсичности препарата при многократном введении крысам и кроликам ориентировались на предполагаемые дозы для применения в клинической практике ($1 \times 10^7 – 1 \times 10^8$ БОЕ) без пересчета с использованием метаболического коэффициента, что допускается для тестирования вакцинных препаратов согласно рекомендациям ВОЗ по доклиническому исследованию вакцин[1].

ЛС вводили животным в межлопаточную область еженедельно (4 инъекции) в дозах 1×10^7 БОЕ и $5 \times \times 10^7$ БОЕ в объеме 1 мл/животное. Контрольным животным вводили физиологический раствор в том же объеме.

Крысы. Ни у самцов, ни у самок крыс, получавших ЛС, не было обнаружено статистически значимых изменений в параметрах гемостаза, биохимических показателях крови, в составе гемограммы и миелограммы и показателях диуреза по сравнению с животными контрольных групп. При некропсии макроскопических изменений внутренних органов, связанных с действием ЛС, а также статистически значимых межгрупповых различий показателей абсолютной и относительной массы органов выявлено не было.

Микроскопические отклонения от нормы, связанные с действием ЛС, были выявлены в коже и подлежащей соединительной ткани в области введения и подмышечных лимфоузлах, а также в селезенке и брыжеечных лимфоузлах. У всех животных, получавших ЛС в высокой дозе, в подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани отмечены признаки подострого воспаления – инфильтрация подлежащей соединительной ткани лимфоцитами, плазматическими и фибробластоподобными клетками (рисунок 1).

[1] WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 927, 2005. Available at: https://www.who.int/publications/m/item/annex1-nonclinical.p31-63 Accessed: 14.07.2026.



А
A

Б
B

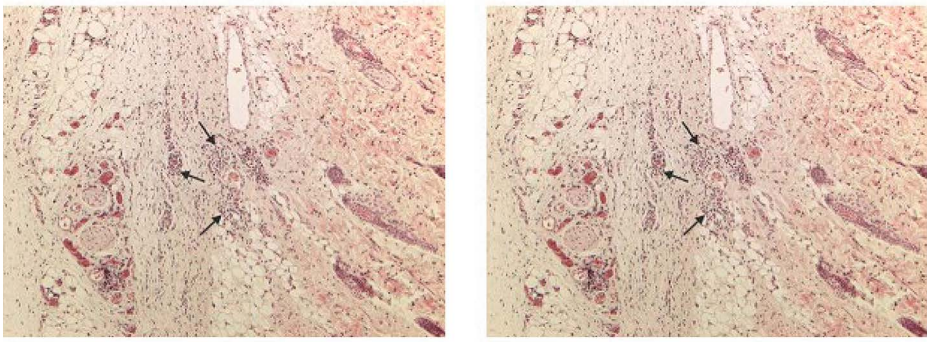
Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Фрагменты кожи Самца 14 из области введения после подкожного введения VV-GMCSF-Lact (4 инъекции 1 раз в неделю) в дозе 5×10^7 БОЕ. Диффузная инфильтрация лимфоцитами и плазматическими клетками подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, А – увеличение ×100; Б – увеличение ×200

Figure 1. Skin fragments of Male 14 from the area of subcutaneous administration of VV-GMCSF-Lact (4 injections once a week) at a dose of 5×10^7 PFU. Diffuse infiltration by lymphocytes and plasma cells of the loose connective tissue underlying the hypodermis. Hematoxylin and eosin staining, A – magnification ×100; B – magnification ×200

У некоторых самок область воспалительной реакции была расширена за счет мелкоочаговой инфильтрации лимфоцитами и плазматическими клетками гиподермы (рисунок 2).

У трех самцов и у трех самок, получавших ЛС в высокой дозе, в паракортикальной области подмышечных лимфоузлов наблюдалась умеренная или выраженная гиперплазия лимфоцитов, связанная, веро-



А
A

Б
B

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Фрагменты кожи Самок 49 и 53 из области подкожного введения VV-GMCSF-Lact (4 инъекции 1 раз в неделю) в дозе 5×10^7 БОЕ.

А – самка 49. В подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани периваскулярные инфильтраты лимфоцитов и плазматических клеток. Полнокровие сосудов. Б – самка 53. В подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани инкапсулированные очаги гранулематозного воспаления. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение ×100

Figure 2. Skin fragments of females 49 and 53 from the area of subcutaneous administration of VV-GMCSF-Lact (4 injections once a week) at a dose of 5×10^7 PFU.

A – female 49. In the loose connective tissue underlying hypodermis, perivascular infiltrates of lymphocytes and plasma cells. Vascular congestion. B – female 53. In the loose connective tissue underlying the hypodermis, encapsulated foci of granulomatous inflammation. Hematoxylin and eosin staining, magnification ×100

ятно, с иммунным ответом со стороны регионарных лимфоузлов (рисунок 3).

На основании результатов микроскопического исследования органов можно заключить, что ЛС в дозе 5×10^7 БОЕ после многократного п/к введения не оказало общетоксического действия, но способствовало развитию подострой воспалительной реакции в подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани, что свидетельствует о местнораздражающем действии ЛС. Применение ЛС также способствовало стимуляции иммунного ответа, что проявилось в виде гиперплазии лимфоцитов в паракортикальной области регионарных подмышечных лимфоузлов.

Кролики. При исследовании субхронической токсичности на кроликах NZW при многократном п/к введении (4 п/к инъекции с интервалом в 1 неделю) ЛС не было отмечено клинических признаков отклонения в состоянии здоровья животных. Через сутки после первого введения препарата у животных, получивших VV-GMCSF-Lact в дозе 5×10^7 БОЕ, наблюдалась абсолютная и относительная лимфопения, относительный гранулоцитоз и снижение абсолютного количества «средних клеток» по сравнению с контрольными животными (таблица 3). Изменения носили дозозависимый характер: в группах, получивших ЛС в дозе 1×10^7 БОЕ, наблюдалась аналогичная тенденция к изменению показателей гемограммы.

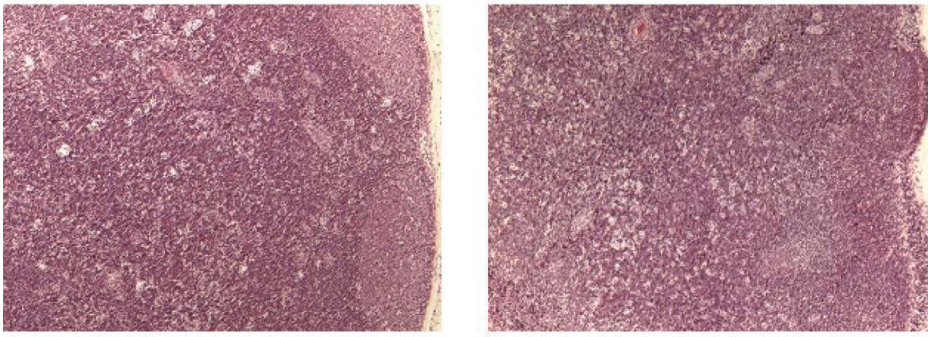
На 29-й и 43-й день исследования у животных обоего пола, получавших VV-GMCSF-Lact в двух дозах, в составе гемограммы не выявлено статистически значимых отклонений относительно контрольного уровня.

В ходе исследования установлено отсутствие влияния ЛС в исследуемых дозах на общее состояние животных, показатели массы тела, потребления корма, биохимии сыворотки крови и морфологию внутренних органов. При введении дозы $5{,}6 \times 10^7$ БОЕ были достигнуты некоторые обратимые токсические эффекты, которые не могут считаться клинически значимыми, что говорит о том, что пятикратная терапевтическая доза может считаться NOAEL (No-observed-adverse-effect level) – максимальной дозой, не вызывающей побочных эффектов.

Фармакологическая безопасность

Фармакологическую безопасность ЛС оценивали на крысах в рамках исследований субхронической токсичности. Через сутки после первого и последнего введений ЛС были проведены исследования состояния функциональной активности ЦНС, сердечно-сосудистой и дыхательной систем по следующим показателям: локомоторной активности, систолическому артериальному давлению и частоте сердечных сокращений, частоте и глубине дыхания.

Ни по одному из изучаемых параметров не было зарегистрировано статистически значимых отличий от контрольных значений у животных, за исключением снижения частоты сердечных сокращений в группе самцов, получавших препарат в высокой дозе, на 2-й день исследования (таблица 4). Однако данное изменение ЧСС было в пределах физиологической нормы и не подтверждалось аналогичным изменением показателя на 22-й день.



А
A

Б
B

Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Паракортикальная гиперплазия лимфоцитов подмышечных лимфоузлов после подкожного введения VV-GMCSF-Lact (4 инъекции 1 раз в неделю, доза 5×10^7 БОЕ).

А – фрагмент ткани лимфатического узла Самца 14; Б – фрагмент ткани лимфатического узла Самки 53. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение ×100

Figure 3. Paracortical hyperplasia of lymphocytes in axillary lymph nodes after subcutaneous administration of VV-GMCSF-Lact (4 injections once a week, dose 5×10^7 PFU).

A – lymph node tissue fragment of Male 14; B – lymph node tissue fragment of Female 53. Hematoxylin and eosin staining, magnification ×100

Таблица 3. Показатели гемограммы, 2-й день

Table 3. Hemogram parameters, day 2

День 2 Day 2	**Носитель (0,9%-й NaCl)** Vehicle (0.9% NaCl)		**VV-GMCSF-Lact (1×10^7 БОЕ/мл)** VV-GMCSF-Lact (1×10^7 PFU/mL)		**VV-GMCSF-Lact (5 × 10^7 БОЕ/мл)** VV-GMCSF-Lact (5 × 10^7 PFU/mL)	
Самцы Males	**Mean ± SD**	***n***	**Mean ± SD**	***n***	**Mean ± SD**	***n***
Количество лейкоцитов (WBC), 10^9/л White blood cell count (WBC), ×10^9/L	9,5 ± 1,6	6	8,0 ± 2,6	5	6,8 ± 2,0	6
Лимфоциты (LYM #), 10^9/л Lymphocytes (LYM #), ×10^9/L	6,5 ± 1,7	6	5,2 ± 2,3	5	3,6 ± 1,0*	6
«Средние» клетки» (MON #), 10^9/л Middle cells (MON #), ×10^9/L	0,7 ± 0,2	6	0,6 ± 0,2	5	0,5 ± 0,1*	6
Гранулоциты (GRA #), 10^9/л Granulocytes (GRA #), ×10^9/L	2,3 ± 0,4	6	2,2 ± 0,5	5	2,7 ± 1,0	6
Лимфоциты (LYM %), % Lymphocytes (LYM %), %	67,8 ± 7,8	6	63,7 ± 8,3	5	54,0 ± 5,5*	6
«Средние» клетки» (MON %), % Middle cells (MON %), %	7,8 ± 2,3	6	7,3 ± 1,2	5	6,7 ± 0,8	6
Гранулоциты (GRA %), % Granulocytes (GRA %), %	24,4 ± 6,3	6	29,0 ± 8,0	5	39,3 ± 5,4*	6
Количество эритроцитов (RBC), 10^{12}/л Red blood cell count (RBC), ×10^{12}/L	6,28 ± 0,65	6	6,26 ± 0,50	5	6,18 ± 0,33	6
Уровень гемоглобина (Hb), г/л Hemoglobin (Hb), g/L	124 ± 11	6	123 ± 9	5	122 ± 9	6
Гематокрит (HCT), л/л Hematocrit (HCT), L/L	0,399 ± 0,032	6	0,394 ± 0,024	5	0,388 ± 0,025	6
Средний объем эритроцита (MCV), фл Mean corpuscular volume (MCV), fL	63,7 ± 2,3	6	62,9 ± 2,2	5	62,9 ± 3,2	6
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг Mean corpuscular hemoglobin (MCH), pg	19,8 ± 0,7	6	19,6 ± 0,4	5	19,8 ± 1,1	6
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), g/L	311 ± 5	6	312 ± 9	5	315 ± 6	6
Широта распределения эритроцитов по объему – коэффициент вариации (RDW), % Red blood cell distribution width – coefficient of variation (RDW-CV), %	14,5 ± 0,7	6	14,0 ± 0,8	5	14,0 ± 0,8	6
Широта распределения эритроцитов по объему – стандартное отклонение (RDW-SD), фл Red blood cell distribution width – standard deviation (RDW-SD), fL	36,2 ± 1,1	6	34,7 ± 1,2	5	35,6 ± 1,4	6
Самки Females	**Mean ± SD**	***n***	**Mean ± SD**	**n**	**Mean ± SD**	***n***
Количество лейкоцитов (WBC), 10^9/л White blood cell count (WBC), ×10^9/L	9,2 ± 1,5	6	8,3 ± 2,7	5	6,2 ± 1,9*	6
Лимфоциты (LYM #), 10^9/л Lymphocytes (LYM #), ×10^9/L	6,5 ± 1,2	6	5,2 ± 2,0	5	3,2 ± 0,9*	6
«Средние» клетки» (MON #), 10^9/л Middle cells (MON #), ×10^9/L	0,7 ± 0,2	6	0,6 ± 0,3	5	0,4 ± 0,2*	6
Гранулоциты (GRA #), 10^9/л Granulocytes (GRA #), ×10^9/L	2,0 ± 0,4	6	2,4 ± 0,7	5	2,6 ± 1,1	6
Лимфоциты (LYM %), % Lymphocytes (LYM %), %	70,1 ± 4,0	6	63,1 ± 5,4	5	53,1 ± 7,2*	6
«Средние» клетки» (MON %), % Middle cells (MON %), %	7,8 ± 1,2	6	7,3 ± 1,5	5	5,8 ± 1,1	6

Окончание таблицы 3

День 2 Day 2	**Носитель (0,9%-й NaCl)** Vehicle (0.9% NaCl)		**VV-GMCSF-Lact (1×10⁷ БОЕ/мл)** VV-GMCSF-Lact (1×10⁷ PFU/mL)		**VV-GMCSF-Lact (5 × 10⁷ БОЕ/мл)** VV-GMCSF-Lact (5 × 10⁷ PFU/mL)	
Гранулоциты (GRA %), % Granulocytes (GRA %), %	22,1 ± 4,4	6	29,6 ± 5,8	5	41,2 ± 7,4*	6
Количество эритроцитов (RBC), 10^{12}/л Red blood cell count (RBC), $\times10^{12}$/L	6,14 ± 0,67	6	6,28 ± 0,53	5	6,03 ± 0,44	6
Уровень гемоглобина (Hb), г/л Hemoglobin (Hb), g/L	123 ± 9	6	126 ± 10	5	123 ± 9	6
Гематокрит (HCT), л/л Hematocrit (HCT), L/L	0,387 ± 0,030	6	0,399 ± 0,030	5	0,383 ± 0,029	6
Средний объем эритроцита (MCV), фл Mean corpuscular volume (MCV), fL	63,2 ± 2,9	6	63,5 ± 1,0	5	63,6 ± 2,6	6
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг Mean corpuscular hemoglobin (MCH), pg	20,1 ± 0,9	6	20,1 ± 0,3	5	20,3 ± 0,7	6
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), g/L	319 ± 7	6	316 ± 2	5	320 ± 3	6
Широта распределения эритроцитов по объему – коэффициент вариации (RDW), % Red blood cell distribution width – coefficient of variation (RDW-CV), %	14,8 ± 0,7	6	14,4 ± 0,8	5	14,5 ± 0,5	6
Широта распределения эритроцитов по объему – стандартное отклонение (RDW-SD), фл Red blood cell distribution width – standard deviation (RDW-SD), fL	37,3 ± 2,0	6	35,8 ± 1,4	5	35,9 ± 1,4	6

Примечание.* $p < 0,05$ на основании Краскела – Уоллиса ANOVA относительно группы, получавшей носитель.

Note. * $p < 0.05$ based on the Kruskal – Wallis ANOVA compared with the vehicle group.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

В результате исследования установлено, что исследуемый препарат не оказывает токсического влияния на показатели двигательной активности, сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

В таблице 5 суммированы токсические эффекты, возникающие у крыс и кроликов при многократном п/к введении ЛС.

Местнораздражающее действие VV-GMCSF-Lact, его влияние на органы иммунной системы и некоторые обратимые гематологические эффекты – ожидаемые реакции организма на введение вирусного препарата. Вместе с тем отсутствие токсических эффектов ЛС в отношении жизненно важных органов и систем экспериментальных животных подтверждает перспективность использования VV-GMCSF-Lact для терапии опухолей у человека.

Результаты исследования общей токсичности и фармакологической безопасности VV-GMCSF-Lact согласуются с результатами доклинических исследований других противоопухолевых лекарственных средств, разработанных на основе ОВ, в том числе на основе ВО [24, 25]. Более того, на портале[1] зарегистрировано более 140 клинических исследований, в которых рекомбинантные штаммы ВО применяют для терапии солидных опухолей. Такое пристальное внимание исследователей к этому вирусу как к платформе для разработки лекарств позволяет надеяться на скорое появление целого ряда противоопухолевых препаратов для терапии широкого спектра солидных опухолей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на неоспоримые успехи в терапии злокачественных новообразований, проблема профилактики и терапии опухолей остается актуальной биомедицинской проблемой во всем мире. Наиболее перспективными терапевтическими подходами на се-

[1] ClinicalTrials.gov. Available at: https://clinicaltrials.gov/ Accessed: 14.07.2026.

Таблица 4. Артериальное давление (АД) и частота сердечных сокращений (ЧСС)

Table 4. Blood pressure (BP) and heart rate (HR)

	Носитель (0,9%-й NaCl) Vehicle (0.9 % NaCl)	**VV-GMCSF-Lact (1×10^7 БОЕ/мл)** VV-GMCSF-Lact (1×10^7 PFU/mL)	**VV-GMCSF-Lact (5×10^7 БОЕ/мл)** VV-GMCSF-Lact (5×10^7 PFU/mL)
Самцы Males	**Mean ± SD**	**Mean ± SD**	**Mean ± SD**
День 2 Day 2	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	464 ± 21	439 ± 35	398 ± 37*
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	120 ± 12	112 ± 14	115 ± 12
День 22 Day 22	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	411 ± 13	426 ± 38	398 ± 29
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	145 ± 18	142 ± 7	147 ± 10
Самки Females	**Mean ± SD**	**Mean ± SD**	**Mean ± SD**
День 2 Day 2	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	426 ± 23	443 ± 38	429 ± 28
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	106 ± 13	120 ± 12	121 ± 14
День 22 Day 22	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**	**(*n* = 6)**
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	408 ± 33	410 ± 35	396 ± 24
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	131 ± 10	129 ± 7	135 ± 11

Примечания. Mean ± SD – среднее ± стандартное отклонение; *n* – количество животных в группе; БОЕ – бляшкообразующие единицы; ЧСС – частота сердечных сокращений; АД – артериальное давление.

* $p < 0,05$ на основании критерия Краскела – Уоллиса относительно группы, получавшей носитель.

Note. Mean ± SD – mean ± standard deviation; *n* – number of animals per group; PFU – plaque-forming units; HR – heart rate; BP – blood pressure.

* $p < 0.05$ based on the Kruskal – Wallis test compared with the vehicle group.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

годняшний день считают таргетную терапию и иммунотерапию. Виротерапия – один из активно развивающихся иммунотерапевтических подходов, имеет ряд неоспоримых преимуществ, основными из которых являются низкая общая токсичность вирусных препаратов при высокой онколитической активности. Введение в геном онколитических вирусов трансгенов с заданными свойствами может обеспечить значительное повышение терапевтической эффективности препаратов этого класса.

В данной работе представлены результаты доклинических исследований безопасности вирусного противоопухолевого препарата на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, противоопухолевая эффективность которого была доказана на широкой панели опухолей человека и животных. Установлено, что лекарственный препарат на основе VV-GMCSF-Lact хорошо переносится экспериментальными животными, безопасен в исследованных дозах как при однократном, так и при

Таблица 5. Токсические эффекты при многократном введении препарата (4 инъекции с интервалом в 1 неделю)

Table 5. Toxic effects following multiple administration of the drug (4 injections at weekly intervals)

Вид животных Animal species	**Доза** Dose	**Токсические эффекты** Toxic effects	**Клиническая значимость** Clinical significance	**Значение NOAEL** NOAEL value
Крысы Rats	1×10^7 БОЕ 1×10^7 PFU	Гематология: снижение доли палочкоядерных нейтрофилов (день 29) Hematology: decreased band neutrophils (day 29)	Нет No	5×10^7 БОЕ 5×10^7 PFU
	5×10^7 БОЕ 5×10^7 PFU	Гематология: снижение МСНС (день 43). Гистопатология (день 29): кожа в области введения – воспалительная реакция, подмышечные лимфоузлы – гиперплазия лимфоцитов (иммунный ответ). Снижение ЧСС (день 2) Hematology: decreased MCHC (day 43). Histopathology (day 29): skin at the injection site – inflammatory response, axillary lymph nodes – lymphocyte hyperplasia (immune response). Decreased heart rate (day 2)	Нет No	
Кролики Rabbits	1×10^7 БОЕ 1×10^7 PFU	Нет No	–	5×10^7 БОЕ 5×10^7 PFU
	5×10^7 БОЕ 5×10^7 PFU	Гематология (день 2): лимфопения, моноцитопения, гранулоцитоз Hematology (day 2): lymphopenia, monocytopenia, granulocytosis	Нет No	

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

многократном введении и рекомендуется для клинических испытаний фазы I (безопасность и переносимость лекарственного препарата) у онкологических пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О., ред. Состояние онкологической помощи населению России в 2024 году. М.: ООО «Компания ПолиграфМастер»; 2025. 275 с.
2. Ma R., Li Z., Chiocca E. A., Caligiuri M. A., Yu J. The emerging field of oncolytic virus-based cancer immunotherapy. *Trends in Cancer*. 2023.9(2):122–139. https://doi.org/10.1016/j.trecan.2022.10.003
3. Alwithenani A., Hengswat P., Chiocca E. A. Oncolytic viruses as cancer therapeutics: From mechanistic insights to clinical translation. *Molecular Therapy*. 2025;33(5):2217–2228. http://doi.org/10.1016/j.ymthe.2025.03.035
4. Xiao D., Zhang H., Liu Y., Li Y., Li G., Ning Y. Oncolytic viruses: advanced strategies in cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2026;11(1):45. http://doi.org/10.1038/s41392-025-02343-3
5. Vasileva N., Ageenko A., Byvakina A., Sen'kova A., Kochneva G., Mishinov S., Richter V., Kuligina E. The Recombinant Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Chemotherapy Drugs against Human Glioma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(8);4244. https://doi.org/10.3390/ijms25084244
6. Stawowczyk M., Ye Y., Chen N. G. Vaccinia Virus—A Swiss Army Knife Against Cancer. *Cancers*. 2025;17(14):2324. http://doi.org/10.3390/cancers17142324
7. Kochneva G., Sivolobova G., Tkacheva A., Grazhdantseva A., Troitskaya O., Nushtaeva A., Tkachenko A., Kuligina E., Richter V., Koval O. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy. *Oncotarget*. 2016;7(45):74171–74188. https://doi.org/10.18632/oncotarget.12367
8. Кулигина Е. В., Коваль О. А., Рихтер В. А., Кочнева Г. В., Сиволобова Г. Ф., Гражданцева А. А., Трошкова Г. П. Противоопухолевое средство на основе рекомбинантного штамма вируса осповакцины и способ его получения. Патент РФ на изобретение № RU 2730657 C1. 24.08.2020. Доступно по https://patents.google.com/patent/RU2730657C1/ Ссылка активна на 13.07.2026.
9. Кочнева Г. В., Ткачева А. В., Сиволобова Г. Ф., Гражданцева А. А., Юнусова А. Ю., Рябчикова Е. И., Кулигина Е. В., Коваль О. А., Рихтер В. А. Противоопухолевый потенциал рекомбинантного штамма вируса осповакцины, продуцирующего секретируемый химерный белок, состоящий из гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека и онкотоксического белка лактаптина. *Биофармацевтический журнал*. 2017;9(1):11–21.
10. Кочнева Г. В., Гражданцева А. А., Сиволобова Г. Ф., Ткачева А. В., Швалов А. Н., Юнусова А. Ю., Рябчикова Е. И., Нетесов С. В. Модель искусственного метастазирования эпидермоидной карциномы человека А431 на мышах линии nude для исследования онколитической активности вируса осповакцины. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(4):480–486. https://doi.org/10.18699/VJ15.064

11. Koval O., Kochneva G., Tkachenko A., Troitskaya O., Sivolobova G. Grazhdantseva A., Nushtaeva A., Kuligina E., Richter V. Recombinant vaccinia viruses coding transgenes of apoptosis-inducing proteins enhance apoptosis but not immunogenicity of infected tumor cells. *BioMed Research International*. 2017;(30):3620510. https://doi.org/10.1155/2017/3620510
12. Vasileva N., Ageenko A., Dmitrieva M., Nushtaeva A., Mishinov S., Kochneva G., Richter V., Kuligina E. Double Recombinant Vaccinia Virus: A Candidate Drug against Human Glioblastoma. *Life*. 2021;11(10):1084. https://doi.org/10.3390/life11101084
13. Васильева Н. С., Агеенко А. Б., Рихтер В. А., Кулигина Е. В. Сигнальные пути, определяющие эффективность терапии глиобластомы вирусом осповакцины. *Acta Naturae*. 2022;14(53):62–70.
14. Ageenko A., Vasileva N., Yusubalieva G., Sen'kova A., Romashchenko A., Gubskiy I., Zabozlaev F., Zavyalov E., Dymova M., Richter V., Kuligina E. Efficacy of Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact Against Immunocompetent Glioma. *Cells*. 2025;14(20):1619. https://doi.org/10.3390/cells14201619
15. Миронов А. Н., Меркулов В. А., Бунятян Н. Д., Бондарев В. П., и др., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). М.: Гриф и К; 2012. 532 с.
16. Kemp V., van den Wollenberg D. J. M., Camps M. G. M., van Hall T., Kinderman P., Pronk-van Montfoort N., Hoeben R. C. Arming oncolytic reovirus with GM-CSF gene to enhance immunity. *Cancer Gene Therapy*. 2019;26:268–281. https://doi.org/10.1038/s41417-018-0063-9
17. Shi X., Sun K., Li L., Xian J., Wang P., Jia, F., Xu F. Oncolytic Activity of Sindbis Virus with the Help of GM-CSF in Hepatocellular Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):7195. https://doi.org/10.3390/ijms25137195
18. Cao H., Ye J., Li X., Si Y., Jin X., Xiong S., Ji T., Ding Y., Ma D., Gao Q., Wang X., Dai Z., Li F. A novel GM-CSF-encoding oncolytic adenovirus induces profound autophagy and promotes viral replication to enhance anti-tumor efficacy. *Cancer Gene Therapy*. 2025;32:1276–1291. https://doi.org/10.1038/s41417-025-00962-0
19. Ageenko A. B., Vasileva N. S., Chesnokova A. S., Semenov D. V., Byvakina A. A., Dymova M. A., Sen'kova A. V., Nushtaeva A. A., Leonteva A. A., Savinovskaya Yu. I., Kochneva G. V., Richter V. A., Kuligina E. V. Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Human GM-CSF Against GL261 Glioma in Immunocompetent Mice. *Pharmaceuticals*. 2026;19(3):434. https://doi.org/10.3390/ph19030434
20. Thorne S. H., Hwang T.-H. H., O'Gorman W. E., Bartlett D. L., Sei S., Kanji F., Brown C., Werier J., Cho J.-H., Lee D.-E., Wang Y., Bell J., Kirn D. H. Rational strain selection and engineering creates a broad-spectrum, systemically effective oncolytic poxvirus, JX-963. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(11):3350–3358. https://doi.org/10.1172/JCI32727
21. Kim J. H., Oh J. Y., Park B. H., Lee D. E., Kim J. S., Park H. E., Roh M. S., Je J. E., Yoon J. H., Thorne S. H., Kirn D., Hwang T. H. Systemic armed oncolytic and immunologic therapy for cancer with JX-594, a targeted poxvirus expressing GM-CSF. *Molecular Therapy*. 2006;14(3):361–370. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.05.008
22. Pencavel T. D., Wilkinson M. J., Mansfield D. C., Khan A. A., Seth R., Karapanagiotou E. M., Roulstone V., Aguilar R. J., Chen N. G., Szalay A. A., Hayes A. J., Harrington K. J. Isolated limb perfusion with melphalan, tumour necrosis factor-alpha and oncolytic vaccinia virus improves tumour targeting and prolongs survival in a rat model of advanced extremity sarcoma. *International Journal of Cancer*. 2015;136(4):965–976. https://doi.org/10.1002/ijc.29059
23. Haddad D. Genetically Engineered Vaccinia Viruses As Agents for Cancer Treatment, Imaging, and Transgene Delivery. *Frontiers in Oncology*. 2017;7:96. https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00096
24. Rasa A., Alberts P. Oncolytic virus preclinical toxicology studies. *Journal of Applied Toxicology*. 2023;43(5):620–648. https://doi.org/10.1002/jat.4408
25. Li M., Zhang M., Ye Q., Liu Y., Qian W. Preclinical and clinical trials of oncolytic vaccinia virus in cancer immunotherapy: a comprehensive review. *Cancer Biology & Medicine*. 2023;20(9):646–661. https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0202

REFERENCES

1. Kaprin A. D., Starinsky V. V., Shakhzadova A. O., editors. The state of oncological care for the population of Russia in 2024. Moscow: LLC "PoligrafMaster Company"; 2025. 275 p. (In Russ.)
2. Ma R., Li Z., Chiocca E. A., Caligiuri M. A., Yu J. The emerging field of oncolytic virus-based cancer immunotherapy. *Trends in Cancer*. 2023.9(2):122–139. https://doi.org/10.1016/j.trecan.2022.10.003
3. Alwithenani A., Hengswat P., Chiocca E. A. Oncolytic viruses as cancer therapeutics: From mechanistic insights to clinical translation. *Molecular Therapy*. 2025;33(5):2217–2228. http://doi.org/10.1016/j.ymthe.2025.03.035
4. Xiao D., Zhang H., Liu Y., Li Y., Li G., Ning Y. Oncolytic viruses: advanced strategies in cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2026;11(1):45. http://doi.org/10.1038/s41392-025-02343-3
5. Vasileva N., Ageenko A., Byvakina A., Sen'kova A., Kochneva G., Mishinov S., Richter V., Kuligina E. The Recombinant Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Chemotherapy Drugs against Human Glioma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(8);4244. https://doi.org/10.3390/ijms25084244
6. Stawowczyk M., Ye Y., Chen N. G. Vaccinia Virus—A Swiss Army Knife Against Cancer. *Cancers*. 2025;17(14):2324. http://doi.org/10.3390/cancers17142324
7. Kochneva G., Sivolobova G., Tkacheva A., Grazhdantseva A., Troitskaya O., Nushtaeva A., Tkachenko A., Kuligina E., Richter V., Koval O. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy. *Oncotarget*. 2016;7(45):74171–74188. https://doi.org/10.18632/oncotarget.12367
8. Kuligina E. V., Koval O. A., Richter V. A., Kochneva G. V., Sivolobova G. F., Grazhdantseva A. A., Troshkova G. P. Antineoplastic agent based on recombinant vaccinia virus strain contains recombinant strain VV-GMCSF-Lact and method of its production. Patent RUS № 2730657 C1. 24.08.2020. Available at: https://patents.google.com/patent/RU2730657C1/ Accessed: 13.07.2026. (In Russ.)
9. Kochneva G. V., Tkacheva A. V., Sivolobova G. F., Grazhdantseva A. A., Unusova A. Yu., Ryabchikova E. I., Kuligina E. V., Koval O. A., Richter V. A. Antitumor potential of recombi-

nant vaccinia virus strain, which produces a secreted chimera protein, composed of human GM-CSF and oncotoxic peptide lactaptin. *Journal of Biopharmaceuticals*. 2017;9(1):11–21. (In Russ.)
10. Kochneva G. V., Grazhdantseva A. A., Sivolobova G. F., Tkacheva A. V., Shvalov A. N., Unusova A. Yu., Ryabchikova E. I., Netesov S. V. A model of the artificial metastasis of human epidermoid carcinoma A431 in nude mice for examination of the oncolytic activity of vaccinia virus. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(4):480–486. (In Russ.) https://doi.org/10.18699/VJ15.064
11. Koval O., Kochneva G., Tkachenko A., Troitskaya O., Sivolobova G. Grazhdantseva A., Nushtaeva A., Kuligina E., Richter V. Recombinant vaccinia viruses coding transgenes of apoptosis-inducing proteins enhance apoptosis but not immunogenicity of infected tumor cells. *BioMed Research International*. 2017;(30):3620510. https://doi.org/10.1155/2017/3620510
12. Vasileva N., Ageenko A., Dmitrieva M., Nushtaeva A., Mishinov S., Kochneva G., Richter V., Kuligina E. Double Recombinant Vaccinia Virus: A Candidate Drug against Human Glioblastoma. *Life*. 2021;11(10):1084. https://doi.org/10.3390/life11101084
13. Vasilyeva N. S., Ageenko A. B., Richter V. A., Kuligina E. V. Signaling pathways determining the efficacy of vaccinia virus therapy for glioblastoma. *Acta Naturae*. 2022;14(53):62–70. (In Russ.)
14. Ageenko A., Vasileva N., Yusubalieva G., Sen'kova A., Romashchenko A., Gubskiy I., Zabozlaev F., Zavyalov E., Dymova M., Richter V., Kuligina E. Efficacy of Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact Against Immunocompetent Glioma. *Cells*. 2025;14(20):1619. https://doi.org/10.3390/cells14201619
15. Mironov A. N., Merkulov V. A., Bunyatyan N. D., Bondarev V. P., et al., editors. Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicinal Products (Immunobiological Medicinal Products). Moscow: Grif i K; 2012. 532 p. (In Russ.)
16. Kemp V., van den Wollenberg D. J. M., Camps M. G. M., van Hall T., Kinderman P., Pronk-van Montfoort N., Hoeben R. C. Arming oncolytic reovirus with GM-CSF gene to enhance immunity. *Cancer Gene Therapy*. 2019;26:268–281. https://doi.org/10.1038/s41417-018-0063-9
17. Shi X., Sun K., Li L., Xian J., Wang P., Jia, F., Xu F. Oncolytic Activity of Sindbis Virus with the Help of GM-CSF in Hepatocellular Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):7195. https://doi.org/10.3390/ijms25137195
18. Cao H., Ye J., Li X., Si Y., Jin X., Xiong S., Ji T., Ding Y., Ma D., Gao Q., Wang X., Dai Z., Li F. A novel GM-CSF-encoding oncolytic adenovirus induces profound autophagy and promotes viral replication to enhance anti-tumor efficacy. *Cancer Gene Therapy*. 2025;32:1276–1291. https://doi.org/10.1038/s41417-025-00962-0
19. Ageenko A. B., Vasileva N. S., Chesnokova A. S., Semenov D. V., Byvakina A. A., Dymova M. A., Sen'kova A. V., Nushtaeva A. A., Leonteva A. A., Savinovskaya Yu. I., Kochneva G. V., Richter V. A., Kuligina E. V. Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Human GM-CSF Against GL261 Glioma in Immunocompetent Mice. *Pharmaceuticals*. 2026;19(3):434. https://doi.org/10.3390/ph19030434
20. Thorne S. H., Hwang T.-H. H., O'Gorman W. E., Bartlett D. L., Sei S., Kanji F., Brown C., Werier J., Cho J.-H., Lee D.-E., Wang Y., Bell J., Kirn D. H. Rational strain selection and engineering creates a broad-spectrum, systemically effective oncolytic poxvirus, JX-963. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(11):3350–3358. https://doi.org/10.1172/JCI32727
21. Kim J. H., Oh J. Y., Park B. H., Lee D. E., Kim J. S., Park H. E., Roh M. S., Je J. E., Yoon J. H., Thorne S. H., Kirn D., Hwang T. H. Systemic armed oncolytic and immunologic therapy for cancer with JX-594, a targeted poxvirus expressing GM-CSF. *Molecular Therapy*. 2006;14(3):361–370. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.05.008
22. Pencavel T. D., Wilkinson M. J., Mansfield D. C., Khan A. A., Seth R., Karapanagiotou E. M., Roulstone V., Aguilar R. J., Chen N. G., Szalay A. A., Hayes A. J., Harrington K. J. Isolated limb perfusion with melphalan, tumour necrosis factor-alpha and oncolytic vaccinia virus improves tumour targeting and prolongs survival in a rat model of advanced extremity sarcoma. *International Journal of Cancer*. 2015;136(4):965–976. https://doi.org/10.1002/ijc.29059
23. Haddad D. Genetically Engineered Vaccinia Viruses As Agents for Cancer Treatment, Imaging, and Transgene Delivery. *Frontiers in Oncology*. 2017;7:96. https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00096
24. Rasa A., Alberts P. Oncolytic virus preclinical toxicology studies. *Journal of Applied Toxicology*. 2023;43(5):620–648. https://doi.org/10.1002/jat.4408
25. Li M., Zhang M., Ye Q., Liu Y., Qian W. Preclinical and clinical trials of oncolytic vaccinia virus in cancer immunotherapy: a comprehensive review. *Cancer Biology & Medicine*. 2023;20(9):646–661. https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0202

Обзорная статья / Review article

УДК 615.1; 504.054

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2152

Check for updates

CC BY 4.0

Подходы к оценке экологического воздействия лекарственных средств (обзор)

А. В. Головин✉, **Н. В. Пятигорская**, **С. А. Лосева**, **Ж. И. Аладышева**, **О. А. Зырянов**, **М. Г. Гринин**

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:** Головин Алексей Васильевич. **E-mail:** avg@vmin.ru

Резюме

Введение. Фармацевтическая промышленность, обеспечивая здоровье населения, одновременно создает значительные экологические риски. В статье рассматриваются современные подходы к оценке воздействия лекарственных средств на окружающую среду в различных регуляторных системах. Это воздействие проявляется через выбросы загрязняющих веществ в воздух, сброс сточных вод, образование твердых отходов и потребление значительных объемов природных ресурсов в качестве исходного сырья химических и биологических субстанций. Кроме того, лекарственные средства и их метаболиты попадают в окружающую среду после употребления пациентами. Также актуальна проблема безопасного сбора и утилизации лекарственных средств, находящихся в гражданском обороте. Комплекс экологических проблем, связанных с лекарственными средствами, находится в фокусе международных организаций, таких как Организация сотрудничества и экономического развития (ОЭСР) или Программа Организации Объединенных Наций по окружающей среде (ЮНЕП). Экспертные группы в их рамках оценивают ситуацию с загрязнением окружающей среды лекарственными средствами как угрожающую. Проблема загрязнения лекарственными средствами требует применения подхода, охватывающего весь жизненный цикл препаратов – от разработки и регистрации до потребления и утилизации. Основное внимание должно быть уделено мерам предотвращения загрязнения: разработке «зеленых» препаратов, ограничению использования веществ с высоким экологическим риском, созданию программ утилизации лекарственных средств, модернизации очистных сооружений и просветительским кампаниям.

Текст. Целью представленного обзора является проведение сравнительного анализа методов оценки экологических рисков, применяемых в Европейском союзе (ЕС), США и России. В ЕС используется двухэтапная система оценки (первичный скрининг и детальный анализ), регламентированная Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA). В США Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) применяет механизм категорических исключений, что делает систему более гибкой. Действующее в России природоохранное законодательство регламентирует порядок обращения с отходами и нормирует воздействие на окружающую среду, тогда как комплексная оценка рисков жизненного цикла препаратов отсутствует.

Заключение. Применение международного опыта, включая поэтапное внедрение регуляторных требований к оценке экологических рисков лекарственных средств, может способствовать развитию более устойчивой фармацевтической отрасли в России.

Ключевые слова: экологические риски, лекарственные средства, оценка рисков, фармацевтическая промышленность, регуляторная наука

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

Вклад авторов. А. В. Головин – сбор, анализ и обобщение данных, вклад в концепцию, редактирование текста рукописи. Н. В. Пятигорская – разработка концепции, написание и редактирование текста рукописи. С. А. Лосева – критический пересмотр текста. Ж. И. Аладышева – утверждение окончательного варианта статьи для публикации. О. А. Зырянов – подготовка и редактирование текста рукописи. М. Г. Гринин – сбор данных, редактирование текста рукописи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

© Головин А. В., Пятигорская Н. В., Лосева С. А., Аладышева Ж. И., Зырянов О. А., Гринин М. Г., 2026
© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026
© Golovin A. V., Pyatigorskaya N. V., Loseva S. A., Aladysheva Zh. I., Zyryanov O. A., Grinin M. G., 2026
© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Для цитирования: Головин А. В., Пятигорская Н. В., Лосева С. А., Аладышева Ж. И., Зырянов О. А., Гринин М. Г. Подходы к оценке экологического воздействия лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):271–284. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2152

Поступила в редакцию: 23.07.2025
Поступила после рецензирования: 16.04.2026
Принята к публикации: 14.08.2026

Approaches to assessing the environmental impact of pharmaceuticals (review)

Aleksei V. Golovin✉, **Nathalia V. Pyatigorskaya**, **Sofia A. Loseva**, **Zhanna I. Aladysheva**, **Oleg A. Zyryanov**, **Maxim G. Grinin**

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119048, Russia

✉ **Corresponding author:** Aleksei V. Golovin. **E-mail:** avg@vmin.ru

Abstract

Introduction. The pharmaceutical industry, while ensuring public health, simultaneously creates significant environmental risks. The article discusses modern approaches to assessing the impact of drugs on the environment in various regulatory systems. This impact is manifested through emissions of pollutants into the air, wastewater discharge, solid waste generation and consumption of significant volumes of natural resources as raw materials for chemical and biological substances. In addition, drugs and their metabolites enter the environment after use by patients. The problem of safe collection and disposal of drugs in civil circulation is also relevant. The complex of environmental problems associated with drugs is the focus of international organizations such as the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) or the United Nations Environment Programme (UNEP). Expert groups within their framework assess the situation with environmental pollution by drugs as threatening. The problem of drug pollution requires the use of an approach covering the entire life cycle of drugs – from development and registration to consumption and disposal. The focus should be on pollution prevention measures: developing "green" drugs, limiting the use of substances with high environmental risks, creating drug disposal programs, upgrading treatment facilities, and educational campaigns.

Text. The objective of this review is to conduct a comparative analysis of environmental risk assessment methods used in the European Union (EU), the United States, and Russia. The EU uses a two-stage assessment system (primary screening and detailed analysis) regulated by the European Medicines Agency (EMA). In the United States, the Food and Drug Administration (FDA) applies a categorical exclusion mechanism, which makes the system more flexible. The current environmental legislation in Russia regulates waste management and sets standards for the impact on the environment, while there is no comprehensive risk assessment of the life cycle of drugs.

Conclusion. The use of international experience, including the phased implementation of regulatory requirements for the assessment of environmental risks of drugs, can contribute to the development of a more sustainable pharmaceutical industry in Russia.

Keywords: Granik® drug, indolinone derivative GRS, safety, pharmacokinetics

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

Contribution of the authors. Aleksei V. Golovin – collection, analysis and generalization of data, contribution to the concept, editing of the manuscript. Nathalia V. Pyatigorskaya – development of the concept, writing and editing of the manuscript. Sofia A. Loseva – critical revision of the text. Zhanna I. Aladysheva – approval of the final version of the article for publication. Oleg A. Zyryanov – preparation and editing of the manuscript. Maxim G. Grinin – collection of data, editing of the manuscript. All authors participated in the discussion of the results.

For citation: Golovin A. V., Pyatigorskaya N. V., Loseva S. A., Aladysheva Zh. I., Zyryanov O. A., Grinin M. G. Approaches to assessing the environmental impact of pharmaceuticals. *Drug development & registration*. 2026;15(3):271–284. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2152

Received: 23.07.2025
Revised: 16.04.2026
Accepted: 14.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Фармацевтическая промышленность играет ключевую роль в обеспечении здоровья населения, однако деятельность в ходе всего жизненного цикла лекарственных средств может оказывать негативное воздействие на окружающую среду. Это воздействие проявляется через выбросы загрязняющих веществ в воздух, сброс сточных вод, образование твердых отходов и потребление значительных объемов природных ресурсов в качестве исходного сырья химических и биологических субстанций. Кроме того, лекарственные средства и их метаболиты попадают в окружающую среду после употребления пациентами. Также актуальна проблема безопасного сбора и утилизации лекарственных средств, находящихся в гражданском обороте.

Так, Е-фактор Шелдона (статистический критерий – отношение массы продукта к массе отходов, образованных при его производстве) показывает, что фармацевтика, включая фармацевтический синтез, является наиболее «грязной» отраслью промышленности [1].

Комплекс экологических проблем, связанных с лекарственными средствами, находится в фокусе международных организаций, таких как Организация сотрудничества и экономического развития (ОЭСР) или Программа Организации Объединенных Наций по окружающей среде (ЮНЕП). Экспертные группы в их рамках оценивают ситуацию с загрязнением окружающей среды лекарственными средствами как угрожающую.

Воздействие некоторых фармацевтических субстанций даже в крайне малых концентрациях (нанограммы на литр) может вызывать серьезные эффекты. Лабораторные и полевые испытания показывают, что следы оральных контрацептивов вызывают феминизацию рыб и земноводных, остатки психотропных препаратов изменяют поведение рыб, а попадание антибиотиков в окружающую среду приводит к появлению резистентных организмов, способных спровоцировать кризис в здравоохранении.

Проблема усугубляется тем, что большинство очистных сооружений не приспособлены для удаления лекарственных веществ из сточных вод, и эффективность удаления таких соединений сильно варьируется. Производственные предприятия, особенно в странах с недостаточным экологическим контролем, могут сбрасывать в окружающую среду вещества в концентрациях, превышающих терапевтические дозы. Примером может служить Индия, где на очистных сооружениях в г. Патанчеру, штат Хайдарабад, обслуживающих около 90 производителей активных фармацевтических субстанций, концентрации ципрофлоксацина достигали 32 мг/л. Это значительно превышает уровни, наблюдаемые в крови пациентов, получающих лечение антибиотиками. Более того, в этих сточных водах все изолированные бактерии оказались мультирезистентными[1]. По некоторым оценкам [2], для антибиотиков следует принимать целевую концентрацию в размере 0,05 мкг/л в сточных водах в целях недопущения селекции резистентных микроорганизмов. Другие авторы также отмечают необходимость оценки не только экосистемной токсичности, но и минимальной селективной концентрации антибиотиков [3].

Исследования также показывают, что до 70–90 % от принятой дозы препарата может выделяться в активной форме, а при неправильной утилизации препаратов нагрузка на окружающую среду возрастает кратно. Наряду с этим уровень потребления лекарственных средств продолжает расти. Демографичеческие изменения, старение населения, увеличение частоты хронических заболеваний, а также интенсивное развитие животноводства и аквакультуры стимулируют массовое использование лекарственных средств для медицинского и ветеринарного применения. В результате в окружающей среде накапливаются сложные смеси активных веществ, их метаболитов и продуктов распада, многие из которых не проходят должной токсикологической оценки. Особую опасность представляют так называемые псевдоустойчивые загрязнители – вещества, разлагающиеся в окружающей среде, но непрерывно туда поступающие, что делает их постоянным фактором риска. Ситуация усугубляется ограниченностью мониторинга: большинство стран не имеют систематического контроля остаточных концентраций АФИ в поверхностных и подземных водах, что приводит к недостаточной информированности и слабой политической реакции[2].

Крупнейшее на сегодня глобальное исследование поверхностных вод продемонстрировало обнаружение активных фармацевтических ингредиентов (АФИ) в реках более чем половины стран мира (пробы из 1052 точек отбора в 104 странах контролировались на содержание 61 АФИ), причем более чем в четверти случаев концентрации превышали оценочные концентрации, не вызывающие эффектов (Predicted No-Effect Concentration, PNEC) для водных экосистем [4]. Эти данные, полученные сопоставимыми аналитическими методами, впервые позволили оценить в мировом масштабе присутствие фар-

[1] OECD (2019). Pharmaceutical Residues in Freshwater. Hazards and Policy Responses. Available at: https://doi.org/10.1787/c936f42d-en Accessed: 02.01.2026.

[2] UNEP (2020). Chemicals and Waste Issues of Concern: A Summary Analysis of Stakeholders' Views. Available at: https://www.unep.org/resources/report/chemicals-and-waste-issues-concern-summary-analysis-stakeholders-views Accessed: 02.01.2026.

мацевтических загрязнителей и определить районы с наиболее высоким риском. Распределение загрязнителей фармацевтического происхождения в окружающей среде неоднородно. Наиболее загрязненными оказались водные объекты, расположенные в странах с низким и средним уровнем дохода, в районах с недостаточно развитой инфраструктурой очистки сточных вод и обращения с отходами, а также в районах расположения фармацевтических кластеров. Другие авторы отмечают наличие АФИ в концентрациях, потенциально опасных для водных организмов, в сточных водах медицинских учреждений [5], что свидетельствует о рисках, связанных с этапами жизненного цикла препарата после продажи конечному потребителю. Другое мониторинговое исследование, проведенное в Ирландии, показало, что на очистных сооружениях и в водных объектах АФИ встречаются в потенциально опасных концентрациях, наибольших среди 142 потенциально опасных загрязнителей химической природы [6].

Проблема загрязнения лекарственными средствами требует применения подхода, охватывающего весь жизненный цикл препаратов – от разработки и регистрации до потребления и утилизации [7]. Основное внимание должно быть уделено мерам предотвращения загрязнения: разработке «зеленых» препаратов, ограничению использования веществ с высоким экологическим риском, созданию программ утилизации лекарственных средств, модернизации очистных сооружений и просветительским кампаниям.

Ряд авторов [8–10] обосновывает необходимость применения подхода Safe and Sustainability by Design (SSbD – безопасность и устойчивость от разработки), который позволил бы предупреждать потенциальные риски. Однако этот подход еще требует разработки подходящих методов и моделей, чем будет заниматься консорциум PREMIER – партнерство ученых, государственных органов и фармацевтических компаний по вопросам приоритизации и оценки рисков, связанных с лекарственными препаратами в окружающей среде, при поддержке Европейской комиссии.

Кроме того, отмечается необходимость выработки этически обоснованных критериев при выпуске препарата на рынок, чтобы не ухудшить доступ пациентов к эффективной терапии, но при этом нормировать потенциальное воздействие на окружающую среду [11].

В связи с этим оценка экологических рисков, связанных с фармацевтическим производством, становится актуальной задачей для обеспечения устойчивого развития отрасли и минимизации негативных последствий для экосистем.

Европейский союз

В рамках реализации Европейского зеленого курса[1] Европейская комиссия разработала и утвердила Стратегический подход к фармацевтическим препаратам в окружающей среде[2], в котором изложены ключевые направления оценки и управления экологическими рисками, связанными с жизненным циклом лекарственных средств. Этот документ подчеркивает необходимость перехода к устойчивым практикам в сфере фармацевтики, начиная с этапа разработки препаратов и заканчивая их утилизацией. В частности, стратегия акцентирует внимание на стимулировании производителей учитывать потенциальное воздействие лекарственных веществ на окружающую среду еще на стадии проектирования, а также на поддержке исследований и инноваций, направленных на создание препаратов, способных эффективно разлагаться на очистных сооружениях и в природной среде до безопасных соединений.

Особое внимание уделяется ретроспективной оценке экологических рисков уже присутствующих на рынке препаратов, а также совершенствованию методик оценки новых лекарств. Предусмотрено также развитие методических рекомендаций совместно с Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA), в том числе в части оценки рисков, связанных с применением препаратов в аквакультуре. Стратегия охватывает вопросы устойчивых государственных закупок, расширенного экологического мониторинга поверхностных вод (включая контроль цитотоксичных и рентгеноконтрастных веществ, а также генов устойчивости), обмена научными данными и лучшими экспертными практиками.

Среди практических мер также обозначены: снижение объемов фармацевтических отходов за счет оптимизации назначений и утилизации, продление сроков годности, инвестиции в технологии очистки сточных вод от остатков лекарственных средств и научная поддержка исследований, направленных на изучение токсичности, развитие антимикробной резистентности, влияние хронического воздействия малых доз на здоровье человека, а также возможности безопасного использования отходов животноводства, содержащих остатки препаратов, в рамках экономики замкнутого цикла. Этот комплексный подход

[1] Parlementaire Monitor. Toegang tot het gehele parlementaire besluitvormingsproces. Available at: https://www.eumonitor.eu/9353000/1/j9vvik7m1c3gyxp/vl4cnhyp1ort Accessed: 02.01.2026.

[2] Delivering the European Green Deal. On the path to a climate-neutral Europe by 2050. Available at: https://commission.europa.eu/strategy-and-policy/priorities-2019-2024/european-green-deal/delivering-european-green-deal_en Accessed: 02.01.2026.

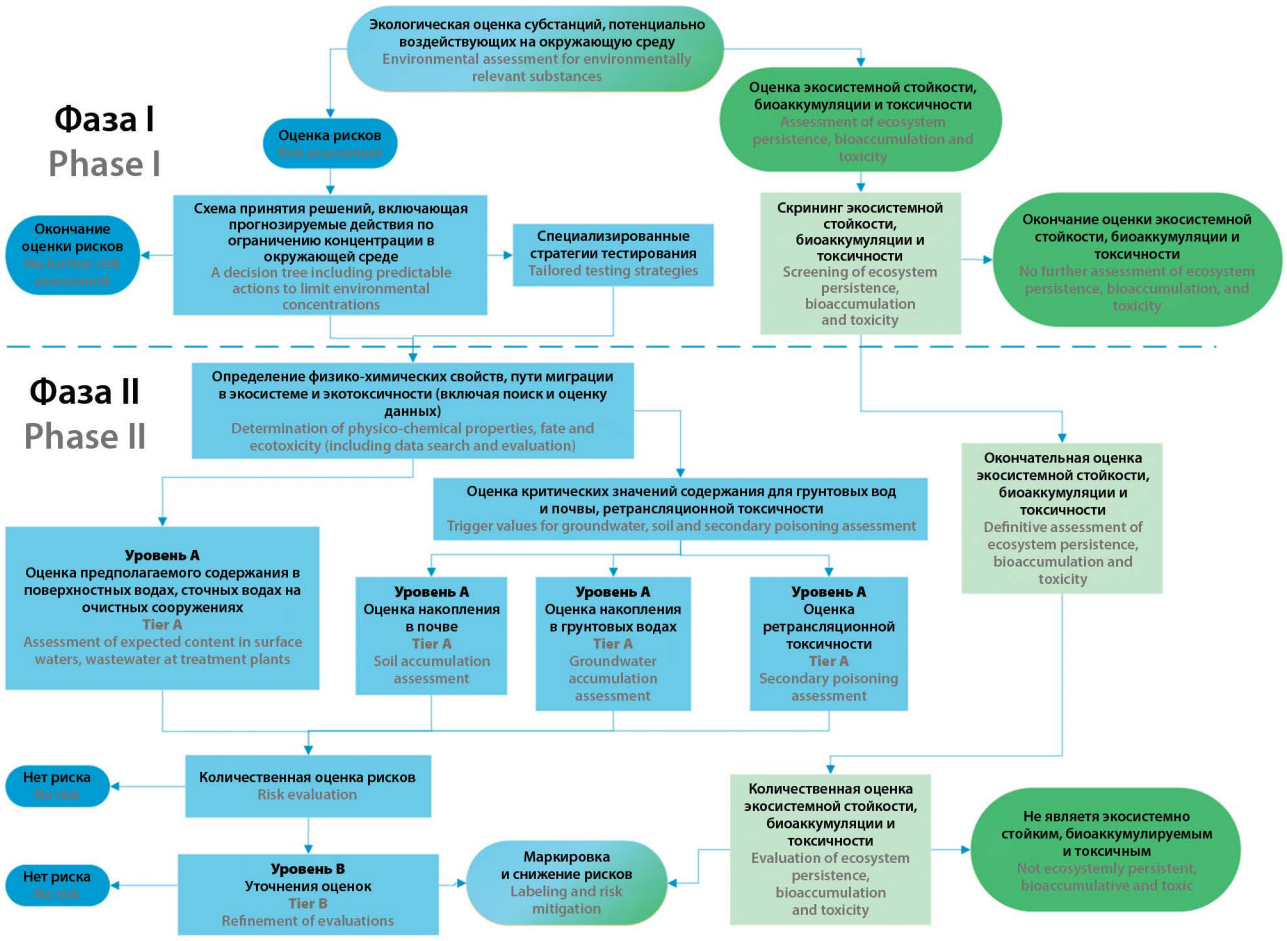


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Общая схема оценки рисков и оценки экосистемной стойкости, биоаккумуляции и токсичности. Использованы материалы

Figure 1. General scheme of risk assessment and assessment of ecosystem stability, bioaccumulation and toxicity. Materials from were used

служит основой для формирования более устойчивой и экологически ответственной модели обращения с лекарственными средствами в странах ЕС.

В рамках исполнения целей Стратегического подхода EMA было разработано Руководство по оценке экологического риска лекарственных средств для медицинского применения (Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use)[1]. Регистрация в Европейском союзе лекарственного препарата для медицинского применения в обязательном порядке должна включать оценку экологического риска, учитывающую предполагаемые объемы использования препарата и данные о физико-химических свойствах и токсичности действующих веществ.

Отчет об оценке экологического риска должен быть представлен в модуле 1.6 регистрационного досье в форме общего технического документа (Common Technical Document, CTD), куда включаются специфические для региона документы. Возможны случаи, когда отсутствие экологических исследований может быть оправданно, тогда эксперт должен дополнительно предоставить обоснование отсутствия исследований. Отчет должен содержать краткое изложение всех исследований, материалы которых использованы при его разработке. Должны быть подтверждены соответствующее образование автора, профессиональная подготовка и опыт.

Общая схема оценки экологических рисков, связанных с лекарственным средством (активной фармацевтической субстанцией), представлена на рисунке 1.

[1] Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-environmental-risk-assessment-medicinal-products-human-use-revision-1_en.pdf Accessed: 02.01.2026.

Оценка экологических рисков состоит из двух основных этапов: фаза I (первичный скрининг) и фаза II (детальная оценка). Фаза I является первоначальным скринингом для определения необходимости проведения более детальной оценки в рамках фазы II. Это достигается с помощью схемы принятия решений (таблица 1), включающей оценку таких факторов, как природа фармацевтической субстанции, прогнозируемое воздействие на окружающую среду и известные данные о токсичности.

Этап II предназначен для количественной оценки воздействия АФС на окружающую среду и потенциальной экотоксичности. Оценка проводится в два этапа: уровень A (таблицы 2–4) направлен на сбор исходных данных, а уровень B предназначен для уточнения и дополнительного тестирования на основе факторов риска.

Таблица 1. Ключевые шаги фазы I оценки экологических рисков фармацевтической субстанции. Схема принятия решения

Table 1. Key steps of Phase I of the environmental risk assessment of a pharmaceutical substance. Decision tree

№ п/п Item №	Шаг Step	Критерий оценки Evaluation Criteria	Итог / следующий шаг Result / Next Step
1	Шаг 1: имеет ли активная фармацевтическая субстанция (АФС) природное происхождение? Step 1: Is the active pharmaceutical ingredient (hereinafter referred to as API) of natural origin?	Действующее вещество лекарственного препарата имеет природное происхождение (например, витамины, электролиты, аминокислоты, белки, углеводы, липиды)? Is the active ingredient of the drug of natural origin (e.g. vitamins, electrolytes, amino acids, proteins, carbohydrates, lipids)?	Да → Оценка экологических рисков может не проводиться, если это оправданно (например, быстрое биологическое разложение, общее присутствие в окружающей среде). Нет (субстанция имеет синтетическое или биотехнологическое происхождение) → Применяется шаг 2a Yes → environmental risk assessment may be waived if justified (e.g. rapid biodegradation, general presence in the environment). No (substance is of synthetic or biotechnological origin) → Step 2a applies
2	Шаг 2a: каковы основания регистрации? Step 2a: What are the grounds for registration?	Регистрация дженерика, новой комбинации действующих веществ, биоаналогичного лекарственного препарата? Registration of a generic, a new combination of active substances, a biosimilar drug?	Да → Применяется шаг 2b. Нет → Применяется шаг 3a Yes → Step 2b applies. No → Step 3a applies
3	Шаг 2b: проводилась ли ранее оценка экологических рисков для той же АФС? Step 2b: Has an environmental risk assessment been previously conducted for the same API?	Имеется ли у заявителя доступ к оценке экологических рисков, ранее проведенной другим заявителем? Регистрируется дженерик? Does the applicant have access to an environmental risk assessment previously carried out by another applicant? Is the generic being registered?	Да (предоставлен отчет другого заявителя с письменным разрешением на использование или обоснована применимость оценки экологических рисков оригинального препарата с выполнением тех же мер по управлению экологическими рисками) → Применяется шаг 2c. Нет → Применяется шаг 3a Yes (report from another applicant with written permission for use is provided or applicability of the environmental risk assessment of the original product with the same environmental risk management measures is justified) → Step 2c applies. No → Step 3a applies
4	Шаг 2c: использовалось ли ранее при оценке рисков стандартное значение коэффициента проникновения на рынок? Step 2c: Has the standard market penetration rate been used in the risk assessment previously?	Допускается по умолчанию использовать стандартное значение коэффициента проникновения на рынок (доля населения, ежедневно получающая действующее вещество) – 0,01 The default value for the market penetration rate (the proportion of the population receiving the active substance daily) of 0.01 is acceptable	Да → Оценка завершается в фазе I. Нет (Если использовалось уточненное значение коэффициента, заявителю следует убедиться в его актуальности или обновить расчет.) → Применяется шаг 2d Yes → Assessment is completed in Phase I. No (If a revised factor value was used, the applicant should ensure that it is current or update the calculation.) → Step 2d applies

Продолжение таблицы 1

№ п/п Item №	Шаг Step	Критерий оценки Evaluation Criteria	Итог / следующий шаг Result / Next Step
5	Шаг 2d: ожидается ли увеличение воздействия на окружающую среду? Step 2d: Is the environmental impact expected to increase?	Объем потребления действующего вещества может увеличиться при появлении новых показаний или новой группы пациентов, увеличении максимальной суточной дозы, новом способе введения или новой лекарственной форме. Также применяется при уточнении коэффициента проникновения на рынок The volume of active substance consumption may increase with the emergence of new indications or a new group of patients, an increase in the maximum daily dose, a new route of administration or a new dosage form. This step is also used when specifying the market penetration rate	Да → Применяется шаг 3a. Нет → Оценка завершается в фазе I Yes → Step 3a applies. No → Assessment is completed in Phase I
6	Шаг 3a: является ли действующее вещество неприродным пептидом/белком? Step 3a: Is the active ingredient a non-natural peptide/protein?	Пептиды и белки, структурно модифицированные с использованием неприродных аминокислот для повышения устойчивости Peptides and proteins structurally modified with unnatural amino acids to enhance stability	Да → Применяется шаг 3b. Нет → Применяется шаг 4 Yes → Step 3b applies. No → Step 4 applies
7	Шаг 3b: подвержен ли неприродный пептид/белок биоразложению? Step 3b: Is the unnatural peptide/protein biodegradable?	Для неприродных пептидов/белков следует провести дополнительный этап скрининга, доказывающий, что они будут выводиться из организма в количестве не более 10 % от принятой дозы или будут быстро разлагаться на очистных сооружениях и не попадут в окружающую среду For non-natural peptides/proteins, an additional screening step should be performed to prove that they will be excreted from the body in quantities of no more than 10 % of the dose taken or will be rapidly degraded in wastewater treatment plants and will not enter the environment	Да → Оценка экологических рисков завершается в фазе I. Нет → Применяется шаг 4 Yes → Environmental risk assessment is completed in Phase I. No → Step 4 applies
8	Шаг 4: применим ли к АФС предел ожидаемой концентрации в поверхностных водах 0,01 мкг/л? Step 4: Does the expected concentration limit of 0.01 μg/L in surface water apply to the API?	Представляет ли угрозу для организмов в окружающей среде действующее вещество в концентрации <0,01 мкг/л Does the active substance at a concentration of <0.01 μg/L pose a threat to organisms in the environment?	Да → Применяется шаг 5. Нет → Применяется шаг 7 Yes → Step 5 applies. No → Step 7 applies

Окончание таблицы 1

№ п/п **Item №**	**Шаг** **Step**	**Критерий оценки** **Evaluation Criteria**	**Итог / следующий шаг** **Result / Next Step**
9	Шаг 5: ожидаемая концентрация действующего вещества в поверхностных водах ≥0,01 мкг/л? Step 5: Expected active substance concentration in surface water ≥0.01 µg/L?	В рамках фазы I ожидаемая концентрация рассчитывается только для поверхностных вод с учетом ряда допущений: ежедневно действующее вещество получает 1 % населения, в поверхностные воды оно попадает через стоки, не распадаясь в организме пациента или на очистных сооружениях In phase I, the expected concentration is calculated only for surface waters, taking into account a number of assumptions: the active substance is received daily by 1 % of the population, it enters surface waters through runoff, without being broken down in the patient's body or at treatment facilities	Да → Применяется шаг 6. Нет → Оценка экологических рисков завершается в фазе I Yes → Step 6 applies. No → Environmental risk assessment is completed in Phase I
10	Шаг 6: уточненная ожидаемая концентрация действующего вещества в поверхностных водах ≥0,01 мкг/л? Step 6: adjusted expected concentration of active substance in surface water ≥0.01 µg/L?	Расчет с применением уточненного значения коэффициента проникновения на рынок с учетом назначения максимальной дозы по сумме показаний и распространенности заболеваний среди населения ЕС. Другие значения применяются согласно наихудшему сценарию воздействия на окружающую среду Calculation using the adjusted market penetration rate, taking into account the maximum dose prescribed for the sum of indications and the prevalence of diseases in the EU population. Other values are applied according to the worst-case environmental impact scenario	Да → Применяется шаг 7. Нет → Оценка экологических рисков завершается в фазе I Yes → Step 7 applies. No → Environmental risk assessment is completed in Phase I
11	Шаг 7: обладает ли действующее вещество особым профилем токсичности? Step 7: Does the active ingredient have a specific toxicity profile?	Для соединений с определенными особенностями механизма действия необходима специальная стратегия тестирования (например, для гормонов, антибактериальных и противопаразитарных препаратов) Compounds with specific mechanism of action require a specific testing strategy (e.g. hormones, antibacterials and antiparasitics)	Да → Выполняется фаза II оценки рисков с применением специализированных стратегий тестирования. Нет → Выполняется фаза II оценки рисков Yes → Phase II risk assessment is performed using specialized testing strategies. No → Phase II risk assessment is performed

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Если в ходе фазы II выявляются экологические риски, требуются меры по их управлению. К ним относятся:

- ✓ требования к маркировке – инструкция по надлежащей утилизации;
- ✓ ограничения на использование – ограничения на АФС с неприемлемым соотношением риск/польза;
- ✓ мониторинг окружающей среды – контроль концентрации действующих веществ с высокой степенью экологического риска в окружающей среде.

Существенным ограничением методики оценки экологических рисков, применяемой EMA, является фокус на этапах после приобретения препарата и потребления пациентами, последующего выведения в окружающую среду. Документ практически не охватывает ранние стадии жизненного цикла лекарственного препарата, такие как разработка молекулы, химический синтез активных фармацевтических ингредиентов, а также процессы масштабного промышленного производства [12]. Между тем именно на этих

Таблица 2. Оценка физико-химических свойств

Table 2. Evaluation of physicochemical properties

№ п/п Item №	Тест Test	Цель Aim	Метод/Руководство Method/Guide
1	Растворимость в воде Solubility in water	Определяется возможность миграции внутри экосистем The possibility of migration within ecosystems is determined	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 105 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 105
2	Коэффициент разделения октанола и воды Octanol-water partition coefficient	Определяется способность к биоаккумуляции Bioaccumulation capacity is determined	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 107 или 123 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 107 or 123
3	Константа диссоциации Dissociation constant	Определяется, как АФС ведет себя при разных уровнях pH How the API behaves at different pH levels is determined	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 112 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 112

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Таблица 3. Оценка миграции в экосистемах

Table 3. Assessment of migration in ecosystems

№ п/п Item №	Тест Test	Цель Aim	Метод/Руководство Method/Guide
1	Поглощение почвой, илом Absorption by soil, silt	Определяется, в какой степени АФС связывается с почвой и илом, а в какой остается в воде It is determined to what extent the API binds to soil and silt, and to what extent it remains in the water	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 106 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 106
2	Поглощение активным илом Absorption by activated sludge	Определяется, в какой степени АФС поглощается микроорганизмами, применяемыми для очистки сточных вод The extent to which API is absorbed by microorganisms used for wastewater treatment is determined	Руководство агентства по охране окружающей среды (EPA) США 835.1110 US Environmental Protection Agency (EPA) Guidance 835.1110
3	Биоразлагаемость Biodegradability	Определяется, насколько легко АФС разрушается бактериями It is determined how easily API is destroyed by bacteria	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 301 (тест биоразлагаемости) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 301 (Biodegradability test)

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

стадиях возможны выбросы высоких концентраций действующих веществ в окружающую среду, что создает локальные, но острые экологические риски, особенно вблизи производственных площадок. Другие авторы [13] также отмечают, что важными критериями экологического воздействия лекарственного средства на протяжении всего жизненного цикла являются ресурсоемкость и углеродный след, которые не оцениваются в рамках ERA, но могут оказывать существенное влияние на окружающую среду. Кроме того, по данным опроса заинтересованных лиц, в том числе представителей регулятора [14], большинство экспертов отмечают, что при подаче досье компании не всегда предоставляют полную информацию по ERA в связи со сложностью его проведения, а также учитывая отсутствие правовых последствий в случае несоблюдения требований по его предоставлению. Другие авторы [15, 16] отмечают, что наличие публично доступных данных об оценке экологических рисков, которые в настоящее время ограничены, позволило бы врачам при назначении препарата делать выбор, основываясь в том числе и на потенциальном вредном воздействии на окружающую среду.

Таблица 4. **Исследование экосистемной токсичности**

Table 4. **Ecosystem toxicity study**

№ п/п Item №	Тест Test	Цель Aim	Метод/Руководство Method/Guide
1	Ингибирование роста водорослей Inhibition of algae growth	Определяется, как АФС влияет на рост водорослей Determines how API affects algae growth	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 201 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 201
2	Токсичность для репродуктивной системы дафний Toxicity to the reproductive system of daphnia	Определяется, как АФС влияет на размножение водяных блох Determine how API affects the reproduction of water fleas	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 211 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 211
3	Токсичность для рыб на ранних стадиях жизни Toxicity to early life stage fish	Определяется долгосрочное воздействие АФС на рыбу Long-term effects of API on fish are determined	Руководство ОЭСР по тестированию химических веществ, 210 OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 210

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Еще одним недостатком [17] авторы называют быстрое устаревание расчетов, проводимых в рамках оценки экологических рисков, и предлагают использовать прогнозные демографические модели, а также учитывать предполагаемые изменения инфраструктуры в будущем.

Одним из перспективных направлений развития методологии оценки экологических рисков является комбинирование эмпирических данных с исследованиями *in silico*, которое в перспективе может позволить оптимизировать ресурсы для проведения оценки [18].

Соединенные Штаты Америки

В США также существует нормативная база, требующая проведения экологической оценки лекарственных средств. Закон о национальной политике в области окружающей среды (National Environmental Policy Act, NEPA) 1969 года требует, чтобы все федеральные агентства оценивали воздействие своих действий (например, одобрение нового препарата) на окружающую среду и обеспечивали информирование заинтересованной общественности о результатах экологического анализа. Поэтому оценка воздействия на окружающую среду (Environmental Assessment, EA) является обязательным элементом заявок на регистрацию лекарственных препаратов и биопрепаратов, регулируемых Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA).

Оценка воздействия на окружающую среду (EA) или обоснование категорического исключения включается в модуль 1.12 CTD. Подходы к проведению оценки воздействия на окружающую среду описаны в руководстве FDA, впервые разработанном в 1998 г. с дополнениями от 2016 г.[1]

Оценка воздействия на окружающую среду применяется ко всем заявкам на регистрацию лекарственных средств, если они не подпадают под пять категорий категорического исключения (освобождение определенных типов регуляторных действий от обязательной оценки воздействия на окружающую среду, так как по опыту они обычно не оказывают значительного влияния ни индивидуально, ни в совокупности):

1. Регистрация лекарственного средства не приведет к росту объемов использования АФС.
2. Объемы использования АФС увеличатся, но ожидаемая концентрация вещества в водной среде не превысит 1 ppb.

Ожидаемая концентрация действующего вещества (EIC) в водной среде рассчитывается по формуле:

$$EIC = A \cdot \frac{1}{B} \cdot C \cdot D,$$

где A – максимальный оценочный объем действующего вещества, производимого в год (кг); B – объем сточных вод, ежедневно попадающих на очистные сооружения ($1{,}214 \cdot 10^{11}$ л/сут); C – 365 дней; D – коэффициент пересчета (10^9 мкг/кг).

3. Действующее вещество имеет природное происхождение, и регистрация лекарственного средства не приводит к существенному изменению его концентрации или распределения.
4. Заявка на клинические исследования ввиду ограниченности использования.

[1] Guidance for Industry Environmental Assessment of Human Drug and Biologics Applications. Available at: https://www.fda.gov/media/70809/download Accessed: 02.01.2026.

5. Препараты донорской крови, плазмы, компонентов крови.

Категорические исключения не применяются, и в таком случае требуется проведение оценки воздействия на окружающую среду, если существуют исключительные обстоятельства:

- существуют доказательства возможного вреда экосистемам или организмам при предполагаемых объемах использования;
- действующее вещество может повлиять на исчезающие или охраняемые виды, их среды обитания;
- используется растительное или животное сырье из дикой природы, особенно охраняемых территорий;
- производство или утилизация приводит к выбросам, не регулируемым федеральными или местными органами.

Заявителю обычно не требуется предоставлять данные, подтверждающие, что его действие подпадает под категорическое исключение. Органы регистрации могут полагаться на другую информацию, представленную в регистрационном досье, для оценки обоснованности требования о категорическом исключении. При необходимости может быть запрошена дополнительная информация, необходимая для подтверждения соблюдения критериев категорического исключения.

Если же заявителю необходимо предоставить оценку воздействия на окружающую среду, тип предоставляемой информации может варьироваться в зависимости от экологических проблем, связанных с конкретным препаратом. В общем случае в отчете следует описать пути миграции и накопления действующего вещества в окружающей среде и экологические последствия, а также их значимость. По мере необходимости следует предоставлять статистические данные и результаты анализов. В таблице 5 представлен трехступенчатый подход к оценке экосистемной токсичности.

Ожидаемая концентрация в окружающей среде (Estimated Environmental Concentration, EEC), иногда называемая прогнозируемой концентрацией в окружающей среде (Predicted Environmental Concentrations, PEC), представляет собой концентрацию действующего вещества, его метаболитов или продуктов распада, воздействию которых организмы будут подвергаться в окружающей среде после экосистемной миграции или в результате разбавления, разложения, сорбции или биоаккумуляции [12]. При составлении ЕА необходимо предоставить вспомогательную информацию или пояснения к факторам, используемым при расчете ожидаемой концентрации в окружающей среде. Концентрация должна быть указана для каждого компонента окружающей среды (водного, наземного, атмосферного), который, как ожидается, будет подвержен воздействию, исходя из физико-химических характеристик исследуемого соединения.

Таблица 5. Оценка экосистемной токсичности

Table 5. Ecosystem toxicity assessment

№ п/п Item №	Уровень Level	Оцениваемый параметр Estimated parameter	Критерий продолжения Continuation criteria
1	Уровень 1 Level 1	Острый тест на 1 виде (например, дафнии) + тест на подавление микрофлоры Acute test for 1 species (eg daphnia) + test for microflora suppression	LC_{50} / MEEC* < 1000
2	Уровень 2 Level 2	Острые тесты на 3 организмах: рыбах, водорослях, ракообразных Acute tests on 3 organisms: fish, algae, crustaceans	LC_{50} / MEEC* < 100
3	Уровень 3 Level 3	Хроническая токсичность + биоаккумуляция (при log K_{ow}** ≥ 3,5) Chronic toxicity + bioaccumulation (at log K_{ow}** ≥ 3.5)	LC_{50} / MEEC* < 10 или наличие сублетальных эффектов LC_{50} / MEEC* < 10 or the presence of sublethal effects

Примечание. * FDA определяет MEEC как наибольшую величину из EIC и EEC.

** Десятичный логарифм коэффициента распределения октанол/вода. Kow отражает, насколько вещество липофильно (жирорастворимое) по сравнению с его гидрофильностью (водорастворимостью). Вещества с log K_{ow} ≥ 3.5 потенциально биоаккумулируются в организмах (в жировой ткани), что может привести к долгосрочному воздействию на трофические сети.

Note. * The FDA defines the MEEC as the largest value of the EIC and EEC.

** Is the common logarithm of the octanol/water partition coefficient. Kow reflects how lipophilic (fat-soluble) a substance is compared to its hydrophilicity (water solubility). Substances with a log K_{ow} ≥ 3.5 are potentially bioaccumulated in organisms (in adipose tissue), which can lead to long-term effects on food chains.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Если риск воздействия оцениваемого активного вещества на окружающую среду признан значительным, FDA требует подготовки полного отчета об экологическом воздействии (Environmental Impact Statement, EIS), представляющего собой официальный детализированный документ, в котором оцениваются все возможные последствия предлагаемого действия (регистрации лекарственного препарата) для окружающей среды. Этот шаг обязателен, если EA не подтверждает возможность выдачи заключения об отсутствии значительного воздействия (Finding of No Significant Impact, FONSI).

В EIS необходимо включить подробное описание предполагаемого действия регулятора, компонентов окружающей среды, которые могут подвергнуться воздействию, всесторонний анализ всех разумных альтернатив (включая отказ от регистрации), а также прогноз воздействия каждой альтернативы на окружающую среду. FDA рекомендует использовать опубликованную литературу, если таковая имеется, вместо оригинальных лабораторных исследований. Как правило, для замены валидированного и хорошо контролируемого лабораторного исследования, проведенного в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики, необходимо предоставить несколько независимых литературных источников с адекватными методами, анализом и согласованными выводами [19].

Также должны быть представлены стратегии управления рисками, направленные на минимизацию выявленных угроз. Этот процесс выходит за рамки внутреннего рассмотрения FDA – он включает широкое участие общественности через официальные процедуры публикации. FDA обязано опубликовать уведомление о намерении (Notice of Intent, NOI) в федеральном реестре, тем самым информируя общественность и заинтересованные стороны о начале экологической экспертизы. Это гарантирует прозрачность процесса и способствует вовлечению граждан в принятие решений, что является важным принципом NEPA.

После подготовки проекта EIS он выносится на общественное обсуждение, которое, как правило, длится от 45 до 60 дней. В течение этого периода любые заинтересованные лица, организации или государственные структуры могут ознакомиться с документом и направить свои замечания. Это позволяет учесть широкий спектр мнений до принятия окончательного решения. После анализа всех поступивших комментариев FDA подготавливает окончательную версию EIS, в которой содержится ответ на все значимые замечания и при необходимости вносятся уточнения в первоначальный проект. Окончательная версия становится основой для принятия регуляторного решения относительно возможности одобрения препарата.

По завершении работы над итоговым документом FDA издает запись о принятом решении (Record of Decision, ROD) – документ, отражающий итоговое решение агентства. В этом документе разъясняется принятое решение, указывается его обоснование, а также перечисляются все обязательные меры по смягчению воздействия на окружающую среду или условия, при которых будет выдано разрешение на реализацию препарата. К таким мерам могут относиться специальные рекомендации по утилизации, производственные ограничения, запреты на применение препарата в экологически уязвимых районах или обязательства по мониторингу воздействия после выхода продукта на рынок. ROD не только завершает административную процедуру, но и закрепляет юридические обязательства заявителя по соблюдению экологических требований.

Если после регистрации препарата появляются новые экологические данные или изменяются масштабы его применения, FDA вправе потребовать проведения дополнительной экологической оценки или пересмотра уже утвержденных мер управления рисками [20]. Такой подход отражает концепцию экологического надзора на протяжении всего жизненного цикла препарата, обеспечивая своевременное реагирование на потенциальные угрозы окружающей среде.

Россия и Евразийский экономический союз

В Российской Федерации регулирование фармацевтической отрасли осуществляется в соответствии с нормативными актами ЕАЭС, а также в соответствии с нормами национального права.

Порядок регистрации лекарственных средств в ЕАЭС установлен решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения». К регистрационному досье в форме общего технического документа (ОТД) нет требований о предоставлении формализованной оценки воздействия регистрируемого препарата на окружающую среду[1].

Правовое регулирование природоохранной деятельности, связанной с фармацевтическими рисками для окружающей среды, осуществляется в рамках норм промышленной экологической безопасности, управления отходами и защиты санитарного благополучия населения.

Согласно постановлению Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2020 г. № 2398 «Об утверждении критериев отнесения объектов, оказывающих негативное воздействие на окружающую

[1] Совет Евразийской экономической комиссии. О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения. Решение от 3 ноября 2016 г. № 78. Доступно по: https://docs.eaeunion.org/documents/306/2601/ Ссылка активна на 02.01.2026.

среду, к объектам I, II, III и IV категорий», к объектам II категории негативного воздействия на окружающую среду (НВОС), относится производство активных фармацевтических субстанций, может относиться производство радиофармацевтических препаратов, а также некоторых антибиотиков (относящихся к II классу опасности)[1]. Производство готовых форм лекарственных средств может относиться к III–IV категории НВОС, что сводит обязательства по охране окружающей среды к паспортизации отходов, представлению статистических форм отчетности по образованию отходов и использованию водных ресурсов, утилизации упаковки или, вместо того, уплате экологического сбора. Таким образом, действующее природоохранное законодательство не обязывает производителей оценивать экологические риски всего жизненного цикла продукции или непосредственно процесса производства.

Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» определяет, что в числе прочего «право на охрану здоровья обеспечивается охраной окружающей среды» (ст. 18, п. 2) [12]. Законом устанавливается понятие медицинских отходов, к которым относятся и отходы фармацевтической деятельности:

1) класс «А» – эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам;
2) класс «Б» – эпидемиологически опасные отходы;
3) класс «В» – чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы;
4) класс «Г» – токсикологические опасные отходы, приближенные по составу к промышленным;
5) класс «Д» – радиоактивные отходы.

Такие отходы подлежат сбору, использованию, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в порядке, установленном законодательством в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Разрабатываемый проект постановления Правительства Российской Федерации «О порядке учета медицинских отходов, включая состав сведений, подлежащих передаче в федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий федеральный государственный санитарно-эпидемиологический контроль (надзор), и порядке информационного взаимодействия при передаче данных сведений» обяжет предприятия, где медицинские отходы образуются (в том числе фармацевтические производства, предприятия фармацевтической дистрибьюции и лаборатории), вести учет сведений по каждому классу об объемах их образования, накопления, обезвреживания, передачи на утилизацию или захоронение в специализированные организации и отчитываться перед Роспотребнадзором по статистической форме № 2 –Медотходы «Сведения об обращении с медицинскими отходами»[2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка экологических рисков, связанных с лекарственными средствами, является важным инструментом для минимизации негативного воздействия на окружающую среду и обеспечения устойчивого развития отрасли. Несмотря на то, что действующее природоохранное законодательство в России не обязывает производителей лекарственных средств проводить комплексную оценку экологических рисков на всех этапах жизненного цикла продукции, целесообразным является применение разработанных EMA и FDA подходов, включая двухэтапную схему (первичный скрининг и детальная оценка), что позволит выявлять потенциальные угрозы для экосистем и разрабатывать меры по их минимизации. Важным аспектом является также пострегистрационный мониторинг окружающей среды для контроля за наличием лекарственных средств с высокой степенью экологического риска.

Европейская модель требует серьезных научно-методических и институциональных ресурсов, межведомственного взаимодействия, высокоточного мониторинга и профессиональной экспертизы, что может затруднить ее немедленное применение в условиях действующей правовой и инфраструктурной базы. Американская модель, с ее механизмом категорических исключений и выборочной оценки, представляется более адаптируемой в текущих российских условиях: она позволяет выстраивать систему экологической оценки поэтапно, постепенно расширяя сферу охвата и углубляя методики.

Таким образом, комплексный подход к оценке и управлению экологическими рисками в фармацевтической промышленности может не только способствовать сохранению окружающей среды, но и внести вклад в обеспечение долгосрочной устойчивости отрасли.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sheldon R. A. E factors, green chemistry and catalysis: an odyssey. *Chemical Communications*. 2008;44(29):3352–3365. https://doi.org/10.1039/b803584a
2. Vestel J., Caldwell D.J., Tell J., Constantine L., Häner A., Hellstern J., Journel R., Ryan J. J., Swenson T., Xei W. Default predicted no-effect target concentrations for antibiotics in the absence of data for the protection against antibiotic resistance and environmental toxicity. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2022;18(4):863–867. https://doi.org/10.1002/ieam.4560

[1] Постановление Правительства РФ. Об утверждении критериев отнесения объектов, оказывающих негативное воздействие на окружающую среду, к объектам I, II, III и IV категорий. Постановление от 31 декабря 2020 г. № 2398. Доступно по: http://government.ru/docs/all/132200/ Ссылка активна на 02.01.2026.

[2] Проект постановления Правительства РФ «О порядке учета медицинских отходов, включая состав сведений, подлежащих передаче в федеральный орган исполнительной власти, осуществляющий федеральный государственный санитарно-эпидемиологический контроль (надзор) и порядке информационного взаимодействия при передаче данных сведений». Доступно по: https://regulation.gov.ru/projects/154926/ Ссылка активна на 02.01.2026.

3. Hayes A., Murray L. M., Stanton I. C., Zhang L., Snape J., Gaze W. H., Murray A. K. Predicting selection for antimicrobial resistance in UK wastewater and aquatic environments: Ciprofloxacin poses a significant risk. *Environment International*. 2022;169:107488. https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107488
4. Wilkinson J. L., Boxall A. B. A., Kolpin D. W., Leung K. M. Y., Lai R. W. S., Galbán-Malagón C., Adell A. D., Mondon J., Metian M., Marchant R. A., Bouzas-Monroy A., Cuni-Sanchez A., Coors A., Carriquiriborde P., Rojo M., Gordon C., Cara M., Moermond M., Luarte T., Petrosyan V., Perikhanyan Y., Mahon C. S., McGurk C. J., Hofmann T., Kormoker T., Iniguez V., Guzman-Otazo J., Tavares J. L., Gildasio De Figueiredo F., Razzolini M. T. P., Dougnon V., Gbaguidi G., Traoré O., Blais J. M., Kimpe L. E., Wong M., Wong D., Ntchantcho R., Pizarro J., Ying G.-G., Chen C.-E., Páez M., Martínez-Lara J., Otamonga J.-P., Poté J., Ifo S. A, Wilson P., Echeverría-Sáenz S., Udikovic-Kolic N., Milakovic M., Fatta-Kassinos D., Ioannou-Ttofa L., Belušová V., Vymazal J., Cárdenas-Bustamante M., Kassa B. A., Garric J., Chaumot A., Gibba P., Kunchulia I., Seidensticker S., Lyberatos G., Halldórsson H. P., Melling M., Shashidhar T., Lamba M., Nastiti A., Supriatin A., Pourang N., Abedini A., Abdullah O., Gharbia S. S., Pilla F., Chefetz B., Topaz T., Yao K. M., Aubakirova B., Beisenova R., Olaka L., Mulu J. K., Chatanga P., Ntuli V., Blama N. T., Sherif S., Aris A. Z., Looi L. J., Niang M., Traore S. T., Oldenkamp R., Ogunbanwo O., Ashfaq M., Iqbal M., Abdeen Z., O'Dea A., Morales-Saldaña J. M., Custodio M., de la Cruz H., Navarrete I., Carvalho F., Gogra A. B., Koroma B. M., Cerkvenik-Flajs V., Gombač M., Thwala M., Choi K., Kang H., Ladu J. L. C, Rico A., Amerasinghe P., Sobek A., Horlitz G., Zenker A. K., King A. C., Jiang J.-J., Kariuki R., Tumbo M., Tezel U., Onay T. T., Lejju J. B., Vystavna Y., Vergeles Y., Heinzen H., Pérez-Parada A., Sims D. B., Figy M., Good D., Teta C. Pharmaceutical pollution of the world's rivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022;119(8):e2113947119. https://doi.org/10.1073/pnas.2113947119
5. Hoang A. T. P., Do M. C., Kim K.-W. Environmental risk assessment of selected pharmaceuticals in hospital wastewater in northern Vietnam. *Chemosphere*. 2024;356:141973. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141973
6. Rapp-Wright H., Regan F., White B., Barron L. P. A year-long study of the occurrence and risk of over 140 contaminants of emerging concern in wastewater influent, effluent and receiving waters in the Republic of Ireland. *Science of the Total Environment*. 2023;860:160379. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160379
7. Riikonen S., Timonen J., Sikanen T. Environmental considerations along the life cycle of pharmaceuticals: Interview study on views regarding environmental challenges, concerns, strategies, and prospects within the pharmaceutical industry. *European Journal of Pharmaceutical Science*. 2024;196:106743. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106743
8. Moermond C. T. A., Puhlmann N., Brown A. R., Owen S. F., Ryan J., Snape J., Venhuis B. J., Kümmerer K. GREENER Pharmaceuticals for More Sustainable Healthcare. *Environmental Science & Technology Letters*. 2022;9(9):699–705. https://doi.org/10.1021/acs.estlett.2c00446
9. Calderia C. Abbate E. Moretti Chr. Mancini L. Sala S. Safe and sustainable chemicals and materials: a review of sustainability assessment frameworks. *Green Chemistry*. 2024;26(13):7456–7477. https://doi.org/10.1039/D3GC04598F
10. Leso V., Rydberg T., Halling M., Karakitsios S., Nikiforou F., Karakoltzidis A., Sarigiannis D. A., Iavicoli I. Safety and sustainability by design: An explorative survey on concepts' knowledge and application. *Environmental Science & Policy*. 2024;162:103909. https://doi.org/10.1016/j.envsci.2024.103909
11. Fumagalli D. Environmental risk and market approval for human pharmaceuticals. *Monash Bioethics Review*. 2024;42(1);105–124. https://doi.org/10.1007/s40592-024-00195-1
12. Gildemeister D., Moermond C. T. A., Berg C., Bergstrom U., Bielská L., Evandri M. G., Franceschin M., Kolar B., Montforts M. H. M. M., Vaculik C. Improving the regulatory environmental risk assessment of human pharmaceuticals: Required changes in the new legislation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2023;142:105437. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2023.105437
13. Harrison S., Barnett C., Short S., Uluseker C., Silva P. V., Pavlaki M. D., Roberts S., Vieira M., Lofts S., Loureiro S., Spurgeon D. J. Continuous improvement towards environmental protection for pharmaceuticals: advancing a strategy for Europe. *Environmental Sciences Europe*. 2025;37(1):128. https://doi.org/10.1186/s12302-025-01180-z
14. Zinken J. F., Pasmooij A. M. G., Ederveen A. G. H., Hoekman J., Bloem L. T. Environmental risk assessment in the EU regulation of medicines for human use: an analysis of stakeholder perspectives on its current and future role. *Drug Discovery Today*. 2024;29(12):104213. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2024.104213
15. Oldenkamp R., Hamers T., Wilkinson J., Slootweg J., Posthuma L. Regulatory Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Environment: Current Practice and Future Priorities. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2024;43(3):611–622. https://doi.org/10.1002/etc.5535
16. Ahkola H., Äystö L., Sikanen T., Riikonen S., Pihlaja T., Kauppi S. Current uncertainties and challenges of publicly available pharmaceutical environmental risk assessment data. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024;197:106769. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106769
17. Welch S. A., Grung M., Madsen A. L., Moe S. J. Development of a probabilistic risk model for pharmaceuticals in the environment under population and wastewater treatment scenarios. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2024;20(5):1715–1735. https://doi.org/10.1002/ieam.4939
18. Cannata C., Backhaus T., Bramke I., Caraman M., Lombardo A., Whomsley R., Moermond C. T. A., Ragas A. M. J. Prioritisation of data-poor pharmaceuticals for empirical testing and environmental risk assessment. *Environment International*. 2024;183:108379. https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108379
19. Ceger P., Garcia-Reyero Vinas N., Allen D., Arnold E., Bloom R., Brennan J. C., Clarke C., Eisenreich K., Fay K., Hamm J., Henry P. F. P., Horak K., Hunter W., Judkins D., Klein P., Kleinstreuer N., Koehrn K., LaLone C. A., Laurenson J. P., Leet J. K., Lowit A., Lynn S. G., Norberg-King T., Perkins E. J., Petersen E. J., Rattner B. A., Sprankle C. S., Steeger T., Warren J. E., Winfield S., Odenkirchen E. Current ecotoxicity testing needs among selected U.S. federal agencies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2022;133:105195. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105195
20. Van Wilder L., Boone L., Ragas A., Moermond C., Pieters L., Rechlin A., Vidaurre R., De Smedt D., Dewulf J. A holistic framework for integrated sustainability assessment of pharmaceuticals. *Journal of Cleaner Production*. 2024;467:142978. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.142978

pharmtech & ingredients®

24/27.11.2026
Москва, Крокус Экспо

28-я Международная выставка оборудования, сырья и технологий для фармацевтического производства

0+

Получите бесплатный билет по промокоду:

pharmjournal

ITE® ОРГАНИЗАТОР ORGANISER

Материалы конференций / Conference Proceedings

Материалы научно-практической конференции с международным участием «II Молодежная лига Разработки и регистрации лекарственных средств, или Новые горизонты фармацевтической науки и практики»

✉ **Контактное лицо:** Комаров Тимофей Николаевич. **E-mail:** t.komarov@cpha.ru

Резюме

17 февраля в Москве состоялся ежегодный международный конгресс «Разработка и регистрация лекарственных средств», проводимый одноименным научно-практическим журналом, Центром Фармацевтической Аналитики и Санкт-Петербургским химико-фармацевтическим университетом в качестве соорганизатора.

С 2025 года в рамках конгресса проходит специализированная секция для молодых специалистов фармацевтической науки и практики «Молодежная лига Разработки и регистрации лекарственных средств». В этом году Молодежная лига состоялась во второй раз, но уже получила статус международной, и объединила молодых ученых из стран ЕАЭС: Российской Федерации, Республики Беларусь и Республики Казахстан. Основной целью Молодежной лиги является предоставление возможности молодым ученым выступить на одном из крупнейших мероприятий фармацевтической отрасли наравне с ведущими научно-практическими специалистами, представителями крупнейших предприятий, вузов, регуляторных органов. Молодежная лига является одним из главных форматов поддержки Центром Фармацевтической Аналитики молодых ученых, выполняющих исследования в области фармацевтической химии, разработки лекарственных средств, доклинических и клинических исследований и многих других направлений, являющихся основными научными направлениями публикаций журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», ключевыми авторами которых во многом и являются молодые ученые.

За главный приз, которым уже по традиции стал сертификат на публикацию статьи в нашем журнале, в этом году боролись представители Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета, Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова, Воронежского государственного университета, Рязанского государственного медицинского университета им. И. П. Павлова, Пермской государственной фармацевтической академии, Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Белорусского государственного медицинского университета (г. Минск), Южно-Казахстанской медицинской академии (г. Шымкент), а также Центра Фармацевтической Аналитики. Профессиональная команда экспертов по достоинству оценила работы участников, и в упорной борьбе призовые места распределились следующим образом:

Победитель: Гришина Анна Юрьевна (СПХФУ, г. Санкт-Петербург, научный руководитель к. б. н. Д. Ю. Ивкин).

Серебряный призер: Терлецкая Виктория Анатольевна (БГМУ, г. Минск, научный руководитель к. ф. н. Р. И. Лукашов).

Бронзовый призер: Яцковская Юлия Дмитриевна (ЦФА, г. Москва, научный руководитель д. ф. н. Т. Н. Комаров).

Также коллективом ЦФА специальным призом в виде сертификата на стажировку в компании были отмечены Ефремова Ульяна Андреевна (СПХФУ, г. Санкт-Петербург) и Карабаева Айнур Нысанбековна (ЮКМА, г. Шымкент).

Счастная Анна Витальевна (БГМУ) решением редакционной коллегии получила спецприз от журнала «Гербариум».

Ну а главной наградой для нас, организаторов, стали увлекательные доклады участников, живая дискуссия, горящие глаза и прекрасная атмосфера мероприятия. Ждем вас на третьей «Молодежной лиге Разработки и регистрации лекарственных средств» в 2027 году!

В этом году помимо очных выступлений в рамках мероприятия предусмотрена также публикация тезисов в рамках отдельного раздела нашего журнала, с которыми вы можете ознакомиться далее.

Proceedings of the scientific and practical conference with international participation "II Youth League of Drug Development and Registration, or New Horizons of Pharmaceutical Science and Practice"

✉ **Corresponding author:** Timofey N. Komarov. **E-mail:** t.komarov@cpha.ru

Abstract

On February 17, the annual international congress "Drug Development and Registration" was held in Moscow, organized by the scientific-practical journal of the same name, the Center of Pharmaceutical Analytics, and the Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University as co-organizer.

Since 2025, a specialized section for young specialists in pharmaceutical science and practice – the "Youth League of Drug Development and Registration" – has been held within the congress. This year the Youth League took place for the second time, but already gained international status and brought together young scientists from the EAEU countries: the Russian Federation, the Republic of Belarus, and the Republic of Kazakhstan. The main goal of the Youth League is to provide young scientists with an opportunity to present at one of the largest events in the pharmaceutical industry alongside leading scientific and practical specialists, representatives of major enterprises, universities, and regulatory authorities. The Youth League is one of the main formats of support provided by the Center of Pharmaceutical Analytics to young scientists conducting

research in pharmaceutical chemistry, drug development, preclinical and clinical studies, and many other areas that are the main scientific directions of publications in the journal "Drug Development and Registration", which publishes many articles by young scientists.

The main prize, which by tradition has become a certificate for publishing an article in our journal, was contested this year by representatives of the Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Voronezh State University, Ryazan State Medical University named after academician I. P. Pavlov, Perm State Pharmaceutical Academy, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Belarusian State Medical University (Minsk), South Kazakhstan Medical Academy (Shymkent), as well as the Center of Pharmaceutical Analytics. A professional team of experts duly evaluated the participants' works, and in tight competition, the prizes were distributed as follows:

Winner: Anna Yu. Grishina (SPCPU, St. Petersburg, scientific supervisor Cand. Biol. Sci. D. Yu. Ivkin).

Silver prize: Victoria A. Terletskaya (BSMU, Minsk, scientific supervisor Cand. Pharm. Sci. R. I. Lukashov).

Bronze prize: Yulia D. Yatskovskaya (CPhA, Moscow, scientific supervisor Dr. Pharm. Sci. T. N. Komarov).

Also, the CPhA team awarded a special prize in the form of a certificate for an internship at the company to Ulyana A. Efremova (SPCPU, St. Petersburg) and Ainur N. Karabaeva (SKMA, Shymkent).

Anna V. Schastnaya (BSMU) received a special prize from the journal "Herbarium" by decision of the editorial board.

The main reward for us, the organizers, was the fascinating reports of the participants, lively discussion, shining eyes and wonderful atmosphere of the event. We look forward to seeing you at the third "Youth League of Drug Development and Registration" in 2027!

This year, in addition to oral presentations, the event also included publication of abstracts in a separate section of our journal, which you can find below.

MICROBIAL BIOSURFACTANT PRODUCTION: OPTIMIZATION OF CULTIVATION PARAMETERS

A.A. Kanagat, K. A. Zhaparkulova, A. A. Turgumbayeva, A. A. Atakanova, S. M. Jumabayeva, A. B. Jumagaziyeva, K. T. Tastambek

Department of Biotechnology and General Chemical Technology of the School of Pharmacy at Non-profit joint-stock company "Asfendiyarov Kazakh National Medical University" (KazNMU). 94, Tole bi str., Almaty, Republic of Kazakhstan, 050000

ПОЛУЧЕНИЕ МИКРОБНЫХ БИОСУРФАКТАНТОВ: ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

А. А. Канагат, К. А. Жапаркулова, А. А. Тургумбаева, А. А. Атаканова, С. М. Жумабаева, А. Б. Жумагазиева, К. Т. Тастамбек

Кафедра биотехнологии и общей химической технологии Школы фармации Некоммерческого акционерного общества «Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова» (КазНМУ). 050000, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Толе би, 94

INTRODUCTION

Microbial biosurfactants constitute a diverse category of surface-active compounds synthesized by microorganisms. These agents are characterized by their profound ability to reduce both surface and interfacial tension, as well as their capacity to stabilize complex emulsion systems [1]. In recent years, these compounds have garnered substantial interest due to their versatile applications in biotechnology, clinical medicine, and the pharmaceutical industry [2,3]. Particular emphasis is placed on identifying microbial strains capable of producing biosurfactants with high biological activity. The efficiency of this biosynthetic process is primarily governed by the cultivation conditions, including the nutritional composition of the media and the specific parameters of the fermentation process [4].

Research Objective

The objective of the current study was to determine the optimal technological parameters for the cultivation of biosurfactant-producing microorganisms to enhance the synthesis and recovery of target metabolic products [5].

MATERIALS AND METHODS

Environmental samples collected from the West Kazakhstan and Atyrau regions served as the primary sources for microbial isolation. The sampling matrix included soil types, natural water bodies, and hydrocarbon-contaminated substrates. Following the methodology described in recent environmental studies, microbial isolation was conducted using the serial tenfold dilution technique. To prepare the initial suspension, 1 g of soil was homogenized in 100 mL of sterile solution, followed by serial dilutions to final concentrations of 10^{-6}–10^{-7}. Aliquots were inoculated onto solid nutrient media and incubated under optimal thermal conditions to isolate discrete colonies [2].

Identification and Characterization

The isolated microorganisms were identified based on morphological, cultural, and physiological-biochemical traits. Microscopic examination revealed Gram-positive, spore-forming bacilli. Taxonomic analysis assigned the strains to the species Bacillus subtilis, a well-documented producer of surface-active metabolites [6].

Fermentation Process

Biosurfactant production was achieved through submerged fermentation. Key technological variables were adjusted, including media composition, temperature, and aeration rates, as these factors significantly influence the critical micelle concentration and yield. Cultivation was carried out in Erlenmeyer flasks on an orbital shaker-incubator to ensure uniform oxygen distribution.

Recovery and Evaluation

Following fermentation, the culture broth was separated from the biomass via centrifugation. The presence of biosurfactants was evaluated by measuring surface tension reduction and emulsification indices (E24) with hydrophobic substrates, which are standard indicators of surfactant synthesis [7].

CONCLUSION

The established technological parameters ensure the efficient accumulation of biosurfactants. These findings provide a fundamental basis for scalable industrial production of microbial surfactants.

Funding. This research was funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP26197061).

REFERENCES

1. Al-Dhabi N. A., Esmail G. A., Arasu M. V. Enhanced Production of Biosurfactant from *Bacillus subtilis* Strain Al-Dhabi-130 under Solid-State Fermentation Using Date Molasses from Saudi Arabia for Bioremediation of Crude-Oil-Contaminated Soils. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(22):8446. https://doi.org/10.3390/ijerph17228446
2. Gomes A. M. V. Comparison of microorganisms as hosts for biosurfactant and recombinant protein production. *Microorganisms*. 2020;8(1):119.
3. Jimoh A. A., Lin J. Biotechnological applications of *Paenibacillus* sp. D9 lipopeptide biosurfactant produced in low-cost substrates. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2020;191:921–941. https://doi.org/10.1007/s12010-020-03246-5
4. Kalvandi S., Garousin H., Pourbabaee A. A., Alikhani H. A. Formulation of a Culture Medium to Optimize the Production of Lipopeptide Biosurfactant by a New Isolate of Bacillus sp.: A Soil Heavy Metal Mitigation Approach *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:785985. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.785985
5. Rittmann B. E., McCarty P. L. Environmental Biotechnology: Principles and Applications. 2nd Edition. New York: McGraw-Hill Education; 2020. 656 p.
6. Salek K., Euston S. R. Sustainable microbial biosurfactants and their applications in the food industry. *Current Opinion in Food Science*. 2021;41:14–21.
7. Zhou Y., Yang X., Li Q., Peng Z., Li J., Zhang J. Optimization of fermentation conditions for surfactin production by *B. subtilis* YPS-32. *BMC Microbiology*. 2023;23(1):117. https://doi.org/10.1186/s12866-023-02838-5

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ И ФИТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКОГО РЕГИОНА В РАМКАХ РАЗРАБОТКИ ПРОИЗВОДСТВА ПОЛНОГО ЦИКЛА РАСТИТЕЛЬНЫХ СУБСТАНЦИЙ

Т. С. Бекежанова, К. А. Жапаркулова, А. А. Караубаева, З. Б. Сакипова, А. Ахан

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова» (КазНМУ им. С. Д. Асфендиярова), 050000, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Толе би, д. 94

PHARMACOGNOSTIC AND PHYTOCHEMICAL EVALUATION OF MEDICINAL PLANTS OF THE SOUTH KAZAKHSTAN REGION IN THE FRAMEWORK OF FULL-CYCLE PLANT SUBSTANCES PRODUCTION DEVELOPMENT

T. S. Bekezhanova, K. A. Zhaparkulova, A. A. Karaubayeva, Z. B. Sakipova, A. Akhan

Asfendiyarov Kazakh National Medical University (KazNMU), 94, Tole bi str., Almaty, Republic of Kazakhstan, 050000

Современная фармацевтическая технология сталкивается с фундаментальной задачей разработки производств полного цикла растительных субстанций, что требует использования качественного, стандартизированного и всесторонне изученного сырья. Флора Южно-Казахстанского региона обладает значительным ресурсным потенциалом и представляет особый интерес благодаря высокому разнообразию видов, способных служить источниками ценных биологически активных веществ (БАВ). Целью настоящего исследования явилось комплексное фармакогностическое и фитохимическое изучение лекарственных растений Южно-Казахстанского региона для последующего обоснования их использования в производстве фармацевтических субстанций.

Объектами исследования послужили 66 видов растений, произрастающих на территории Южно-Казахстанского региона, включая такие перспективные виды, как спаржа пренебреженная (*Asparagus*

neglectus), клен Семенова (*Acer semenovii*), ферула изменчивая (*Ferula varia*), каперсы колючие (*Capparis spinosa*), герань холмовая (*Geranium collinum*) и ряд других.

Макроскопический и микроскопический анализ проводился в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстан (ГФ РК) «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья» [1]. Определение основных товароведческих показателей (потеря в массе при высушивании, зола общая, зола, нерастворимая в 10%-м растворе хлористоводородной кислоты, а также органическая и минеральная примеси) проводилось по стандартным фармакопейным методикам.

Качественный фитохимический анализ различных групп БАВ осуществляли с использованием серии цветных и осадочных реакций, а также методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Метаболомный профиль липофильных фракций (экстракция хлороформом) изучали методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). Анализ метаболитов экстрактов проводился методом ВЭЖХ-УФ.

В ходе макро- и микроскопического скрининга были достоверно установлены анатомо-диагностические признаки для каждого изученного вида. Выявленные критерии подлинности необходимы для создания нормативной документации на этапе входящего контроля сырья для производств полного цикла.

Фитохимический скрининг продемонстрировал широкое разнообразие вторичных метаболитов. У большинства изученных видов надежно идентифицированы флавоноиды (положительная цианидиновая проба и реакция с хлоридом алюминия), дубильные вещества гидролизуемой и конденсированной групп, а также кумарины и полисахариды. В корнях ферулы изменчивой зафиксировано наличие сапонинов и специфическое свечение в УФ-свете при 365 нм, подтверждающее наличие кумаринов. Методом ТСХ в экстрактах идентифицированы маркерные биологически активные соединения, такие как рутин, кверцетин, лютеолин, гиперозид и кофейная кислота.

ГХ-МС-профилирование липофильных фракций позволило определить обширный спектр фармакологически ценных соединений. Практически во всех образцах выявлено значительное содержание сквалена, витамина Е, фитола, полиненасыщенных жирных кислот (линолевой и линоленовой), а также различных биологически активных терпеноидов, включая лупеол, амирин и алантолактон. Метод ВЭЖХ позволил качественно охарактеризовать фенольные комплексы, подтвердив высокую концентрацию флавоноидных агликонов и их гликозидов, что имеет решающее значение при разработке технологических схем экстракции.

Оценка товароведческих показателей сырья показала, что потеря в массе при высушивании изученных видов находится в пределах 2,90–8,62 %, показатель общей золы варьирует от 5,41 до 10,82 %, а уровень минеральной примеси не превышает 1,45 %. Полученные числовые значения подтверждают высокое качество заготовленного растительного материала и его соответствие базовым фармакопейным требованиям.

Комплексная фармакогностическая и фитохимическая оценка флоры Южно-Казахстанского региона доказывает ее высокий потенциал в качестве надежной сырьевой базы. Установленные морфолого-анатомические критерии подлинности, детальный метаболомный профиль (с высоким содержанием флавоноидов, кумаринов, терпеноидов и витамина Е) и стандартизированные товароведческие нормы формируют устойчивый фундамент для алгоритмизации переработки данного сырья. Дальнейшее масштабирование процессов экстракции из изученных видов экономически и технологически целесообразно для обеспечения отечественного фармацевтического производства полного цикла высококачественными растительными субстанциями.

Финансирование. Данное исследование финансировалось Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № AP23487559).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Государственная Фармакопея Республики Казахстан. Т. 1. Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы»; 2008. 592 с. [State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan. Vol. 1. Almaty: Publishing House "Zhibek Zholy"; 2008. 592 p.]

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЦЕЛЕВЫХ ЭФФЕКТОВ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: СТРАТЕГИЯ ВЫЯВЛЕНИЯ И МИНИМИЗАЦИЯ РИСКОВ

А. А. Берчатова, Г. Н. Енгалычева, Н. Д. Бунятян

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

PRECLINICAL STUDIES OF OFF-TARGET EFFECTS OF GENE THERAPY DRUGS: A STRATEGY FOR IDENTIFYING AND MINIMIZING RISKS

A. A. Berchatova, G. N. Engalycheva, N. D. Bunyatyan

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

Современные достижения в области генной терапии диктуют новые тенденции к проведению доклинических исследований (ДКИ) генотерапевтических лекарственных препаратов (ГТЛП). Рост числа терапевтических платформ ГТЛП способствует возникновению уникальных проблем безопасности, центральное место среди которых занимают нецелевые эффекты и интерпретация их биологической значимости [1]. Стратегии минимизации нецелевых эффектов ориентируются на рационализацию дизайна конструкции ГТЛП, повышение точности доставки и применение высокочувствительных методов обнаружения нарушений [2, 3]. При этом существенное значение имеет выбор релевантных моделей *in vivo*, позволяющих оценить тканеспецифичность распределения, длительность экспрессии и иммуногенность препарата, что особенно важно для прогнозирования отдаленных эффектов.

Для успешного выявления нецелевых эффектов на стадии доклинической разработки ГТЛП необходимо рациональное планирование дизайна ДКИ. Анализ зарубежной нормативной документации показал, что требования FDA и EMA к проведению ДКИ ГТЛП сводятся к комплексной оценке профиля безопасности, включающего комбинированное использование моделей *in vitro* и *in vivo*, адаптированных к конкретной платформе доставки и механизму их действия[1, 2]. В ЕАЭС отсутствуют нормативно-методические документы, посвященные генной терапии, в связи с этим нами предложена унифицированная методологическая стратегия доклинической оценки нецелевых эффектов ГТЛП, направленная на гармонизацию нормативной базы ЕАЭС с регуляторной системой ICH и обеспечение прогнозируемости потенциальных рисков применения данной группы препаратов.

Разработанный подход доклинической оценки нецелевых эффектов позволит стандартизировать требования к ДКИ ГТЛП, что будет способствовать повышению объективности экспертизы, а также позволит производителям оптимизировать программу ДКИ, сократив число избыточных экспериментов и снизив вероятность выявления критических рисков на поздних стадиях разработки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Aussel C., Cathomen T., Fuster-García C. The hidden risks of CRISPR/Cas: structural variations and genome integrity. *Nature Communications*. 2025;16(1):7208. https://doi.org/10.1038/s41467-025-62606-z
2. Chauhan V. P., Sharp P. A., Langer R. Engineered prime editors with minimal genomic errors. *Nature*. 2025;646(8087):1254–1260. https://doi.org/10.1038/s41586-025-09537-3
3. Kim Y., Kim H., Kim E. H., Jang H., Jang Y., Chi S.-G., Yang Y., Kim S. H. The Potential of Cell-Penetrating Peptides for mRNA Delivery to Cancer Cells. *Pharmaceutics*. 2022;14(6):1271. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061271

[1] Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-and-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products_en.pdf Accessed: 13.07.2018.

[2] Preclinical assessment of investigational cellular and gene therapy products. Guidance for industry. Available at: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/preclinical-assessment-investigational-cellular-and-gene-therapy-products Accessed: 13.07.2018.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТВЕРДЫХ ДИСПЕРСИЙ ХЛОРНИТРОФЕНОЛА

М. Г. Бородулина, А. А. Головина, А. С. Беленова, Ю. А. Полковникова, А. И. Сливкин, С. И. Васильева, О. В. Пугачева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

STUDY OF SOLID CHLORONITROPHENOL DISPERSIONS

M. G. Borodulina, A. A. Golovina, A. S. Belenova, Yu. A. Polkovnikova, A. I. Slivkin, S. I. Vasilyeva, O. V. Pugacheva

Voronezh State University (VSU). 1, Universitetskaya ploshchad', Voronezh, 394018, Russia

Сегодня актуальным решением проблемы низкой растворимости многих лекарственных веществ в водной среде становится применение инновационных подходов, среди которых выделяются формирование соединений в виде солей, использование солюбилизаторов и сорастворителей, измельчение частиц исходного вещества либо создание твердых дисперсий (ТД). Именно метод приготовления твердых дисперсий, предложенный Чиу и Ригельманом, стал распространенным инструментом фармации благодаря своей способности улучшать растворимость и биологическую доступность труднорастворимых веществ. Среди полимерных компонентов, активно применяемых в качестве водорастворимого носителя, особое место занимает поливинилпирролидон (ПВП), наиболее распространенный полимерный носитель, используемый для улучшения растворимости в ТД [1, 2, 3].

Получены ТД хлорнитрофенола (ХНФ) с ПВП в соотношении 1 : 10.

Исследования показали, что твердые дисперсии ХНФ демонстрируют характерные оптические свойства, проявляющиеся в появлении эффекта Тиндаля – Фарадея. Растворы ТД отличаются опалесценцией, свидетельствующей о наличии устойчивых коллоидных систем, тогда как физические смеси ХНФ и ПВП подобным эффектом не обладают. Это позволяет сделать вывод о формировании устойчивого коллоидно-

го состояния лекарственного соединения в составе твердой дисперсии.

Микроструктурный анализ методом растровой электронной микроскопии выявил различия морфологии отдельных компонентов системы: частицы ХНФ имеют форму мелких кристаллов, объединенных в группы однородных размеров с четкими гранями, ПВП же представлен структурами в виде неравномерно распределенных везикул. Образцы твердой дисперсии характеризуются отсутствием выраженной кристалличности, что свидетельствует о возможном изменении агрегатного состояния ХНФ в присутствии ПВП.

Согласно данным И. И. Краснюка [4], при образовании твердых дисперсий химическое соединение может частично утрачивать кристаллическое состояние, образуя частично твердый раствор или высокодисперсную фазу аморфного типа. Данный феномен нашел отражение и на рентгенограммах ТД ХНФ. Основываясь на данных рентгенограмм ТД с ПВП, можно также предложить изменение кристаллической структуры по типу твердых растворов.

Метод ИК-спектроскопии также использовался для подтверждения результатов исследований. Установлено общее снижение интенсивности поглощения полос хлорнитрофенола в ТД, что объясняется наличием взаимодействий полимера с молекулами активного компонента, способствующих снижению интенсивности соответствующих сигналов без формирования новых ковалентных связей.

Таким образом, изучено влияние образования ТД на процесс растворения хлорнитрофенола. Комплексное исследование позволило более точно объяснить повышение растворимости и скорости растворения фармацевтической субстанции из ТД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ben Osman Y., Liavitskaya T., Vyazovkin S. Polyvinylpyrrolidone affects thermal stability of drugs in solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018;551(1–2):111–120. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.09.020
2. Полковникова Ю. А., Белал М., Сливкин А. И. Моделирование процесса высвобождения дезлоратадина из сплавов с поливинилпирролидоном методом молекулярной динамики. *Конденсированные среды и межфазные границы*. 2024;26(3):496–503. https://doi.org/10.17308/kcmf.2024.26/12225
3. Полковникова Ю. А. Высвобождение винпоцетина из твердых дисперсий с поливинилпирролидоном. *Биофармацевтический журнал*. 2021;13(4):3–6. https://doi.org/10.30906/2073-8099-2021-13-4-3-6
4. Краснюк И. И. Повышение биодоступности лекарственных форм с применением твердых дисперсий. М.: Московская медицинская академия; 2010. 373 с.

REFERENCES

1. Ben Osman Y., Liavitskaya T., Vyazovkin S. Polyvinylpyrrolidone affects thermal stability of drugs in solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018;551(1–2):111–120. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.09.020
2. Polkovnikova Yu. A., Belal M., Slivkin A. I. A molecular dynamics simulation of the release of desloratadine from alloys containing polyvinylpyrrolidone. *Condensed Matter and Interphases*. 2024;26(3):496–503. (In Russ.) https://doi.org/10.17308/kcmf.2024.26/12225
3. Polkovnikova Yu. A. Study of the release of vinpocetine from solid dispersions with polyvinylpyrrolidone. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2021;13(4):3–6. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/2073-8099-2021-13-4-3-6
4. Krasnyuk I. I. Enhancing the bioavailability of dosage forms using solid dispersions. Moscow: Moskovskaya meditsinskaya akademiya; 2010. 298 p. (In Russ.)

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ СТАНДАРТИЗИРОВАННЫХ ПО КОЛИЧЕСТВУ ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ КЛЕТОК ТЕСТ-ШТАММОВ «ЛИОШТАММ» НА ПРИМЕРЕ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 6538

А. А. Воропаев, И. А. Буйлова, Р. М. Валюхова, Н. Д. Бунятян

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

EVALUATION OF THE STABILITY OF «LYOSHTAMM» TEST STRAINS STANDARDIZED BY THE NUMBER OF VIABLE CELLS USING *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 6538 AS AN EXAMPLE

A. A. Voropaev, I. A. Builova, R. M. Valiukhova, N. D. Buniattan

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

Стандартизированные по количеству жизнеспособных клеток лиофилизированные тест-штаммы «ЛИОШТАММ» представляют собой эталонный микробиологический материал, предназначенный для проверки ростовых свойств питательных сред, валидации микробиологических методик и обеспечения внутрилабораторной воспроизводимости [1–3]. Одним из ключевых требований к тест-штаммам является стабильность жизнеспособных клеток при хранении и транспортировке. Целью исследования являлась оценка стабильности содержания жизнеспособных клеток тест-штамма «ЛИОШТАММ» *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 при различных температурах и определение срока его годности.

Были лиофилизированы три серии стандартизированных тест-штаммов «ЛИОШТАММ» *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 в концентрации 100–1000 КОЕ/мл,

которые разделили на три части и поместили на хранение при температуре минус 20 ± 5 °С, 4 ± 2 °С и при комнатной температуре 22 ± 3 °С. Установлено, что при температуре минус 20 ± 5 °С и 4 ± 2 °С у всех трех серий концентрация жизнеспособных клеток оставалась в пределах допустимых норм в течение 2,5 лет. При температуре 22 ± 5 °С две серии были стабильны в течение 4 месяцев, одна серия – в течение 10 месяцев.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствовали о том, что хранение тест-штамма *Staphylococcus aureus* при низких температурах демонстрирует сохранность жизнеспособных клеток в течение 2,5 лет, что гарантирует срок хранения при температуре от минус 15 °С до минус 25 °С и может быть рекомендовано как оптимальный режим для долговременного хранения тест-штаммов *Staphylococcus aureus*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кулешова С. И., Процак С. А., Лисунова С. А., Романюк Г. Ю. Стабильность готовых и приготовленных в лаборатории питательных сред. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(2):130–134. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-2-130-134
2. Буйлова И. А., Гунар О. В. Практические аспекты применения валидационных параметров на примере методик определения количественного содержания микроорганизмов в лекарственных препаратах. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(4):267–272. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-267-272
3. Воропаев А. А., Фадейкина О. В., Валюхова Р. М., Крысанова Ю. И., Давыдов Д. С., Овсиенко С. В. Сравнительная оценка контроля качества питательных сред с использованием лиофилизированных тест-штаммов «ЛИОШТАММ»: результаты межлабораторных испытаний. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(3):321–331. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-3-321-331

REFERENCES

1. Kuleshova S. I., Protsak S. A., Lisunova S. A., Romanyuk G. Yu. Stability of Ready-to-Use and Laboratory-Prepared Culture Media. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 2021;11(2):130–134. (In Russ.) https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-2-130-134
2. Buylova I. A., Gunar O. V. Validation Parameters as Applied to Methods for Quantification of Microorganisms in Medicinal Products. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(4):267–272. (In Russ.) https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-4-267-272
3. Voropaev A. A., Fadeikina O. V., Valyukhova R. M., Krysanova J. I., Davydov D. S., Ovsienko S. V. Comparative evaluation of nutrient media quality control using LYOSHTAMM lyophilised test strains: Results of interlaboratory trials. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(3):321–331. (In Russ.) https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-3-321-331

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ТРОМБОЛИТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ *IN VITRO*

Е. А. Герасимец[1], Н. Л. Шимановский[2], Н. Д. Бунятян[1]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2
[2] Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России). 117513, Россия, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

STUDY OF SPECIFIC ACTIVITY AND CYTOTOXICITY OF THROMBOLYTIC DRUGS *IN VITRO*

E. A. Gerasimets[1], N. L. Shimanovsky[2], N. D. Bunyatyan[1]

[1] Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, 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

Современная фармакология уделяет огромное внимание разработке доклинических моделей *in vitro* для оценки эффективности и безопасности лекарственных средств (ЛС), позволяющих выявлять неблагоприятные эффекты, повышать предсказуемость результатов и сокращать использование лабораторных животных. Такие методики обеспечивают оценку цито- и генотоксичности и специфических органных эффектов. Особое внимание в них уделяется моделированию кардиотоксичности, поскольку сердечно-сосудистые осложнения являются частой причиной отзыва препаратов [1]. Применение кардиомиоцитов, полученных путем дифференцированного использования индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (hiPSC-CM), позволяет воспроизвести функции сердечных клеток человека, недоступные в культурах клеток животных [2], что создает базис для разработки доклинических моделей, более адекватных клиническим условиям.

Тромболитические ЛС оказывают специфическое действие на фибринолиз, для исследования которого *in vitro* используют метод оценки тромболитической активности, основанный на создании искусст-

венного сгустка крови и последующем измерении его лизиса под действием ЛС [3].

В работе использованы свежие сгустки цельной крови, полученной у здоровых доноров. Активность стафилокиназы и препарата сравнения тенектеплазы определяли после инкубации сформированных в пробирках тромбов, взвешенных до и после обработки тромболитиком. Оценка количественного показателя – процент лизиса по массе – подтвердила наличие значимого фибринолитического эффекта *in vitro* и обеспечила обоснование эффективности тромболитика.

Выбранная методика обеспечивает количественную оценку специфической активности тромболитических средств *in vitro*. В сочетании с оптимальными условиями эксперимента и контролем безопасности на клеточных линиях она составит целостную доклиническую модель, приближающую нас к пониманию эффективности и безопасности тромболитика еще до этапа испытаний на животных и людях.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bonnard T., Law L. S., Tennant Z., Hagemeyer C. E. Development and validation of a high throughput whole blood thrombolysis plate assay. *Scientific Reports*. 2017;7(1):2346. https://doi.org/10.1038/s41598-017-02498-2
2. Цвелая В. А., Бережной А. К., Синицына А. П., Семидетнов И. С, Наумов В. Д., Слотвицкий М. М. Моделирование диагностических платформ с помощью совмещенных *in silico* методов и тканевой инженерии сердца. Тезисы конференции. Новосибирск: OpenBio-2024; 2024. С. 344–345. https://doi.org/10.25205/978-5-4437-1691-6-168 [Tsvelaya V. A., Berezhnoy A. K., Sinitsyna A. P., Semidetnov I. S., Naumov V. D., Slotvitsky M. M. Advanced cardiovascular toxicity screening: integrating human iPSC-derived cardiomyocytes with in silico models. Novosibirsk: OpenBio–2024; 2024. P. 344–345. (In Russ.) https://doi.org/10.25205/978-5-4437-1691-6-168]
3. Prasad S., Kashyap R. S., Deopujari J. Y., Purohit H. J., Taori G. M., Daginawala H. F. Development of an in vitro model to study clot lysis activity of thrombolytic drugs. *Thrombosis Journal*. 2006;4(1):14. https://doi.org/10.1186/1477-9560-4-14

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УНИВЕРСАЛЬНОГО НЕФРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ МАЛОНОВОЙ КИСЛОТЫ

А. Ю. Гришина

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

MOLECULAR MECHANISMS AND PATHOGENETIC ASPECTS OF THE UNIVERSAL NEPHROPROTECTIVE ACTION OF MALONIC ACID DERIVATIVES

A. Yu. Grishina

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

Поиск эффективных средств для коррекции острого и хронического повреждения почек остается актуальной задачей. Производные малоновой кислоты рассматриваются как потенциальные регуляторы митохондриального метаболизма. Целью исследования стало сравнительное изучение нефропротективной эффективности и молекулярных механизмов действия производных малоновой кислоты – этмабена и малобена – на экспериментальных моделях тепловой ишемии почки (ТИП) и односторонней обструкции мочеточника (ООМ).

Исследование выполнено на 85 аутбредных крысах-самцах. Модель ТИП воспроизводили 60-минутной окклюзией почечной артерии, модель ООМ – лигированием мочеточника. Этмабен (60 мг/кг/сут) и малобен (60 мг/кг/сут) вводили внутрижелудочно 30 сут. В сравнительных группах использовали этилметилгидроксипиридина сукцинат (50 мг/кг/сут, для ТИП) и рамиприл (3 мг/кг/сут, для ООМ и ТИП). Оценивали выживаемость, скорость клубочковой фильтрации (СКФ), биохимические показатели крови и мочи. Проводили гистологическое исследование почек. Методом ПЦР в реальном времени анализировали экспрессию генов, ассоциированных с гипоксией (HIF1A), оксидативным стрессом (Nox4, Gpx1) и метаболизмом (Glud1). Статистический анализ выполнялся с использованием критериев ANOVA и Краскела – Уоллиса, уровень значимости $p < 0,05$.

Этмабен продемонстрировал нефропротективный эффект. На функциональном уровне это проявлялось повышением выживаемости, значительным ростом скорости клубочковой фильтрации (более чем в 5 раз, $p < 0,01$) и снижением азотемии на модели тепловой ишемии почки, а также сохранением фильтрационной функции контралатерального органа при односторонней обструкции мочеточника. Параллельно отмечалось канальцепротективное действие, выражавшееся в нормализации фракционной экскреции натрия и уменьшении протеинурии. На морфологическом уровне эффект соответствовал минимальным дистрофическим изменениям канальцевого эпителия при отсутствии обширного некроза (модель ТИП) и сохранению гистоархитектоники без признаков интерстициального фиброза в интактной почке (модель ООМ). На молекулярном уровне терапия привела к достоверному подавлению гипоксического сигналинга (снижение HIF1A), модуляции провоспалительного оксидативного стресса (тенденция к

снижению Nox4) и метаболической перестройке (снижение Glud1), что выразилось в изменении профиля антиоксидантной защиты (снижение Gpx1). Эти сдвиги создали патогенетическую основу для наблюдаемого канальцепротективного эффекта.

Нефропротективное действие этмабена, подтвержденное повышением выживаемости и скорости клубочковой фильтрации, снижением уровней креатинина и мочевины при ишемии, а также сохранением гистоархитектоники интактной почки при обструкции, обусловлено комплексом молекулярных эффектов, включающих подавление гипоксического ответа через снижение экспрессии HIF1A, уменьшение провоспалительного оксидативного стресса и индукцию адаптивного метаболического репрограммирования.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭЛЕМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ЛИСТЬЕВ ПОДОРОЖНИКА БОЛЬШОГО (*PLANTAGO MAJOR* L.) И КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ (*URTICA DIOICA* L.), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

Н. А. Дьякова, А. И. Сливкин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

COMPARATIVE ELEMENTAL ANALYSIS OF THE LEAVES OF *PLANTAGO MAJOR* L. AND *URTICA DIOICA* L. GROWING IN THE VORONEZH REGION

N. A. Dyakova, A. I. Slivkin

Voronezh State University (VSU). 1, Universitetskaya ploshchad', Voronezh, 394018, Russia

Лекарственное растительное сырье (ЛРС) – востребованный ресурс для фармации и нутрициологии, но его качество напрямую зависит от экологической обстановки места произрастания. Центральное Черноземье, являясь важным агропромышленным регионом, подвержено комплексному антропогенному воздействию, что повышает риск загрязнения ЛРС токсичными элементами. Существует дефицит комплексных данных о макро- и микроэлементном составе лекарственной флоры региона, необходимых для оценки безопасности и эффективности сырья [1].

Цель исследования – проведение сравнительного анализа элементного состава листьев подорожника большого и крапивы двудомной, заготовленных в естественном экотопе Воронежской области, и оценка их способности к аккумуляции химических элементов.

Листья подорожника большого (*Plantago major* L.) и крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) заготавливали в фенофазу цветения на территории Воронежского биосферного заповедника. Также были отобраны пробы почвы верхнего горизонта (0–20 см) с места произрастания. Пробоподготовку выполняли с использованием системы микроволнового разложения после обработки смесью концентрированных азотной и плавиковой кислот. Определение микроэлементного состава выполняли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на ELAN-DRC [2].

В объектах исследования определено 59 элементов. Суммарное содержание учтенных элементов выше в листьях крапивы двудомной (77 мг/г) по сравнению с листьями подорожника большого (61,5 мг/г), что в значительной степени обусловлено экстремально высоким содержанием кремния (9,3 мг/г).

Макроэлементный состав демонстрирует схожую структуру для обоих видов ЛРС. В листьях крапивы макроэлементы составляют 86,87 % от общего минерального комплекса, в подорожнике – 94,50 %. Доминирующая роль принадлежит калию (более 26 мг/г) и кальцию (более 24 мг/г). Крапивы двудомной листья обладают значительно более высокой способностью к аккумуляции фосфора и магния.

Эссенциальные микроэлементы составляют 12,68 % минерального комплекса крапивы и 2,94 % комплекса подорожника. Крапивы двудомной листья эффективно аккумулируют из почвы молибден, медь, марганец, кремний и цинк. Подорожника большого листья проявляют селективность к другим элементам. Так, в подорожника большого листьях аккумулируется в 2 раза больше железа, в 10 раз больше алюминия, что может быть признаком толерантности к этому потенциально токсичному элементу. Аккумуляция цинка и никеля сопоставима с крапивой.

Содержание нормируемых токсичных элементов в обоих видах ЛРС соответствует фармакопейным требованиям. Их совокупная доля в минеральном комплексе не превышает 0,001 %. Наибольшие коэффициенты биологического поглощения отмечены в крапивы двудомной листьях для ртути (1,25), в подорожника большого листьях – для кадмия (1,17).

Токсичные и малоизученные элементы составляют 0,45 % состава крапивы и 2,60 % состава подорожника. Подорожника большого листья накапливают сравнительно больше редкоземельных и рассеянных элементов (алюминий, титан, цирконий, уран, торий, все лантаноиды и др.), хотя их коэффициенты биологического поглощения низки (<0,1). Крапивы двудомной листья являются активным аккумулятором стронция и олова. Это является важным экотоксикологическим аспектом.

Полученные данные подтверждают безопасность исследуемых видов, заготовленных в экологически благополучных зонах, а также раскрывают потенциал каждого вида для целенаправленного использования в составе комплексных фитопрепаратов и БАД для коррекции элементного статуса человека.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Dyakova N. A. Features of accumulation of macro- and trace elements by medicinal plant raw materials of Voronezh region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;56(11):1471–1476. https://doi.org/10.1007/s11094-023-02816-1
2. Dyakova N. A. Features of extraction of rare-earth elements from medicinal plant raw materials into infusions and decoctions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023;57(5):688–693. https://doi.org/10.1007/s11094-023-02939-5

ИЗУЧЕНИЕ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ RPTEC

В. А. Евтеев, И. С. Семенова, Н. Д. Бунятян, А. Б. Прокофьев

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

STUDY OF THE NEPHROTOXICITY OF ANTIBACTERIAL DRUGS IN THE RPTEC CELL LINE

V. A. Evteev, I. S. Semenova, N. D. Bunyatyan, A. B. Prokofiev

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

Клеточные линии эпителия проксимальных почечных канальцев широко используются для изучения нефротоксических свойств лекарственных средств. Используемая клеточная линия RPTEC/TERT1 показывает максимальное соответствие с первичными человеческими RPTEC, что делает ее оптимальной для исследований нефротоксичности ксенобиотиков [1–3]. Измерение трансэпителиального сопротивления (TEER) является ценным неинвазивным методом для количественной оценки целостности эпителиального барьера и прогнозирования токсичности лекарственных средств [4]. **Целью исследования** являлось изучение динамики изменения трансэпителиального сопротивления на модели клеточной линии проксимальных почечных канальцев человека 1RPTEC/TERT1 (ATCC, код: CRL-4031) при инкубации с лекарственными средствами, обладающими нефротоксическим действием [5–7].

Клетки культивировали в 24-луночных планшетах Costar «Transwell» с мембранными вставками (диаметр пор – 0,4 мкм). Измерение TEER проводили на приборе ERS-2 один раз в сутки в течение 14 суток (кроме выходных дней). Изучали влияние следующих препаратов: цисплатина (2,5 мкг/мл), ванкомицина (50 мкг/мл), дорипенема (20 мкг/мл), цефепима (150 мкг/мл). Показатель TEER клеточной линии RPTEC достиг пороговых значений (280–320 Ом · см^2) примерно за 2 недели после посева.

Первые 3 суток инкубации со всеми препаратами отмечалось увеличение TEER. На 4-е сутки инкубации у всех лекарственных препаратов зафиксировано снижение TEER на 15–20 Ом·см^2. На 8-е сутки инкубации наблюдался рост TEER, вероятно связанный с выведением лекарственных препаратов из клеток. Цисплатин в концентрации 2,5 мкг/мл не оказывает нефротоксического эффекта на изучаемом клоне RPTEC. Ванкомицин понижает значение TEER в монослое RPTEC, однако за 6 суток инкубации оно не достигает критических значений, соответствующих токсическому действию. Цефепим и дорипенем в концентрациях, соответствующих среднетерапевтическим дозам препаратов, не проявляют нефротоксического эффекта.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wieser M., Stadler G., Jennings P., Streubel B., Pfaller W., Ambros P., Riedl C., Katinger H., Grillari J., Grillari-Voglauer R. hTERT alone immortalizes epithelial cells of renal proximal tubules without changing their functional characteristics. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2008;295(5):F1365–1375. https://doi.org/10.1152/ajprenal.90405.2008
2. Srinivasan B., Kolli A. R., Esch M. B., Abaci H. E., Shuler M. L., Hickman J. J. TEER Measurement Techniques for In Vitro Barrier Model Systems. *SLAS Technology*. 2015;20(2):107–126. https://doi.org/10.1177/2211068214561025
3. Aschauer L., Limonciel A., Wilmes A., Stanzel S., Kopp-Schneider A., Hewitt P., Lukas A., Leonard M. O., Pfaller W., Jennings P. Application of RPTEC/TERT1 cells for investigation of repeat dose nephrotoxicity: a transcriptomic study. *Toxicology in Vitro*. 2015;30(1):106–116. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.10.005
4. Secker P. F., Schlichenmaier N., Beilmann M., Deschl M., Dietrich D. R. Functional transepithelial transport measurements to detect nephrotoxicity in vitro using the RPTEC/TERT1 cell line. *Archives in Toxicology*. 2019;93:1965–1978. https://doi.org/10.1007/s00204-019-02469-8
5. Wilmer M. J., Ng C. P., Lanz H. L., Vulto P., Suter-Dick L., Masereeuw R. Kidney-on-a-Chip Technology for Drug-Induced Nephrotoxicity Screening. *Trends in Biotechnology*. 2016;34(2):156–170. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.11.001
6. Tiong H. Y., Huang P., Xiong S., Li Y., Vathsala A., Zink D. Drug-Induced Nephrotoxicity: Clinical Impact and Preclinical *in Vitro* Models. *Molecular Pharmaceutics*. 2014;11(7):1933–1948. https://doi.org/10.1021/mp400720w
7. Anderson J. M. Molecular structure of tight junctions and their role in epithelial transport. *Physiology*. 2001;16(3):126–130. https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2001.16.3.126

УПРАВЛЕНИЕ РИСКАМИ ПРИ РАЗРАБОТКЕ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИПИДНЫХ НАНОНОСИТЕЛЕЙ

У. А. Ефремова, 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

RISK MANAGEMENT IN THE DEVELOPMENT AND STANDARDIZATION OF LIPID NANOCARRIERS

U. A. Efremova, I. I. Terninko

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

Проблема безопасной и эффективной доставки лекарственных средств является одним из основных вызовов современной фармации. Использование традиционных лекарственных форм зачастую не обеспечивает избирательности действия, что приводит к системной токсичности и низкой эффективности терапии [1]. Ответом на данный вызов стало бурное развитие нанофармацевтики, в частности синтеза липидных наночастиц (ЛНЧ), доказавших свою революционную роль в создании РНК-препаратов и мРНК-вакцин [2]. Однако ключевым технологическим и регуляторным вызовом в этой области является отсутствие унифицированных и стандартизированных подходов к контролю качества новых липидных компонентов, прежде всего ионизируемых липидов. Эти молекулы являются основным компонентом систем доставки нуклеиновых кислот, однако их разработка и внедрение сдерживаются коммерческой недоступностью и отсутствием четких регуляторных норм и алгоритмизированных процедур оценки[1].

Для преодоления этого барьера необходима разработка и внедрение алгоритмизированной системы контроля качества, основанной на принципах управления рисками. Такой подход должен быть итеративным и соблюдать принципы сквозной стандартизации, то есть охватывать весь жизненный цикл продукта – от дизайна молекулы до готовой лекарственной формы.

Первым шагом на этом пути является систематическое выявление всех потенциальных источников риска получения некачественного продукта. Для этого предлагается применение инструментов, подобных диаграмме Исикавы, позволяющей визуализировать и категоризировать риски по ключевым аспектам:

- исходные материалы – чистота и соответствие спецификации ионизируемых и вспомогательных липидов;
- технологический процесс – критические параметры синтеза, процедуры очистки, формирования наночастиц;
- оборудование – поверка, аттестация и квалификация аппаратуры, а также плановое техническое обслуживание;
- персонал – квалификация и обучение;
- условия проведения работ – контроль среды (температура, влажность, стерильность, воздушные потоки).

Выявленные риски влияют на формирование критических показателей качества для липидных наночастиц. В ходе алгоритмизации процесса стоит предусматривать выбор релевантных физико-химических методов (спектроскопия, хроматография) с указанием приоритетных методов, а также разработку дерева принятия решений.

Завершающим этапом является интеграция в рабочий процесс, поскольку все разработанные процедуры должны быть оформлены в виде методических рекомендаций и стандартных операционных процедур.

Таким образом, решение проблемы качества новых липидных наноносителей лежит не в поиске единого универсального метода, а в создании комплексной алгоритмизированной системы. Такой системный подход, основанный на управлении рисками, позволит перейти к целенаправленному, воспроизводимому контролю качества. Это ускорит разработку, стандартизацию и внедрение новых эффективных липидных систем доставки, что является важнейшей задачей для обеспечения технологического суверенитета и развития современной фармакотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wen H., Jung H., Li X. Drug delivery approaches in addressing clinical pharmacology-related issues: opportunities and challenges. *The AAPS Journal*. 2015;17(6):1327–1340. https://doi.org/10.1208/s12248-015-9814-9
2. Wang N., Wang T., Li T., Deng Y. Modulation of the physicochemical state of interior agents to prepare controlled release liposomes. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. 2010;69(2):232–238. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.11.033

[1] Liposome Drug Products: Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation. Available at: https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070570.pdf Accessed: 02.02.2025.

ФИТОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *MAUSOLEA ERIOCARPA* НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

А. Н. Карабаева[1], С. К. Ордабаева[1], Г. В. Раменская[2], Р. Шанмугам[3]

[1] Акционерное общество «Южно-Казахстанская медицинская академия» (АО «ЮКМА»). 160019, Республика Казахстан, г. Шымкент, пл. Аль-Фараби, д. 1, стр. 1

[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

[3] Колледж фармации JSS (Академия высшего образования и исследований JSS – JSS AHER, Майсуру). 643001, Индия, г. Ути, Удхагамандалам – штат Тамилнад, «Роклендс», а/я № 20

PHYTOPHARMACEUTICAL SUBSTANTIATION OF THE PROSPECTS FOR THE USE OF *MAUSOLEA ERIOCARPA* BASED ON THE ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

A. N. Karabaeva[1], S. K. Ordabaeva[1], G. V. Ramenskaya[2], R. Shanmugam[3]

[1] Joint Stock Company. «South Kazakhstan Medical Academy» (SKMA). 1/1, Al-Farabi pl., Shymkent, 160019, Republic of Kazakhstan

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

[3] JSS College of Pharmacy (JSS Academy of Higher Education & Research – JSS AHER, Mysuru). «Rocklands», Post Box No. 20, Ooty, Udhagamandalam – Tamil Nadu State, 643001, India

Аннотация. Проведено фитофармацевтическое обоснование перспектив использования *Mausolea eriocarpa* на основе *in-silico*-анализа ключевых полифенольных соединений и их взаимодействия с молекулярными мишенями KEAP1, PPAR-γ и TOP2A, ассоциированными с антиоксидантным, противовоспалительным и противоопухолевым действием. Полученные данные подтверждают фармакологическую перспективность растения как источника биологически активных соединений для разработки фитофармацевтических препаратов.

Ключевые слова: *Mausolea eriocarpa*, биологически активные соединения, *in silico*, молекулярный докинг, ADMET.

Актуальность. Малоизученные растения аридных регионов представляют значительный интерес для фармацевтической науки как перспективные источники биологически активных соединений. *Mausolea eriocarpa* – псаммофит семейства *Asteraceae*, произрастающий в Южном Казахстане, характеризуется содержанием полифенольных соединений, что обосновывает целесообразность его фитофармацевтического изучения с применением современных *in-silico*-подходов.

Цель работы. Фитофармацевтическое обоснование перспектив использования *Mausolea eriocarpa* на основе *in-silico*-анализа биологически активных соединений и оценки их взаимодействия с фармакологически значимыми молекулярными мишенями.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись галловая кислота, кверцетин и изокверцитрин (гирсутрин). *In-silico*-исследование включало молекулярный докинг, расчет свободной энергии связывания методом MM/GBSA и прогноз ADMET-параметров. В качестве молекулярных мишеней использованы KEAP1, PPAR-γ и TOP2A. Оценка проводилась по значениям docking score, MM/GBSA ΔG_bind и интегральному ADMET-профилю.

Результаты. Все исследуемые соединения продемонстрировали аффинность к выбранным молекулярным мишеням. Изокверцитрин характеризовался наиболее стабильным связыванием с KEAP1 и TOP2A, тогда как кверцетин показал наиболее выраженное взаимодействие с PPAR-γ. ADMET-анализ выявил ограниченную прогнозируемую биодоступность изокверцитрина и более сбалансированный фармакокинетический профиль кверцетина.

Заключение. По результатам *in-silico*-оценки установлена потенциальная фармакологическая значимость биологически активных соединений *Mausolea eriocarpa* в отношении антиоксидантных, противовоспалительных и противоопухолевых мишеней. Сравнительный анализ показал, что кверцетин и изокверцитрин являются ведущими компонентами по аффинности, при этом кверцетин характеризуется более благоприятным балансом «биологическая активность – фармакокинетика». Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейшей экспериментальной валидации и фитофармацевтической разработки на основе исследуемого растительного сырья.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Поляков П. П. Труды Института ботаники Академии наук Казахской ССР. Алма-Ата: Издательство Академии наук Казахской СССР; 1961. 266 с. [Polyakov P. P. Proceedings of the Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR. Alma-Ata: Publishing House of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR; 1961. 266 p. (In Russ.)]
2. Abdullaeva R. Kh., Bobakulov Kh. M., Nishanbaev S. Z., Beshko N. Yu., Sham'yanov I. D., Abdullaev N. D. Secondary Metabolites from the Aerial Part of *Mausolea eriocarpa*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2016;52(5):913–914. https://doi.org/10.1007/s10600-016-1813-2

3. Alzain A. A., Mukhtar R. M., Abdelmoniem N., Shoaib T. H., Osman W., Alsulaimany M., Aljohani A. K. B., Almadani S. A., Alsaadi B. H., Althubyani M. M., Mohamed S. G. A., Mohamed G. A., Ibrahim S. R. M. Modulation of NRF2/KEAP1-Mediated Oxidative Stress for Cancer Treatment by Natural Products Using Pharmacophore-Based Screening, Molecular Docking, and Molecular Dynamics Studies. *Molecules*. 2023;28(16):6003. https://doi.org/10.3390/molecules28166003

КОМПОНЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ЭФИРНОГО МАСЛА МЯТЫ КОЛОСИСТОЙ (*MENTHA SPICATA* L.), КУЛЬТИВИРУЕМОЙ В ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

И. М. Коренская, Н. А. Дьякова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

COMPONENT ANALYSIS OF ESSENTIAL OIL OF *MENTHA SPICATA* L., CULTIVATED IN THE VORONEZH REGION

I. M. Korenskaya, N. A. Dyakova

Voronezh State University (VSU). 1, Universitetskaya ploshchad', Voronezh, 394018, Russia

Мята колосистая (*Mentha spicata* L.) является ценной эфирномасличной культурой, чьи биоактивные свойства в значительной степени определяются составом эфирного масла. Традиционно его профиль характеризуется доминированием карвона [1, 2]. Однако компонентный состав эфирных масел сильно зависит от эколого-географических условий произрастания, что обуславливает необходимость региональных исследований для оценки качества и потенциала сырья [3]. Вследствие достаточно высоких требований к эколого-географическим условиям культивирования важной является региональная оценка качества эфирного масла мяты колосистой листьев в Воронежской области, отличающейся сочетанием плодородных черноземных почв, подходящего климата и накопленного агрономического опыта.

Цель работы – проведение полного компонентного анализа эфирного масла мяты колосистой, заготовленной в Воронежской области, методом хромато-масс-спектрометрии.

Листья заготавливали в фенофазу массового цветения в Новоусманском районе Воронежской области. Сушку проводили в естественных условиях. Эфирное масло получали методом гидродистилляции. Качественный и количественный анализ выполняли на системе Agilent Technologies 7890B GC/5977A MSD с использованием капиллярной колонки HP-5ms UI и библиотеки масс-спектров NIST11 [3].

На основании проведенного исследования компонентного состава эфирного масла мяты колосистой листьев, заготовленных в Воронежской области, идентифицировано 29 соединений, что составляет 98,74 % от общей массы масла. Установлено, что мята колосистая, культивируемая в условиях Воронежской области, продуцирует эфирное масло с гибридным химическим профилем, сочетающим признаки мяты колосистой и мяты перечной. Подтверждено, что доминирующим компонентом является карвон (43,34 %), однако обнаружено аномально высокое совместное содержание ментола (18,43 %) и ментона (14,78 %). Преобладание карвона, ментола и ментона предполагает выраженное спазмолитическое и ветрогонное действие, противомикробную активность, отхаркивающий эффект, тонизирующее и когнитивно-стимулирующее действие [1, 4].

Значимыми второстепенными компонентами (1–10 %), влияющими на оттенки аромата и синергию действия полученного эфирного масла, являются пулегон, терпинен-4-ол, ментилацетат, эвкалиптол. Пулегон (9,26 %) придает травянистый, мятный оттенок аромату. Однако в высоких дозах обладает гепатотоксичностью, что ограничивает применение этого масла, в частности, для детей и беременных женщин [1, 4]. Терпинен-4-ол (2,16 %) известен своими сильными антимикробными и противогрибковыми свойствами [1, 4]. Ментилацетат (2,28 %) придает маслу мягкий фруктово-мятный, сладковатый оттенок, обладает более мягким спазмолитическим действием, чем ментол [4]. Эвкалиптол (1,37 %) дает камфорно-пряную ноту, характерную для эвкалипта, и обладает отхаркивающим, противовоспалительным действием [4].

Таким образом, мята колосистая, выращенная в Воронежской области, продуцирует эфирное масло с уникальным химическим профилем, что открывает потенциал для создания новых лекарственных и парфюмерно-косметических продуктов. Однако выявленное высокое содержание пулегона является критическим фактором, лимитирующим его безопасное внутреннее применение. Результаты подчеркивают важность обязательной стандартизации и маркировки такого сырья с указанием специфического состава и мер предосторожности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lawrence B. M. Mint: The Genus Mentha. Boca Raton: CRC Press; 2007. 584 p.
2. Brahmi F., Madani K., Dahmoune F., Tiziri R., Karima B., Oukhmanou-Bensidhoum S., Mohamed C. Optimization of solvent extraction of antioxidants (phenolic compounds) from Algerian mint (*Mentha spicata* L.). *Pharmacognosy Communications*. 2012;2(4):72–86.
3. Дьякова Н. А., Коренская И. М., Сливкин А. И., Гапонов С. П. Изучение особенностей количественного и качественного состава эфирного масла травы тысячелистника обыкновенного флоры Воронежской области. *Химико-фармацевтический журнал*. 2022;56(9):1226–1233. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-9-37-44

[Dyakova N. A., Korenskaya I. M., Slivkin A. I., Gaponov S. P. Features of Accumulation and Qualitative Composition of Essential Oil of Common Yarrow Herb from Voronezh Region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(9):1226–1233. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-9-37-44]

4. Adams R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Carol Stream: Allured Publ.; 2007. 804 p.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ КАК ГАРАНТИЯ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ

С. А. Ленин, О. А. Ваганова

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

STANDARDIZATION AND QUALITY CONTROL OF MONOCLONAL ANTIBODIES AS A GUARANTEE OF THEIR EFFECTIVENESS AND SAFETY

S. A. Lenin, O. A. Vaganova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

За последние два десятилетия моноклональные антитела (МАт) нашли крайне широкое применение в качестве лекарственных препаратов для лечения различных, в том числе орфанных, заболеваний [1]. С учетом сложности молекулы действующего вещества бурный рост данного класса терапевтических средств делает вопрос стандартизации и оценки их качества крайне актуальной и важной задачей. Хотя первичная аминокислотная последовательность для произведенных одним клеточным клоном антител считается идентичной, любой получаемый из них лекарственный продукт к моменту введения в организм пациента представляет из себя смесь в той или иной степени отличающихся друг от друга гликопротеинов [2].

Набор отличий в структуре молекул в пределах одного препарата на основе моноклональных антител называется микрогетерогенностью. Она обеспечивается за счет сочетания вариабельности посттрансляционных модификаций для каждой молекулы иммуноглобулина, а также различных сайт-специфичных изменений (окисление, деамидирование, изомеризация и др.) в процессе производства и хранения [2].

Практически каждая модификация в структуре антитела оказывает влияние на его фармакологические свойства: например, изомеризация аспарагиновой кислоты в CDR-участке снижает способность иммуноглобулина связываться с эпитопом антигена, а профиль гликозилирования может способствовать ускоренному выведению молекулы из организма или избыточной иммуногенности препарата [3].

Одним из способов оценки гетерогенности молекул антител в лекарственных препаратах является определение соотношения заряженных форм. Данный метод, активно используемый в рамках ортогонального подхода, основан на прямом или косвенном влиянии многих модификаций в структуре молекулы на значение ее изоэлектрической точки. Таким образом, используя метод ионообменной хроматографии или изоэлектрического фокусирования, можно разделить все имеющиеся структурные варианты молекул на группы и, собрав статистику для серий, используемых в клинических исследованиях, стандартизовать их соотношение [4].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kinch M. S., Kraft Z., Schwartz T. Monoclonal antibodies: Trends in therapeutic success and commercial focus. *Drug Discovery Today*. 2023;28(1):103415 https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103415
2. Liu H., Gaza-Bulseco G., Faldu D., Chumsae C., Sun J. Heterogeneity of Monoclonal Antibodies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007;97(7):2426–2447. https://doi.org/10.1002/jps.21180
3. Houde D., Peng Y., Berkowitz S. A., Engen J. R. Post-translational modifications differentially affect IgG1 conformation and receptor binding. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2010;9(8):1716–1728. https://doi.org/10.1074/mcp.m900540-mcp200
4. Liu H., Ren W., Zong L., Zhang J., Wang Y. Characterization of recombinant monoclonal antibody charge variants using WCX chromatography, icIEF and LC-MS/MS. *Analytical Biochemistry*. 2019;564–565:1–12. https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.10.002

NOSE-TO-BRAIN-ДОСТАВКА РИБАВИРИНА: ДИЗАЙН, ХАРАКТЕРИСТИКА И *IN-VITRO*-ОЦЕНКА СТИМУЛОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ

И. Б. Михел, Е. О. Бахрушина

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

NOSE-TO-BRAIN DELIVERY OF RIBAVIRIN: DESIGN, CHARACTERIZATION AND IN VITRO EVALUATION OF STIMULI-RESPONSIVE SYSTEMS

I. B. Mikhel, E. O. Bakhrushina

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

Рибавирин является изученной противовирусной молекулой, широко применяемой по всему миру для терапии хронического гепатита, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и инфекций кожи и слизистых оболочек, вызванных вирусами *Herpes simplex* 1 и 2 типов в составе комплексной терапии. С начала 2000-х изучается способность рибавирина ингибировать эукариотический фактор инициации трансляции 4E (eIF4E) и подавлять рост опухолей. К 2025 году сформировалась достаточно обширная доказательная база клинических случаев и организованных исследований, посвященных изучению противоопухолевой активности рибавирина, в том числе в лечении злокачественных новообразований головного мозга [1–3].

Доставка рибавирина из носа в мозг (nose-to-brain) по обонятельному и тройничному нервам – актуальная перспектива для лечения опухолей головного мозга. Прямая доставка, минуя ГЭБ, обеспечивает высокую концентрацию действующего вещества без завышения дозы АФС [4]. Однако мукоцилиарный клиренс быстро удаляет препарат со слизистой, снижая эффективность терапии. Оптимальным решением для увеличения биодоступности является разработка стимулочувствительных (*in situ*) систем, способных к фазовому переходу в гелеобразное состояние под действием стимулов носовой полости. Правильное планирование исследования имеет решающее значение для разработки лекарств, поскольку ошибки в дизайне замедляют процесс и увеличивают затраты. Концепция Quality by Design (QbD) решает эту проблему, предлагая системный подход к планированию эксперимента и оценке рисков, в отличие от традиционного однофакторного анализа [5, 6].

По результатам анализа литературы наиболее оптимальными стимулами гелеобразования для назальных *in-situ*-систем являются температура, pH и ионный состав секрета. Другие стимулочувствительные системы (фазоинверсионные, влагоактивизируемые, фоточувствительные и ферментактивируемые) неприменимы для эксплуатации в технологии интраназальных форм ввиду высокой вероятности токсичности и сниженной селективности к физиологичным условиям носовой полости [5].

В рамках настоящего исследования основной целью является создание стимулочувствительной системы для интраназального введения рибавирина, обеспечивающей улучшенные биофармацевтические показатели.

Для проведения испытаний использовались *in-situ*-полимеры с различными стимулами гелеобразования – терморевесивные, ионоселективные и pH-чувствительные. В дополнение к ведущему полимеру в композиции добавлялись мукоадгезивные полимеры и пенетраторы, способные повысить биодоступность препарата.

Анализ разработанных составов проводился по следующим критическим параметрам качества: стимулочувствительности, pH, температуре гелеобразования, pH гелеобразования, реологическим характеристикам, характеру распыления. Тест растворения проводился с наилучшими композициями. После проведения всех *in-vitro*-испытаний разработанная композиция была отправлена на анализ цилиотоксичности и фармакокинетики на животных моделях.

Исследования показали, что для дальнейших испытаний *in vivo* лучше всего подходят составы на основе ионоселективных полимеров. Оптимальные результаты продемонстрировала гелановая камедь (0,5 %), однако добавление полоксамера 124 (2 %) улучшило показатели качества матрицы на 15–20 %. Альтернативный состав с гелановой камедью (0,5 %) и фосфатным буфером (15 %) также показал хорошие результаты, улучшив все параметры на 13 %. Для последующего анализа *in vivo* на крысах была выбрана наиболее эффективная комбинация гелановой камеди и полоксамера 124. Доклинические испытания подтвердили наличие механизма транспорта «нос – мозг»: рибавирин концентрировался в обонятельной луковице и головном мозге. Пиковая концентрация в этих областях достигалась через 5 часов после интраназального введения, при этом в плазме крови она была значительно ниже.

Таким образом, была создана стимулочувствительная система, которая повышает биодоступность рибавирина при введении через нос. Исследования *in vitro* и *in vivo* доказали, что разработанная матрица эффективно доставляет активное вещество из носовой полости в головной мозг.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Witkowski J. T., Robins R. K., Sidwell R. W., Simon L. N. Design, synthesis, and broad spectrum antiviral activity of 1-.beta.-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide and related nucleosides. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1972;15(11):1150–1154. https://doi.org/10.1021/jm00281a014
2. Volpin F., Casaos J., Sesen J., Mangraviti A., Choi J., Gorelick N., Frikeche J., Lott T., Felder R., Scotland S. J., Eisinger-Mathason T. S. K., Brem H., Tyler B., Skuli N. Use of an anti-viral drug, Ribavirin, as an anti-glioblastoma therapeutic. *Oncogene*. 2017;36(21):3037–3047. https://doi.org/10.1038/onc.2016.457
3. Casaos J., Huq S., Lott T., Felder R., Choi J., Gorelick N., Peters M., Xia Y., Maxwell R., Zhao T., Ji C., Simon T., Sesen J., Scotland S. J., Kast R. E., Rubens J., Raabe E., Eberhart C. G., Jackson E. M., Brem H., Tyler B., Skuli N. Ribavirin as a potential therapeutic for atypical teratoid/rhabdoid tumors. *Oncotarget*. 2018;9(8):8054–8067. https://doi.org/10.18632/oncotarget.23883
4. Colombo G., Lorenzini L., Zironi E., Galligioni V., Sonvico F., Balducci A. G., Pagliuca G., Giuliani A., Calzà L., Scagliarini A. Brain distribution of ribavirin after intranasal administration. *Antiviral Research*. 2011;92(3):408–414. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.09.012
5. Bakhrushina E. O., Demina N. B., Shumkova M. M., Rodyuk P. S., Shulikina D. S., Krasnyuk I. I. In situ Intranasal Delivery Systems: Application Prospects and Main

Pharmaceutical Aspects of Development (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(4):54–63. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63

6. Смехова И. Е., Шигарова Л. В., Андреева П. И., Флисюк Е. В., Дзюба А. С. Применение подхода Quality-by-Design для обоснования состава и технологии двухкомпонентных суппозиториев. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):142–149. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-142-149 [Smekhova I. E., Shigarova L. V., Andreeva P. I., Flisyuk E. V., Dzyuba A. S. Application of Quality-by-Design Approach to Justify the Composition and Technology of Two-component Suppositories. *Drug development & registration*. 2022;11(4):142–149. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-142-149]

IN-SILICO-МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА *BRYONIA ALBA* L. КАК НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ЮЖНОГО КАЗАХСТАНА

Ж. Мусабеков[1], С. Ордабаева[1], А. Серикбаева[1], Р. Шанмугам[2]

[1] Акционерное общество «Южно-Казахстанская медицинская академия» (АО «ЮКМА»). 160019, Республика Казахстан, г. Шымкент, пл. Аль-Фараби, д. 1, стр. 1

[2] TIFAC CORE, фармацевтического колледжа JSS. 120000, Индия, Ути

IN SILICO MODELING OF THE THERAPEUTIC POTENTIAL OF *BRYONIA ALBA* L. AS A NEW MEDICINAL PLANT RAW MATERIAL OF SOUTHERN KAZAKHSTAN

Zh. Musabekov[1], S. Ordabaeva[1], A. Serikbaeva[1], R. Shanmugam[2]

[1] Joint Stock Company. «South Kazakhstan Medical Academy» (SKMA). 1/1, Al-Farabi pl., Shymkent, 160019, Republic of Kazakhstan

[2] TIFAC-CORE in Herbal Drugs, JSS College of Pharmacy. Ooty, 120000, India

Введение. Современный поиск новых лекарственных средств активно опирается на природные источники биологически активных соединений. Одним из перспективных объектов является *Bryonia Alba* – традиционное лекарственное растение семейства *Cucurbitaceae*. Фармакологическая ценность растения во многом связана с присутствием тритерпеновых соединений, в частности кукурбитацинов, обладающих антиоксидантной, цитотоксической, антипролиферативной и гипогликемической активностью. Однако молекулярные механизмы действия кукурбитацина I, одного из наиболее биологически активных представителей этого класса, остаются недостаточно изученными.

Цель исследования: молекулярное моделирование взаимодействия кукурбитацина I с ключевыми белковыми мишенями, ассоциированными с метаболическими, воспалительными и онкологическими заболеваниями.

Материалы и методы. Структура лиганда – кукурбитацина I – была получена из базы PubChem и оптимизирована с использованием модуля LigPrep (Schrödinger). В качестве потенциальных терапевтических мишеней выбраны:

- PPAR-γ (PDB ID: 2PRG) – регулятор глюкозного и липидного обмена, ключевой при сахарном диабете 2 типа;
- COX-2 (PDB ID: 5F1A) – основной фермент воспалительного каскада;
- EGFR (PDB ID: 1M17) – рецептор тирозинкиназы, вовлеченный в канцерогенез, особенно немелкоклеточного рака легкого;
- 4OBE – белок, ассоциированный с развитием колоректального рака.

Белковые структуры предварительно подготовлены в Maestro Protein Preparation Wizard: удалены несвязанные молекулы воды, добавлены атомы водорода, оптимизированы протонные состояния при pH 7,4 и выполнена энергетическая минимизация (OPLS_2005). Молекулярный докинг проведен с использованием программы Glide (Schrödinger) с расчетом энергий связывания методом MM-GBSA для оценки термодинамической устойчивости комплексов.

Результаты и обсуждение. Кукурбитацин I продемонстрировал высокое сродство ко всем исследуемым мишеням, что подтверждается значительными отрицательными значениями свободной энергии связывания.

PPAR-γ: высокий GlideScore и благоприятная ΔG_bind указывают на выраженный агонистный потенциал, что позволяет рассматривать соединение как перспективного кандидата для разработки антидиабетических средств.

COX-2: энергия связывания (≈–55 ккал/моль) и наличие стабильных водородных и гидрофобных контактов свидетельствуют о возможной противовоспалительной активности.

EGFR: отрицательные значения ΔG_bind ниже –60 ккал/моль и множественные водородные взаимодействия с критическими аминокислотами активного центра подтверждают потенциальную роль кукурбитацина I как ингибитора тирозинкиназы.

4OBE: низкая энергия комплекса и наличие π–π-стекинг-взаимодействий предполагают возможный антипролиферативный эффект в отношении клеток колоректального рака.

Следует отметить, что *in-silico*-методы дают предварительную оценку и требуют последующей верификации на клеточных и животных моделях. Однако уже на данном этапе очевидна целесообразность углубленного фармакологического изучения кукурбитацина I, а также стандартизации растительного сырья *Bryonia alba* как источника этого соединения.

Заключение. Полученные результаты указывают на многоцелевую фармакологическую активность кукурбитацина I. Высокое сродство к рецептору PPAR-γ открывает перспективы его применения в терапии метаболических нарушений, прежде всего сахарного диабета 2 типа. Сильное связывание с COX-2 и EGFR свидетельствует о потенциальном противовоспалительном и противоопухолевом действии, что соответствует литературным данным о цитотоксичности кукурбитацинов. Мультиобъектность взаимодействий позволяет рассматривать данное соединение как прототип для разработки лекарственных средств широкого спектра действия.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ielciu I., Frédérich M., Hanganu D., Angenot L., Olah N.-K., Ledoux A., Crișan G., Păltinean R. Flavonoid Analysis and Antioxidant Activities of the *Bryonia alba* L. Aerial Parts. *Antioxidants*. 2019;8(4):108. https://doi.org/10.3390/antiox8040108
2. Baek N.-I., Lee D. W., Lee Y. H. Cytotoxic constituents from the roots of Bryonia Alba. *Natural Product Sciences*. 1995;1:43–49.
3. Singh R., Rajasree Ph., Chelladurai S. Screening for anti-diabetic activity of the ethanolic extract of Bryonia alba roots. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2012;2(3):210–215.

ОСОБЕННОСТИ РАЗРАБОТКИ И АТТЕСТАЦИИ ФАРМАКОПЕЙНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА А В ПРЕПАРАТАХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

А. В. Нечаев, О. Г. Корнилова

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

FEATURES OF THE DEVELOPMENT AND CERTIFICATION OF A PHARMACOPEIAL REFERENCE STANDARD FOR THE DETERMINATION OF IMMUNOGLOBULIN A CONTENT IN HUMAN IMMUNOGLOBULINS FOR PARENTERAL ADMINISTRATION

A. V. Nechaev, O. G. Kornilova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

Действующим веществом препаратов иммуноглобулинов человека (ИГЧ) являются иммуноглобулины G (IgG), выделенные из пула плазмы крови более чем 1000 здоровых доноров. При производстве препаратов ИГЧ велика вероятность выделения, помимо IgG, других белковых составляющих плазмы, например фракции иммуноглобулина А (IgA), присутствие которой может стать причиной развития нежелательных реакций со стороны иммунной системы [1], на основе прогнозирования которых оценивают содержание примеси IgA фармакопейными методами – методом кинетической нефелометрии (КН), радиальной иммунодиффузии (РИД) и иммуноферментного анализа (ИФА)[1].

При испытании препаратов ИГЧ необходимо применение стандартных образцов. Нами разработан и аттестован фармакопейный стандартный образец (ФСО) для определения содержания IgA в препаратах ИГЧ, который включен в реестр ФСО ГФ РФ под названием «Стандартный образец содержания иммуноглобулинов класса А (IgA)» и предназначен для стандартизации методов оценки содержания примеси IgA в парентеральных препаратах ИГЧ. Значение аттестованной характеристики ФСО по IgA – 1,98 мг/мл.

Таким образом, разработанный и аттестованный нами ФСО может использоваться для количественного определения содержания примеси IgA в препаратах ИГЧ методами РИД и ИФА. Для метода КН применяют автоматизированные аналитические системы и соответствующие статистические программы расчета, при этом разработанный ФСО может использоваться для его внутрилабораторного контроля [2, 3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Esmaeilzadeh H., Askarisarvestani A., Hosseini N., Samimi S., Shafiei A., Mahdaviani S. A., Eslami N., Chavoshzadeh Z., Fallahi M., Khakbazanfard N., Sadeghi Shabestari M., Aleyasin S., Nabavizadeh S. H., Cheraghi T., Kalantari A., Ahmadiafshar A., Safari M., Eslamian M. H., Molatefi R., Shirkani A., Heidarzadeh Arani M., Tavakol M., Bemanian M. H., Arshi S., Nabavi M., Shokri S., Shahhosseini B., Mortazavi N., Nakhaei P., Nazari F., Fallahpour M., Ahanchian H., Moazzen N., Khoshkhui M., Vosughi Motlagh A., Aghamohammadi A., Abolhassani H., Yazdani R., Rezaei N. Adverse reactions in a large cohort of patients with inborn errors of immunity receiving intravenous immunoglobulin. *Clinical Immunology*. 2021;230:108826. https://doi.org/10.1016/j.clim.2021.108826
2. Нечаев А. В., Кудашева Э. Ю., Постнова Е. Л., Волкова Р. А., Фадейкина О. В., Борисевич И. В., Мовсесянц А. А. Особенности разработки, аттестации и применения

[1] ОФС.1.8.2.0012.18. Количественное определение содержания иммуноглобулинов классов G, M и A в препаратах иммуноглобулинов человека. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-8/1-8-2/kolichestvennoe-opredelenie-soderzhaniya-immunoglobulinov-klassov-g-m-i-a-v-preparatakh-immunoglobul/ Ссылка активна на 02.08.2026.

фармакопейного стандартного образца содержания иммуноглобулинов класса А в препаратах иммуноглобулинов человека для парентерального применения. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(3–1):443–451. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-3-1-443-451

3. Кудашева Э. Ю., Нечаев А. В., Лешина С. А., Волкова Р. А., Клепикова А. Г. Композиция для определения содержания иммуноглобулинов IgA в лекарственных препаратах. Патент РФ на изобретение № 2794887; 2023. Доступно по: https://patents.google.com/patent/RU2794887C1/ru Ссылка активна на 02.08.2026.

REFERENCES

1. Esmaeilzadeh H., Askarisarvestani A., Hosseini N., Samimi S., Shafiei A., Mahdaviani S. A., Eslami N., Chavoshzadeh Z., Fallahi M., Khakbazanfard N., Sadeghi Shabestari M., Aleyasin S., Nabavizadeh S. H., Cheraghi T., Kalantari A., Ahmadiafshar A., Safari M., Eslamian M. H., Molatefi R., Shirkani A., Heidarzadeh Arani M., Tavakol M., Bemanian M. H., Arshi S., Nabavi M., Shokri S., Shahhosseini B., Mortazavi N., Nakhaei P., Nazari F., Fallahpour M., Ahanchian H., Moazzen N., Khoshkhui M., Vosughi Motlagh A., Aghamohammadi A., Abolhassani H., Yazdani R., Rezaei N. Adverse reactions in a large cohort of patients with inborn errors of immunity receiving intravenous immunoglobulin. *Clinical Immunology*. 2021;230:108826. https://doi.org/10.1016/j.clim.2021.108826
2. Nechaev A. V., Kudasheva E. Yu., Postnova E. L., Volkova R. A., Fadeikina O. V., Borisevich I. V., Movsesyants A. A. Development, certification, and use of a pharmacopoeial standard for the content of immunoglobulin A in human immunoglobulins for parenteral administration. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(3–1):443–451. (In Russ.) https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-3-1-443-451
3. Kudasheva E. Yu., Nechaev A. V., Leshina S. A., Volkova R. A., Klepikova A. G. Composition for determining the content of IgA immunoglobulins in medicinal products. Patent RUS No. 2794887; 2023 (In Russ.). Available at: https://patents.google.com/patent/RU2794887C1/ru Accessed: 02.08.2026. (In Russ.)

ОСОБЕННОСТИ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЮЖНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА

Ю. А. Павлова, Н. А. Дьякова, А. И. Сливкин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

FEATURES OF THE COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS OF MEDICINAL PLANTS OF THE SOUTHERN FEDERAL DISTRICT

Yu. A. Pavlova, N. A. Dyakova, A. I. Slivkin

Voronezh State University (VSU). 1, Universitetskaya ploshchad', Voronezh, 394018, Russia

Биосинтез биологически активных веществ (БАВ), включая эфирные масла (ЭМ), представляет собой сложный физиолого-биохимический процесс, находящийся под значительным влиянием экзогенных факторов [1]. Качественный и количественный состав ЭМ характеризуется высокой вариабельностью и зависит от комплекса факторов: видовой и популяционной специфики растения, фенологической фазы, географического происхождения, климатических условий, элементного состава почв и уровня антропогенной нагрузки. **Цель исследования** – сравнительное изучение качественного и количественного состава ЭМ в травах тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) и полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.), произрастающих в различных экотопах Ростовской области с градиентом антропогенной нагрузки.

Лекарственное растительное сырье (ЛРС) заготавливали в фенофазу массового цветения производящих растений. Отбор проб проводили на разном удалении (0, 100, 200, 300 м) от источников загрязнения: автомагистралей, железной дороги, крупного агропромышленного предприятия. Контрольные образцы взяты с фоновой территории. ЭМ получали методом гидродистилляции. Исследование компонентного профиля ЭМ выполнено с применением комплекса Agilent Technologies 7890B GC System.

Максимальное содержание ЭМ зафиксировано в контрольных (фоновых) образцах (0,44 % для полыни горькой травы и 0,43 % для тысячелистника обыкновенного травы), минимальные показатели (0,17–0,22 %) – в зонах непосредственного воздействия автотранспорта и промышленного предприятия. Прослежена тенденция к увеличению выхода ЭМ по мере увеличения дистанции от дорог. Это связано с адаптационной реакцией растений: в стрессовых условиях (уплотненные почвы, перегрев) усиливается испарение ЭМ для терморегуляции, что снижает их остаточное содержание в сырье. Образцы, произраставшие в условиях интенсивной техногенной нагрузки, демонстрировали обедненный компонентный профиль ЭМ. Обнаружены значимые колебания в содержании ключевых БАВ: нерил-(S)-2-метилбутаноата, *n*-цимола, линалилацетатов, кариофиллена, хамазулена и др. Важным результатом стало обнаружение в ЭМ из загрязненных зон ксенобиотика – трис-(2,4-ди-трет-бутилфенил)фосфата, что подтверждает факт аккумуляции атмосферных загрязнителей растениями.

В условиях урбанизированных биотопов отмечена устойчивая тенденция к увеличению относительной доли сесквитерпеновых соединений. Соотношение монотерпены/сесквитерпены менялось: в фоновых условиях – 4:1 (для полыни горькой) и 7:1 (для тысячелистника обыкновенного), а в зонах техногенного прессинга – до 2:1 и 4:1 соответственно. Данный сдвиг интерпретируется как адаптационная реакция растений на стресс (в частности, на повышен-

ную кислотность почв в урбоценозах), которая стимулирует биосинтез более сложных сесквитерпенов по ацетатно-мевалонатному пути.

Межрегиональное сравнение компонентного состава ЭМ с ЛРС Воронежской области [2] показало, что природно-климатические условия (инсоляция) также критически влияют на накопление ЭМ. В более засушливой Ростовской области содержание ЭМ в аналогичных биотопах оказалось в 2–6 раз ниже.

Выявленные закономерности (снижение выхода, обеднение состава, сдвиг в сторону сесквитерпенов, аккумуляция ксенобиотиков) необходимо учитывать при планировании заготовок ЛРС в промышленно развитых регионах. Целенаправленный сбор сырья в биотопах, обеспечивающих максимальное содержание целевых БАВ (например, эвкалиптола или β-мирцена), может стать основой для оптимизации технологических процессов в фармацевтической и парфюмерно-косметической промышленности, позволяя снижать объемы перерабатываемого сырья и затраты на выделение целевых компонентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pavlova Y. A., Dyakova N. A., Vervikina A. A., Slivkin A. I. Features of the Accumulation of Flavonoids in Medicinal Plant Raw Materials of the Synanthropic Flora of Rostov Region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2024;58(4):666–671. https://doi.org/10.1007/s11094-024-03192-0
2. Дьякова Н. А., Коренская И. М., Сливкин А. И., Гапонов С. П. Изучение особенностей количественного и качественного состава эфирного масла травы тысячелистника обыкновенного флоры Воронежской области. *Химико-фармацевтический журнал*. 2022;56(9):1226–1233. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-9-37-44 [Dyakova N. A., Korenskaya I. M., Slivkin A. I., Gaponov S. P. Features of Accumulation and Qualitative Composition of the Essential Oil of Common Yarrow Herb from Voronezh Region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(9):1226–1233. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/0023-1134-2022-56-9-37-44]

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ЭМГПС И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ПЕЧЕНИ У МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТЕРМИТТИРУЮЩЕЙ ГИПОКСИИ

Г. А. Плиско, Д. Ю. Ивкин

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

COMPARATIVE EFFECT OF EMHPS AND ITS DERIVATIVE ON PHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND GENE EXPRESSION OF MITOCHONDRIAL COMPLEXES IN THE LIVER OF MICE UNDER CONDITIONS OF CHRONIC INTERMITTENT HYPOXIA

G. A. Plisko, D. Yu. Ivkin

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

Актуальность: Интермиттирующая гипоксия (ИГ) выступает в роли патологического фактора, который индуцирует развитие окислительного стресса, способного, в свою очередь, запускать целый каскад патологических процессов, включающих в себя митохондриальную дисфункцию, системное воспаление, эндотелиальную дисфункцию и различные метаболические нарушения. В свете этого поиск и изучение эффективных активных антиоксидантов представляет собой важную и актуальную научную задачу. В данной работе изучали антигипоксические свойства метаболита этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) – этилметилсульфапиридина (ЭМСП) на модели ИГ на мышах. В ранее проведенных работах ЭМСП проявлял антигипоксические и антиоксидантные свойства [1–3].

Материалы и методы. Исследование было проведено на 18 белых аутбредных мышах-самцах. В исследовании было сформировано 3 группы: группа № 1 – контроль, ИГ + физиологический раствор ($n = 6$); группа № 2 – ИГ + ЭМСП в дозе 85 мг/кг ($n = 6$); группа № 3 – ИГ + ЭМГПС (100 мг/кг) ($n = 6$). Введение осуществляли внутрибрюшинно в течение 14 дней параллельно с моделированием ИГ, за 30 мин до ИГ. Моделирование ИГ проводили, помещая животных в мембранный гипоксикатор. Устанавливали режим: содержание кислорода – 6 %, продолжительность гипоксического цикла – 6 часов. Длительность – 14 дней, ежедневно. В начале и в конце исследования проводили оценку динамической нагрузки (тест на силу хвата), измеряли параметры дыхания (в плетизмографе), поведенческие показатели (в тестах «Открытое поле» (ОП) и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ)), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и сатурацию (SpO_2). После эвтаназии у животных всех групп определяли экспрессию генов митохондриальных комплексов в печени методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Были выбраны такие гены, как GAPDH – референсный ген; NDUFS1 – ген, кодирующий ключевую субъединицу комплекса I (NADH-дегидрогеназа); SDHA – каталитическая субъединица комплекса II (сукцинат-дегидрогеназа); UQCRC2 – структурный компонент комплекса III (цитохром bc1); COX1 – субъединица комплекса IV (цитохром c-оксидаза).

Результаты. На основании результатов, полученных в ходе исследования, было установлено, что ЭМСП демонстрирует эффективность, сравнимую с ЭМГПС по таким параметрам, как показатели силы хвата, данные плетизмографии, ЧСС и SpO_2, а также данные, накопленные в ходе проведения тестов ОП и ПКЛ. Результаты ПЦР показали отчетливую тенденцию к усилению экспрессии гена UQCRC2 в обеих исследуемых группах – ЭМСП и ЭМГПС. При этом в группе, где животным вводили ЭМСП, уровень экспрессии был более высоким.

Заключение. Исследуемое соединение ЭМСП проявило протекторные свойства на фоне ИГ, сопоставимые с ЭМГПС, и более выраженную тенденцию экспрессии гена UQCRC2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивкин Д. Ю., Суханов Д. С., Плиско Г. А., Ивкина А. С., Краснова М. В., Титович И. А., Семивеличенко Е. Д., Степанова И. Л., Ильницкий В. П., Карпов А. А., Оковитый С. В., Каршин А. В. Антигипоксическая активность различных солей этилметилгидроксипиридина. *Молекулярная медицина*. 2020;18(4):36–41. https://doi.org/10.29296/24999490-2020-04-05
2. Плиско Г. А., Ногаева У. В., Семивеличенко Е. Д., Ивкин Д. Ю., Титович И. А., Флисюк Е. В., Демакова Н. В., Ивкина А. С. Сравнительная эффективность производных этилметилгидроксипиридина сукцината при острой интоксикации тетрахлорметаном. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021;2:3–9. https://doi.org/10.29296/2618723x-2021-02-01
3. Суханов Д. С., Ивкин Д. Ю., Плиско Г. А., Караваева А. В., Краснова М. В., Поверяева М. А., Карев В. Е., Бунят А. В., Степанова И. Л., Оковитый С. В. Влияние производного 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина на течение неалкогольной жировой болезни печени в эксперименте. *Молекулярная медицина*. 2020;18(1):21–26. https://doi.org/10.29296/24999490-2020-01-04

REFERENCES

1. Ivkin D. Yu., Sukhanov D. S., Plisko G. A., Ivkina A. S., Krasnova M. V., Titovich I. A., Semivelichenko E. D., Stepanova I. L., Il'nickij V. P., Karpov A. A., Okovityy S. V., Karshin A. V. Antihypoxic activity of various ethylmethylhydroxypyridine salts. *Molecular medicine*. 2020;18(4):36–41. (In Russ.) https://doi.org/10.29296/24999490-2020-04-05
2. Plisko G. A., Nogaeva U. V., Semivelichenko E. D., Ivkin D. Yu., Titovich I. A., Flisyuk E. V., Demakova N. V., Ivkina A. S. Comparative efficacy of ethylmethylhydroxypyridine succinate derivatives in acute CCl_4 intoxication. *Laboratory Animals for Science*. 2021;2:3–9. (In Russ.) https://doi.org/10.29296/2618723x-2021-02-01
3. Sukhanov D. S., Ivkin D. Yu., Plisko G. A., Karavaeva A. V., Krasnova M. V., Poveryaeva M. A., Karev V. E., Bunyat A. V., Stepanova I. L., Okovityj S. V. Effect of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine derivative on the course of nonalcoholic fatty liver disease in the experiment. *Molecular medicine*. 2020;18(1):21–26. (In Russ.) https://doi.org/10.29296/24999490-2020-01-04

ЛИСТЬЯ АРОНИИ МИЧУРИНА (*SORBARONIA FALLAX* (C.K. SCHNEID.) C.K. SCHNEID.) КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

О. В. Пугачева, О. В. Тринеева, А. И. Сливкин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»). 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1

SORBARONIA FALLAX (C.K. SCHNEID.) C.K. SCHNEID. LEAVES AS A PROMISING SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

O. V. Pugacheva, O. V. Trineeva, A. I. Slivkin

Voronezh State University (VSU). 1, Universitetskaya ploshchad', Voronezh, 394018, Russia

Арония Мичурина, или рябина черноплодная – культигенный гибрид аронии черноплодной и рябины обыкновенной. Плоды аронии являются достаточно изученными, однако и другие части растения, в частности листья, являются потенциальными источниками уникального комплекса природных биологически активных веществ (БАВ).

В качестве целевых групп БАВ листьев аронии Мичурина были предположены соединения полифенольной природы: флавоноиды, дубильные вещества, антоцианы, для которых разработаны методики количественного определения и исследована динамика их накопления [1, 2].

На основании результатов проведенных исследований оптимальным периодом для заготовки листьев аронии Мичурина является период спелости плодов и начала покраснения листьев, что позволит сохранить БАВ в плодах. При этом содержание их в листьях остается высоким и составляет 3,48 ± 0,21 % для флавоноидов (в пересчете на рутин), 8,63 ± 0,32 % для дубильных веществ (в пересчете на катехин), 11,62 ± ± 0,69 % для антоцианов (в пересчете на цианидин-3-О-глюкозид).

На основе листьев аронии Мичурина получены лекарственные формы: отвар (1 : 10), настойка (1 : 5) и экстракт жидкий (1 : 1) [3], для которых проведена оценка фармакологической активности.

С использованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum* в тесте «Функциональная нагрузка» установлено, что отвар *in vitro* значительно повышает время выживаемости инфузорий при повреждающем воздействии раствора хлорида натрия (максимально на 39,3 %) по сравнению с контрольной пробой при инкубации в течение 24 ч, что свидетельствует о наличии биостимулирующего и мембранопротекторного действия. Таким образом, извлечения из листьев

аронии могут использоваться для получения препаратов капилляропротекторного и антиоксидантного действия [4].

Оценка антимикробной активности спиртосодержащих жидких ЛФ на основе листьев показала, что комплекс БАВ жидкого экстракта проявляет антимикробную активность в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*. Перспективным следует считать его применение, например, в качестве средства для наружного использования в комплексной терапии и для профилактики воспалительных заболеваний полости рта в виде полосканий или аппликаций [5].

Все вышесказанное подтверждает перспективность использования листьев аронии Мичурина как источника биологически активных веществ для получения лекарственных растительных препаратов на их основе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тринеева О. В., Пугачева О. В. Профиль биологически активных веществ листьев аронии Мичурина, произрастающей в условиях Центрального Черноземья. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(2):48–58. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1715
2. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Панова К. Е. Валидация методики количественного определения антоцианов в аронии Мичурина листьях. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2023;22(4):214–222. https://doi.org/10.37903/vsgma.2023.4.29
3. Пугачева О. В., Панова К. Е., Брежнева Т. А., Сливкин А. И. Выбор оптимальной лекарственной формы листьев аронии Мичурина. *Биофармацевтический журнал*. 2023;15(5):3–5. https://doi.org/10.30906/2073-8099-2023-15-5-3-5
4. Пугачева О. В., Бузлама А. В., Кузнецов А. Ю., Тринеева О. В. Изучение биостимулирующего действия отвара листьев аронии Мичурина *in vitro* с пользованием тест-системы инфузорий *Paramecium caudatum*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):225–241. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1953
5. Пугачева О. В., Тринеева О. В., Правдивцева О. Е. Оценка антимикробной активности лекарственных форм на основе листьев аронии Мичурина. *Гербариум*. 2025;2(1):29–39. https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-1-17

REFERENCES

1. Trineeva O. V., Pugacheva O. V. Profile of biologically active substances of *Aronia mitschurinii* leaves growing in the conditions of the Central Black Earth region. *Drug development & registration*. 2024;13(2):48–58. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-2-1715
2. Pugacheva O. V., Trineeva O. V., Panova K. E. Validation of a method for the quantification of antocianins in aronia Michurina leaves. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2023;22(4):214–222. (In Russ.) https://doi.org/10.37903/vsgma.2023.4.29
3. Pugacheva O. V., Panova K. E., Brezhneva T. A., Slivkin A. I. Selection of the optimal dosage form of Aronia Michurinii Leaves. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2023;5:3–5. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/2073-8099-2023-15-5-3-5
4. Pugacheva O. V., Buzlama A. V., Kuznetsov A. Yu., Trineeva O. V. Study of the biostimulating effect of a decoction of Michurin's chokerenia leaves *in vitro* using the *Paramecium caudatum* cilia test system. *Drug development & registration*. 2025;14(2):225–241. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1953
5. Pugacheva O. V., Trineeva O. V., Pravdivtseva O. E. Evaluation of antimicrobial activity of dosage forms based on Michurin's chokeberry leaves. *Herbarium*. 2025;2(1):29–39. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/3034-3925-2025-2-1-17

КОМПОЗИЦИИ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА С L-ЛИЗИНОМ

А. А. Свотин, М. Д. Корочкина, А.А. Ходячих, Е.А. Кривошеева, Р. П. Терехов, И. А. Селиванова

Институт фармации им. А. П. Нелюбина Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовского Университета). 119571, Россия, г. Москва, проспект Вернадского, д. 96, корпус 1

COMPOSITIONS OF DIHYDROQUERCETIN WITH L-LYSINE

A. A. Svotin, M. D. Korochkina, A.A. Khodyachikh, E.A. Krivosheeva, R. P. Terekhov, I. A. Selivanova

A. P. Nelyubin Institute of Pharmacy, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 96/1, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia

Дигидрокверцетин (ДКВ) – флаванонол, являющийся основным флавоноидным компонентом комлевой части древесины лиственницы даурской (*Larix dahurica* Turcz.). Длительное время его рассматривают как перспективный терапевтический агент противовоспалительного и ранозаживляющего действия. Однако возможности применения ДКВ в медицинской практике ограничены низкой растворимостью в воде при комнатной температуре, что затрудняет создание лекарственных препаратов на его основе. Среди методов, позволяющих изменить биофармацевтические характеристики субстанций без изменения исходной структуры, выделяется фазовая модификация. Ранее на примере других соединений класса флавоноидов продемонстрировано повышение растворимости на несколько порядков при использовании в качестве кофермеров протеиногенных аминокислот, среди которых представляет интерес L-лизин за счет установленного у него влияния на пролиферацию клеток.

Цель исследования: получить и охарактеризовать физико-химическими и биологическими методами анализа кокристаллы или коаморфы на основе ДКВ и L-лизина.

Материалы и методы. В ходе работы использовали трансляционную модель исследования (рисунок 1). Супрамолекулярный синтез осуществляли методом сухого гриндинга с последующей лиофильной сушкой водного раствора или отжигом на полиэтиленовой подложке.

Полученные объекты охарактеризовывали комплексом методов, включающим физико-химические (рентгенографические, спектральные и термические), визуальные (сканирующая электронная микроскопия) и биологические (оценка цитотоксичности и ранозаживляющей активности) с последующей разработкой методик качественного и количественного анализа компонентов полученных модификаций.

Результаты. На фундаментальном этапе проведена оптимизация условий супрамолекулярного синтеза и описана морфология продуктов: лиофилизаты характеризовались мезопористой структурой, а пленки – стеклообразной поверхностью.

На трансляционном этапе установлено стабильное при хранении аморфное строение твердой фазы синтезированных объектов. Для пленчатой формы обнаружен эффект стеклования при 63 °C. Спектральными методами анализа доказано отсутствие изменения исходного молекулярного строения флавоноида в процессе модификации, что вместе с данными рентгеновского анализа позволяет считать полученные объекты коаморфами.

Для трансляции результатов в прикладную плоскость разработаны и валидированы методики контроля качественного и количественного состава компонентов композиций. С их применением установлено повышение растворимости до категории «очень легко растворим» в соответствии с Фармакопеей

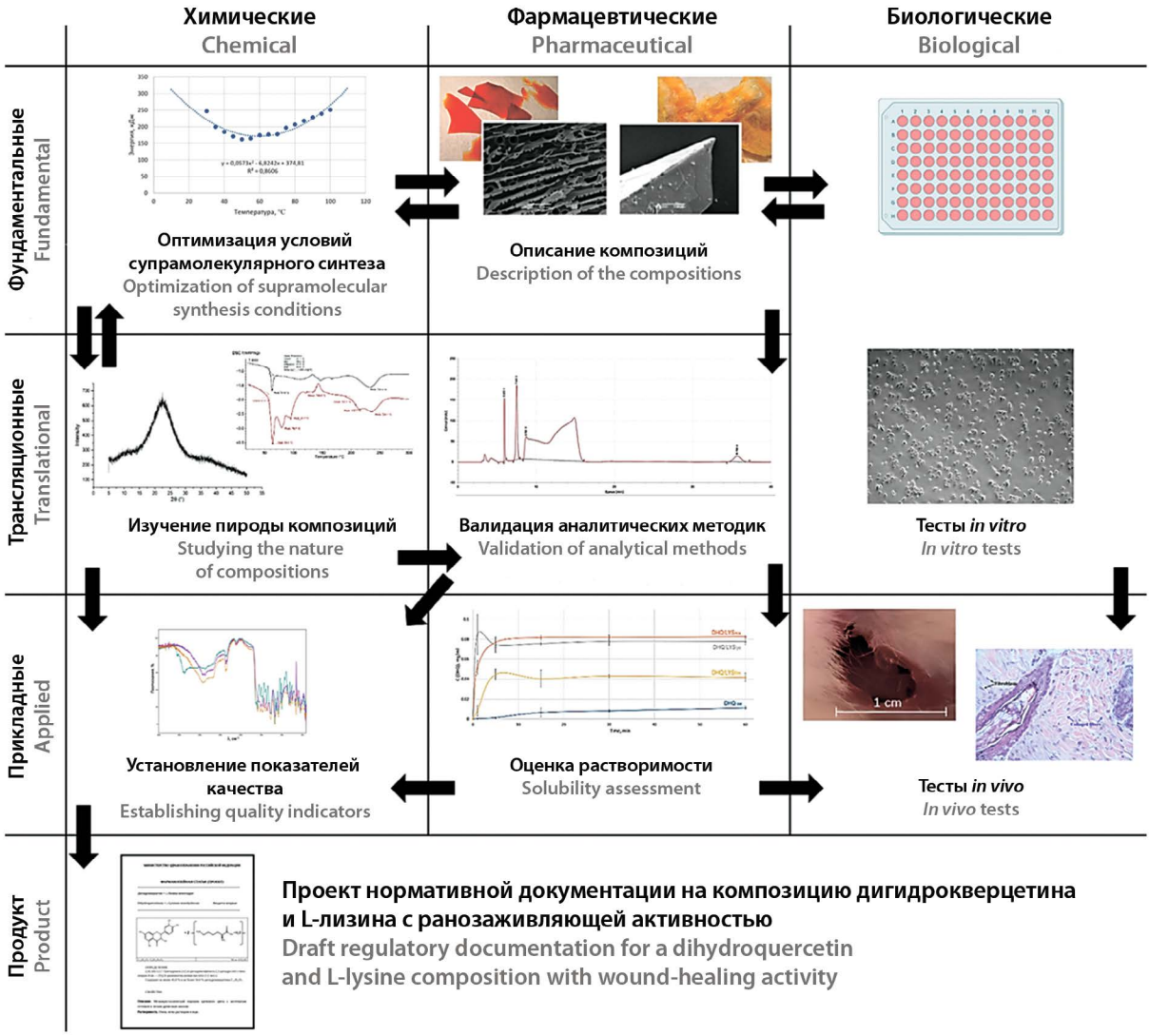


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Трансляционная модель эксперимента

Figure 1. Translational experimental model

ЕАЭС, а также повышенная скорость растворения для лиофилизата, составившая 84,9 мг · л$^{-1}$ · мин$^{-1}$, связанная с большой удельной площадью поверхности полученной модификации.

Заключение. Полученные результаты могут стать основой разработки противоожогового фитопрепарата на основе ДКВ.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА ПЕМБРОЛИЗУМАБА

А. А. Семусева

Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики». 117149, Россия, г. Москва, ул. Симферопольский бульвар, д. 8

APPLICATION OF ENZYME IMMUNOASSAY FOR PHARMACOKINETIC STUDIES OF THE MONOCLONAL ANTIBODY PEMBROLIZUMAB

A. A. Semuseva

Limited Liability Company "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"). 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia

В условиях геополитических вызовов и ухода ряда иностранных производителей с российского фармацевтического рынка реализуется стратегия, направленная на повышение доступности качественных отечественных биоаналогов. Ключевыми задачами при выводе биосимиляров моноклональных антител на фармацевтический рынок являются доказанная биоэквивалентность и безопасность. В рамках проведенного исследования был разработан подход к выбору тест-системы, ее адаптации под условия исследования (узкий аналитический диапазон), проведена частичная валидация. Подтверждена пригодность выбранной тест-системы ИФА для проведения исследования фармакокинетики пембролизумаба.

Самым распространенным и предпочтительным подходом к детектированию моноклональных антител в биологических образцах является использование тест-систем ИФА. Для надлежащего выполнения исследований необходимо проводить оценку пригодности используемого метода. Проведение частичной валидации с последующей оценкой валидационных параметров позволяет выполнять исследования на высоком уровне.

Ввиду растущего спроса на получение своевременной и доступной помощи пациентам остро стоит вопрос о выводе на отечественный фармацевтический рынок препаратов-аналогов. Для реализации стратегии особенно важен грамотный подход к выбору аналитического метода, подбору тест-систем для проведения исследований биоэквивалентности.

В рамках исследования была проведена оценка пригодности тест-системы для проведения фармакокинетических исследований моноклональных антител. Валидационные работы проводились в соответствии с требованиями решения Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года № 85, что позволило обеспечить достоверность и надежность получаемых результатов.

Для проведения этапа апробации была выбрана тест-система ИФА «KRIBIOLISA™ Pembrolizumab (KEYTRUDA®) ELISA» (Krishgen BioSystems, Индия). По результатам успешной апробации было принято решение о проведении частичной валидации в рамках 6 циклов.

Калибровочная кривая, правильность, прецизионность

Приготовление калибровочных образцов, образцов контроля качества для оценки калибровочной кривой, правильности и прецизионности проводили согласно инструкции к тест-системе. Несоответствия критериям приемлемости оцениваемых валидационных параметров в рамках циклов № 1–6 не наблюдалось.

Линейность разведения образцов

Анализировались модельные образцы, в состав которых входил разбавленный пул интактной сыворотки крови и исследуемый препарат, содержащий пембролизумаб. Концентрация пембролизумаба в модельных образцах до разведения превышала уровень верхнего количественного определения.

В результате проведения валидационного цикла была доказана возможность разведения образцов в 1500, 1000, 800, 600, 500, 400, 300, 200, 100 раз.

Стабильность

Был проведен анализ свежеприготовленных образцов контроля качества с содержанием пембролизумаба на низком и высоком уровнях, подтверждена краткосрочная стабильность в течение 6 часов при комнатной температуре; краткосрочная стабильность в течение 6 дней при температуре 2–8 °С; стабильность при трехкратной заморозке-разморозке; промежуточная долгосрочная стабильность (ДС) в течение не менее 9 дней; ДС в течение не менее 245 дней. Оценка ДС, а также стабильности при трехкратной заморозке-разморозке проводилась в рамках трех температурных диапазонов: от –25 до –15 °С, от –50 до –35 °С, от –86 до –65 °С.

В ходе проведения исследовательской работы был разработан подход к выбору тест-системы для проведения фармакокинетических исследований моноклональных антител. Результаты проведения частичной валидации тест-системы ИФА для определения пембролизумаба в сыворотке крови человека подтверждают ее пригодность для проведения исследований фармакокинетики.

ДИГИДРОКВЕРЦЕТИН – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ИНГИБИТОР ДПП-4

Е. М. Сухова[1], Д. А. Мануков[1], К. Бергел[1], А. В. Веселовский[2], Р. П. Терехов[1], И. А. Селиванова[1]

[1] Институт фармации им. А. П. Нелюбина Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовского Университета). 119571, Россия, г. Москва, проспект Вернадского, д. 96, корпус 1

[2] Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича» (ИБМХ). 119121, Россия, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8

DIHYDROQUERCETIN AS A POTENTIAL INHIBITOR OF DPP-4

E. M. Sukhova[1], D. A. Manukov[1], K. Bergel[1], A. V. Veselovsky[2], R. P. Terekhov[1], I. A. Selivanova[1]

[1] A. P. Nelyubin Institute of Pharmacy, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 96/1, prospekt Vernadskogo, Moscow, 119571, Russia

[2] The V. N. Orekhovich Scientific Research Institute of Biomedical Chemistry (IBMC). 10/8, Pogodinskaya str., Moscow, 119121, Russia

Дипептидилпептидаза-4 (ДПП-4) – гомодимерный гликопротеин, является мембранным белком II типа и обеспечивает деградацию инкретинов, например глюкагоноподобного пептида-1, снижая их эффект: уменьшается стимуляция выработки инсулина и подавляется синтез глюкагона поджелудочной железой, вызывая гипергликемию. Поэтому данный фермент представляет интерес в качестве мишени для разработки лекарственных препаратов против ожирения и сахарного диабета II типа. Существующие на данный момент синтетические ингибиторы ДПП-4 характеризуются высокой токсичностью. Возможной альтернативой может стать флаванонол дигидрокверцетин (ДКВ). Однако в структуре молекулы данного флавоноида содержатся два центра хиральности. Поэтому существуют четыре стереоизомера ДКВ, которые могут проявлять различное сродство к биологическим мишеням.

Цель исследования: оценить влияние конфигурации центров хиральности ДКВ на его аффинность (ΔG) по отношению к ДПП-4.

Материалы и методы. Построение структур энантиомеров ДКВ с учетом возможной ионизации и конформационный поиск осуществили с использованием MarvinBeans (v. 5.2.4), оптимизацию проводили в Avogadro (v. 1.2.0).

В качестве модели ДПП-4 использовали структуру с ингибитором N7F с разрешением 1,62 Å (PDB ID: 4A5S). Предподготовку макромолекулы, включающую

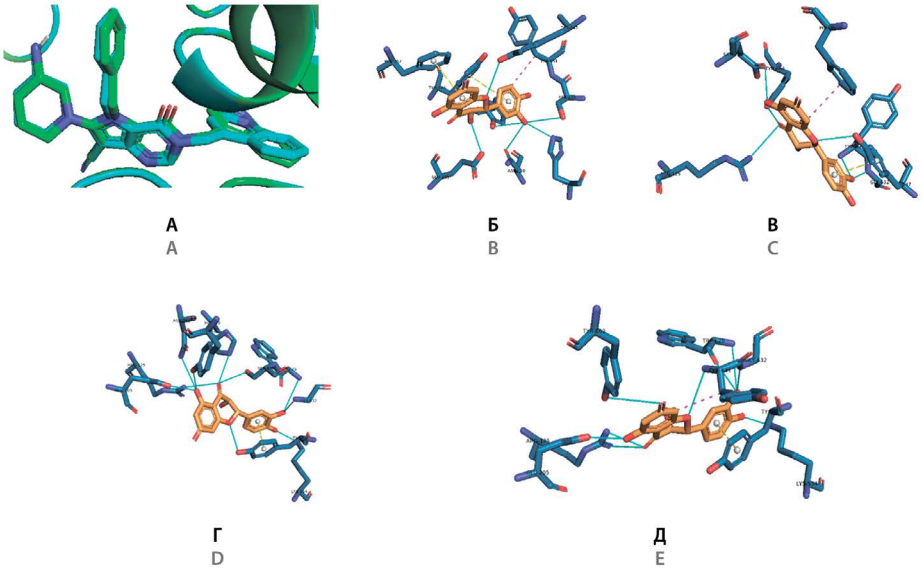


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Результаты докинга:

А – суперпозиция исходного лиганда (зеленый) и результата (голубой) редокинга N7F; Б – 2R,3R-ДКВ; В – 2S,3S-ДКВ; Г – 2S,3R-ДКВ; Д – 2R,3S-ДКВ

Figure 1. Docking results:

A – superposition of the original ligand (green) and the N7F re-docking result (blue); B – 2R,3R-DKV; C – 2S,3S-DKV; D – 2S,3R-DKV; E – 2R,3S-DKV

добавление недостающих атомов и удаление молекул воды и лигандов, выполняли с помощью PyMol (v. 2.4.0).

Докинг проводили с использованием AutoDock Vina (v. 1.5.6) в 8-кратной повторности. Рассчитанный метод валидировали путем редокинга исходного лиганда. Результаты представлены как среднее значение ΔG и доверительный интервал, $\alpha = 0,05$.

Результаты. В ходе редокинга N7F ΔG_{min} = =–11,2 кДж/моль, RMSD = 1,288 (≤2,5), что свидетельствует о релевантности итогов моделирования.

Согласно результатам докинга, ионизированные формы ДКВ характеризуются большей аффинностью к ДПП-4. На рисунке 1 представлены результаты докинга исследованных соединений и их взаимодействие с активным центром ДПП-4. Величина ΔG_{min} для 2R,3R-, 2S,3S-, 2S,3R- и 2R,3S-энантиомера составила $-8,078 \pm 0,145$, $-8,078 \pm 0,063$, $-8,156 \pm 0,154$ и $-8,144 \pm 0,139$ кДж/моль соответственно. Отмечена хорошая воспроизводимость данных: значение RMSD варьировало от 0,791 до 1,617.

Таким образом, продемонстрирована возможность взаимодействия ДКВ с активным центром ДПП-4. Можно отметить, что *цис*-диастереомеры характеризовались большей аффинностью, чем *транс*-изомеры.

Заключение. Полученные результаты могут быть использованы для создания антигипергликемических и анорексигенных лекарственных препаратов на основе ДКВ.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-75-00071, https://rscf.ru/project/25-75-00071/

ОТ МЕТОДИКИ К МЕТРОЛОГИЧЕСКОМУ ОБЕСПЕЧЕНИЮ: РАЗРАБОТКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТИВАЗИДА МЕТОДОМ ВЭЖХ С ОЦЕНКОЙ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

А. А. Турундаева, Е. А Мамашина, Н. Д. Бунятян

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

FROM METHODOLOGY TO METROLOGICAL SUPPORT: DEVELOPMENT OF A QUANTITATIVE DETERMINATION METHOD FOR FTIVAZIDE BY HPLC WITH MEASUREMENT UNCERTAINTY EVALUATION

A. A. Turundaeva, E. A. Mamashina, N. D. Bunyatyan

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

Длительность лечения туберкулеза и риск развития резистентности делают критически важным применение эффективных лекарственных средств. ВОЗ признает изониазид стандартным препаратом для терапии [1], однако в ряде стран, включая Российскую Федерацию, допустимо применение фтивазида [2].

Монография на субстанцию фтивазида моногидрата включена в Государственную фармакопею РФ XV, количественное определение (КО) проводится с применением метода неводного титрования в смеси муравьиной кислоты и уксусного ангидрида с использованием в качестве титранта 0,1 М раствора хлорной кислоты в присутствии индикатора – 0,1 % раствора кристаллического фиолетового[1]. Описанный способ является трудоемким, а также требует получения лицензии на работу с уксусным ангидридом.

Разработана методика КО фтивазида методом ВЭЖХ. Пригодность методики подтверждена валидацией по следующим характеристикам: специфичности, линейности, правильности, прецизионности, робастности. Разработанная методика является быстрым, селективным, высокочувствительным способом КО фтивазида [3].

Особенностью исследования является интеграция в процесс валидации расчета неопределенности измерений.

В ходе исследования оценены вклады всех факторов, влияющих на результат: вариабельности при пробоподготовке и работе хроматографического оборудования, неопределенности, вносимой стандартным образцом и работой оператора[2] [4].

Полученная модель расчета неопределенности измерений позволяет оценить влияние внешних факторов на результат и оптимизировать методику на этапе разработки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сводное руководство ВОЗ по туберкулезу. Модуль 4: лечение. Лечение лекарственно-устойчивого туберкулеза. Пересмотренная редакция 2022 г. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ; 2024. 133 с.
2. Перельман М. И., ред. Фтизиатрия. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 512 с.
3. Высочанская О. Н., Турундаева А. А., Кулешова С. И., Симонова Е. П. Количественное определение фтивазида методом ВЭЖХ. Оценка неопределенности методики. *Химико-фармацевтический журнал.* 2024;58(8):54–59. https://doi.org/10.30906/0023-1134-2024-58-8-54-59

[1] ФС.2.1.0347 Фтивазид моногидрат. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/2/2-1/ftivazid-monogidrat/?sphrase_id=2434623 Ссылка активна на 02.08.2026.

[2] Evaluation of Measurement Uncertainty – Annex 1: Bottom-up approach – Annex 1.3 Estimation of the measurement uncertainty for assay using HPLC method PA/PH/OMCL (18) 148 R2 CORR. Available at: https://www.edqm.eu/en/quality-management-qm-documents Accessed: 10.12.2025.

REFERENCES

1. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment. Drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2024. 133 p. (In Russ.)
2. Perelman M. I., editor. Phthisiology. National guidelines. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. 512 p. (In Russ.)
3. Vysochanskaya O. N., Turundaeva A. A., Kuleshova S. I., Simonova E. P. Quantitative HPLC determination of Ftivazid. Evaluation of the measurement uncertainty. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2024;58(8):54–59. (In Russ.) https://doi.org/10.30906/0023-1134-2024-58-8-54-59

ПРОБЛЕМАТИКА КОМПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В. С. Шуракова, 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

INTEGRATED ANALYSIS OF PLANT-BASED BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

V. S. Shurakova, I. I. Terninko

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

Современная фитохимия и фармацевтический анализ сталкиваются с фундаментальной проблемой, связанной с комплексным фитохимическим характером лекарственного растительного сырья (ЛРС). Ретроспективный анализ литературы показывает, что традиционная этномедицина многих стран использовала растительные лекарственные препараты (РЛП) именно с комбинированной формулой, что обеспечивало суммарный фармакологический эффект и снижало количество негативных реакций, но исследование механизма действия таких продуктов затруднено из-за сложности в понимании синергизма биологически активных веществ (БАВ) [1].

При анализе частных фармакопейных статей (ФС) на ЛРС Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XV издания была проведена систематизация целевых групп БАВ, по которым проводят стандартизацию, и метода для их анализа. Из 41 наименования ФС на ЛРС были выявлены определенные тренды на стандартизацию растительного сырья: ГФ РФ XV издания демонстрирует сочетание традиционных (спектрофотометрия, титриметрия) и современных (высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ, и газовая хроматография, ГХ) методов анализа, адаптированных под конкретные группы действующих веществ. Также стоит обратить внимание, что в действующем издании ГФ РФ стандартизация только 4 видов ЛРС – *Eucalypti viminalis folia, Achilleae millefolii herba, Salviae officinalis folia, Rosae fructus* – проводится по более чем одной группе БАВ. Необходимость изменения традиционного подхода к стандартизации ЛРС в сторону расширения профиля анализируемых компонентов отмечали и на XXV международном съезде «Фитофарм» (г. Санкт-Петербург, 8–10 октября 2025).

Основной проблемой комплексного анализа БАВ в ЛРС в рамках одной методики являются различные пути биосинтеза и, как следствие, структура и физико-химические характеристики различных классов. Так, соединения, образованные по фенилпропаноидному пути (шикиматы), являются преимущественно высоко- и среднеполярными [2], тогда как по мевалоновому пути (ацетаты) образуются вещества с липофильной структурой [3]. Однако зачастую растительные объекты накапливают в равной степени вещества различных биосинтетических путей, что обуславливает необходимость комплексной стандартизации, но различные физико-химические характеристики существенно затрудняют совместный анализ в рамках одной методики, а иногда делают его невозможным. Использование же различных методик для стандартизации одного растительного объекта – ЛРС или РЛП – приводит к значительным ресурсным (временным и экономическим) затратам.

Следовательно, важной фитоаналитической задачей является необходимость нивелирования несовершенства в подходах к стандартизации ЛРС и РЛП и разработка пула аналитических методик для комплексной оценки растительных объектов для оптимизации ресурсных затрат. С этой целью на этапе как первичного скрининга, так и последующей стандартизации нами будет проведен подбор оптимальных способов пробоподготовки сырья и хроматографических условий для совместного определения групп БАВ различных биосинтетических путей (гидроксикоричные кислоты и тритерпеновые сапонины, флавоноиды и стероидные сапонины), после чего будет дана оценка возможности проведения комплексной оценки растительного сырья и алгоритмизация предложенного подхода путем создания дерева принятия решений.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Meng Y., Wang N., Zhou L., Wang Q., Liu Y., Hu S. The synergistic mechanism of total saponins and flavonoids in Notoginseng–Safflower pair against myocardial ischemia uncovered by an integrated metabolomics strategy. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2020;130:110574.

2. Liu W., Feng Y., Yu S., Fan Z., Li X., Li J., Yin H. The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(23):12824. https://doi.org/10.3390/ijms222312824
3. Thimmappa R., Geisler K., Louveau T., O'Maille P., Osbourn A. Triterpene biosynthesis in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2014;65(1):225–257. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120229

РАЗРАБОТКА УВЭЖХ-МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА ПОЛИКОМПОНЕНТНОГО АНТИБИОТИКА КАПРЕОМИЦИНА

И. Ю. Якупов, Н. Е. Кузьмина, Н. Д. Бунятян

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

DEVELOPMENT OF A UHPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF THE COMPOSITION OF THE POLYCOMPONENT ANTIBIOTIC CAPREOMYCIN

I. Y. Yakupov, N. E. Kuz'mina, N. D. Bunyatyan

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (SCEEMP). 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

Многокомпонентный полипептидный антибиотик природного происхождения капреомицин представляет собой смесь четырех родственных соединений (капреомицинов IA, IB, IIA и IIB). Контроль качества препарата проводят по показателю «капреомицин I», не учитывая индивидуальные вклады капреомицинов IA и IB в биологическую активность [1, 2]. При этом отсутствует корреляция между суммарным содержанием компонентов капреомицина IA и IB и его активностью, определяемой микробиологическими методами[1]. Актуальна разработка методики селективного определения содержания капреомицинов IA и IB.

Фармакопейным методом определения содержания компонентов в капреомицине является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Фармакопейная методика не позволяет полностью разделять основные и примесные компоненты капреомицина. Нами разработана ультра-ВЭЖХ (УВЭЖХ) методика оценки компонентного состава капреомицина с использованием УВЭЖХ-колонок. В отличие от фармакопейной, данная методика позволила исключить влияние на результат присутствия примесей.

В работе использовались УВЭЖХ-колонки BEH C18, CSH C18. Подвижная фаза – смесь ацетонитрила и фосфатного буферного раствора с pH 2,3, содержащего натрия гексансульфонат. Разработанная методика позволяет разделять компоненты капреомицина (IA, IB, IIA, IIB) и его примеси, идентифицированные с использованием растворов искусственного разложения [3]. Подобранные условия проведения анализа позволяют использовать данную методику на обычном ВЭЖХ-хроматографе с допустимым давлением системы не более 400 бар. Сравнительная оценка результатов компонентного состава капреомицина методами УВЭЖХ и методом ^{13}C-ЯМР не выявила статистически значимой разницы, что свидетельствует о пригодности разработанной методики количественного определения компонентов капреомицина [4].

[1] Fifty-first report of the WHO Expert Committee on specifications for pharmaceutical preparations. Geneva: World Health Organization; 2017 (WHO technical report series; No. 1003).

ЛИТЕРАТУРА

1. Monograph Capreomycin sulfate. United States Pharmacopeia. USP43-NF38. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2023.
2. Monograph Capreomycin sulfate. Pharmacopoeia of the peoples republic of China. Volume II. Beijing: China Medical Science Pres; 2020; P. 287–288.
3. Якупов И. Ю., Кулешова С. И., Симонова Е. П., Демидов А. С. Применение ион-парной хроматографии для определения компонентов и родственных примесей капреомицина сульфата. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(2–1):271–282. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-451
4. Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Якупов И. Ю., Кулешова С. И. Идентификация капреомицинов IA и IB и количественная оценка отношения их содержания в лекарственных препаратах капреомицина методами ЯМР спектроскопии. *Антибиотики и Химиотерапия*. 2025;70(7–8):68–73. https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-68-73

REFERENCES

1. Monograph Capreomycin sulfate. United States Pharmacopeia. USP43-NF38. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2023.
2. Monograph Capreomycin sulfate. Pharmacopoeia of the peoples republic of China. Volume II. Beijing: China Medical Science Pres; 2020; P. 287–288.
3. Yakupov I. Yu., Kuleshova S. I., Simonova E. P., Demidov A. S. Ion-Pair Chromatography for the Determination of Capreomycin Sulfate Components and Related Substances. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(2–1):271–282. (In Russ.) https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-451

4. Kuz'mina N. E., Moiseev S. V., Yakupov I. Y., Kuleshova S. I. Capreomycin IA and IB Identification and Their Content Ratio Quantification in Capreomycin Pharmaceutical Preparations Using NMR Spectroscopic Methods. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2025;70(7–8):68–73. (In Russ.) https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-68-73

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЯМ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ИННОВАЦИОННОГО ИНСУЛИНА СВЕРХДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

Ю. Д. Яцковская

Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики». 117149, Россия, г. Москва, ул. Симферопольский бульвар, д. 8

ANALYTICAL APPROACHES TO PHARMACOKINETIC STUDIES OF AN INNOVATIVE ULTRA-LONG-ACTING INSULIN

Yu. D. Yatskovskaya

Limited Liability Company "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"). 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia

Сахарный диабет – одно из самых распространенных, опасных и социально значимых хронических заболеваний в мире. На сегодняшний день препараты инсулина являются основой терапии сахарного диабета первого типа и важным компонентом лечения диабета второго типа. Инсулин сверхдлительного действия (СД) – это инновационный препарат, обеспечивающий базальный уровень глюкозы в крови на протяжении длительного времени. Целью работы стала разработка методики количественного определения инсулина сверхдлительного действия в сыворотке крови человека, ее оптимизация, валидация и последующее применение в исследовании фармакокинетики.

Инсулин СД представляет собой сложную молекулу, состоящую из двух основных компонентов – инсулина, направленного на имитацию фоновой секреции инсулина, и фрагмента моноклонального антитела, обеспечивающего длительность действия препарата.

Была разработана специфичная тест-система, позволяющая определить концентрацию целой молекулы, а не только ее инсулиновой части. Специфичность данной методики была обеспечена антителами для иммобилизации на планшет и конъюгатами. Принципиальная схема определения инсулина сверхдлительного действия методом ИФА представлена на рисунке 1.

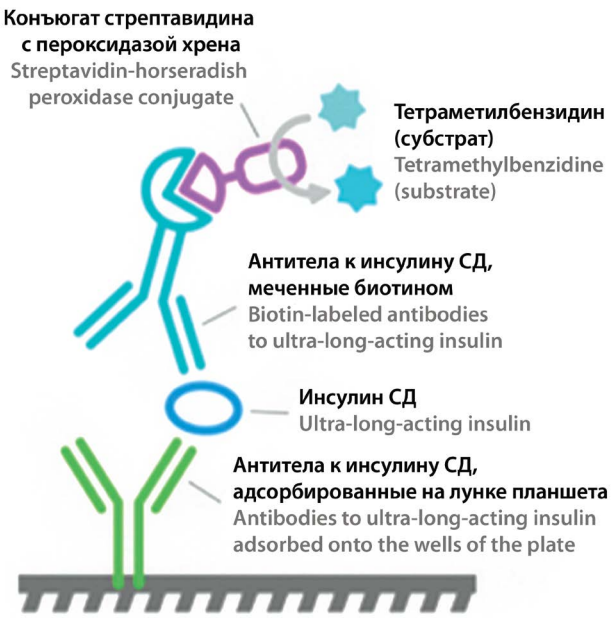


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Принципиальная схема определения инсулина СД методом ИФА

Figure 1. Schematic diagram of determination of ultra-long-acting insulin by ELISA

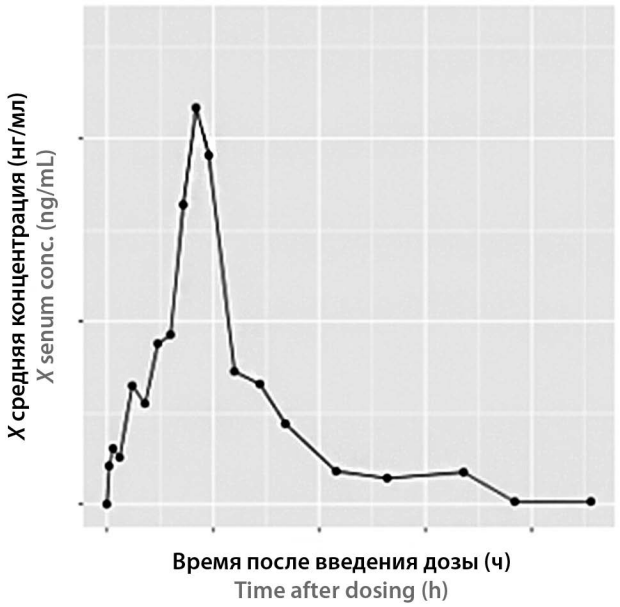


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Индивидуальный фармакокинетический профиль инсулина сверхдлительного действия (24,1 мг/мл)

Figure 2. Individual pharmacokinetic profile of ultra-long-acting insulin (24.1 mg/mL)

Оптимизация протокола ИФА – это очень важный и трудоемкий процесс. Оптимизация методики требует внимательного подбора реагентов и материалов, установления оптимального pH буферных систем, а также определения концентраций критически важных реагентов и параметров анализа. ИФА-протокол, разработанный для методики определения инсулина СД, включал в себя такие этапы, как покрытие планшета поликлональными антителами кролика к инсулину СД, инкубация при температуре 37 °C, внесение растворов конъюгатов (с биотином и стрептавидином), промывка планшета, внесение субстрата и стоп-реагента, а также измерение оптической плотности.

Была проведена полная валидация разработанной ИФА-методики согласно требованиям решения № 85 Совета ЕЭК от 03.11.2016. Методика была валидирована по параметрам «специфичность», «селективность», «эффект переноса», «минимально необходимое разведение», «калибровочная кривая», «правильность», «прецизионность», «линейность разведения», «параллелизм» и «стабильность». В ходе валидации было установлено, что все параметры соответствуют критериям приемлемости, и, следовательно, данная методика может быть использована для исследования фармакокинетики инсулина СД.

Методика была успешно применена для измерения концентрации препарата инсулина сверхдлительного действия в сыворотке крови человека. Индивидуальный фармакокинетический профиль инсулина СД представлен на рисунке 2.

Разработанная ИФА-методика продемонстрировала свою эффективность и может быть в дальнейшем применена для исследований фармакокинетики инсулина СД.

РЕСТЭК
организатор

6–8
апреля 2027

IPhEB

XVII
международная выставка и форум
ПО ФАРМАЦЕВТИКЕ И БИОТЕХНОЛОГИЯМ

Санкт–Петербург

GOTOIPHEB.RU

КВЦ «Экспофорум»

Минпромторг России

СПХФУ

ОМЕКС дизайн

https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-316

Check for updates

CC BY 4.0

Полуколичественная методика определеления производных кумарина в объектах различного происхождения

В. С. Шуракова, Е. С. Кириллова, В. А. Тихомиров, Е. С. Сурбеева, И. И. Тернинко

Разработка и регистрация лекарственных средств. 2025;14(4):174–182. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207 Статья опубликована: 28.11.2025.

На странице 174 в исходную версию статьи была внесена правка в загловок статьи.
Вместо: Полуколичественная методика определеления производных кумарина в объектах различного происхождения
Исправлено на: Полуколичественная методика определения производных кумарина в объектах различного происхождения

На странице 175 в исходную версию статьи в раздел " **Для цитирования**" была внесена правка.
Вместо: Для цитирования: Шуракова В. С., Кириллова Е. С., Тихомиров В. А., Сурбеева Е. С., Тернинко И. И. Полуколичественная методика определеления производных кумарина в объектах различного происхождения. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):174–182. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207
Исправлено на: Для цитирования: Шуракова В. С., Кириллова Е. С., Тихомиров В. А., Сурбеева Е. С., Тернинко И. И. Полуколичественная методика определения производных кумарина в объектах различного происхождения. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(4):174–182. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207

Внесение исправление не повлияло на содержание статьи.

Обновлена онлайн-версия статьи на сайте журнала.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

В своей редакционной политике журнал следует принципам целостности публикаций в научных журналах, соответствующим положениям авторитетных международных ассоциаций, таких как Committee on Publication Ethics (COPE), Council of Science Editors (CSE), International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), European Medical Writers Association (EMWA) и World Association of Medical Editors (WAME), устанавливающих стандарты этичного поведения всех вовлеченных в публикацию сторон (авторов, редакторов журнала, рецензентов, издательства и научного общества). Журнал с помощью всестороннего, объективного и честного рецензирования стремится отбирать для публикации лишь материалы, касающиеся научных исследований наивысшего качества.

Научно-практический журнал общемедицинского профиля **«Разработка и регистрация лекарственных средств»** является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты передовых исследований фармацевтической отрасли.

Журнал публикует оригинальные и обзорные научные статьи по темам:

- поиск и разработка новых лекарственных средств;
- фармацевтическая технология;
- методы анализа лекарственных средств;
- доклинические и клинические исследования;
- регуляторные вопросы.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале **«Разработка и регистрация лекарственных средств»**, должно соответствовать науке:

- 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки, фармацевтические науки, биологические науки);
- 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки);
- 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Публикуемые материалы должны соответствовать следующим критериям:

- Научная актуальность и значимость проблемы, которой посвящена статья (тематика статьи должна представлять интерес для широкого круга исследователей, занимающихся разработкой и регистрацией лекарственных средств).
- Высокая степень доказательности (современная исследовательская база, наличие сертификатов на оборудование, достаточный объем выборок и подходы к математической обработке результатов исследования).
- Концептуальный характер исследования (авторы не должны ограничиваться констатацией фактов, необходим анализ полученного материала с учетом данных литературы, должны быть высказаны новые идеи и гипотезы).

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

1. К рассмотрению принимаются материалы только в электронном виде, направленные в редакцию через систему на сайте в формате .doc или .docx (незащищенный формат файлов).
2. Рассматриваются только оригинальные материалы, ранее не публиковавшиеся и не нарушающие авторские права других лиц. Все статьи проходят проверку в системе «Антиплагиат»; уникальность текста статьи должна составлять не менее 75 %. При выявлении подобных текстов одного и того же автора в других печатных и электронных изданиях, статья снимается с публикации.
3. Согласно требованиям Высшей аттестационной комиссии, журнал отдает приоритет аспирантским и докторским работам, срок их публикации зависит от предполагаемой даты защиты, которую авторы должны указать в первичных документах, прилагаемых к рукописи.
4. Авторы должны заполнить и подписать Сопроводительное письмо, отсканировать и загрузить при подаче рукописи в редакцию (в формате *.pdf или *.jpg).

ПОРЯДОК ПУБЛИКАЦИИ РУКОПИСЕЙ

1. Рукопись обязательно проходит первичный отбор на соответствие оформления статьи согласно требованиям журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств». В случае несоответствия правилам оформления Редакция вправе отказать в публикации или прислать свои замечания к статье, которые должны быть исправлены Автором перед рецензированием.
2. Все рукописи, прошедшие первичный отбор, направляются по профилю научного исследования на экспертизу и проходят обязательное конфиденциальное рецензирование. Все рецензенты являются признанными специалистами, имеющими публикации по тематике рецензируемой статьи в течение последних 3 лет или в области обработки данных. Рецензирование проводится конфиденциально как для Автора, так и для самих рецензентов. При получении положительных рецензий работа считается принятой к рассмотрению редакционной коллегией, которая выносит решение, в каком номере журнала будет опубликована статья.
3. Все утвержденные статьи поступают в работу к редактору и корректору.

   Окончательный макет статьи согласовывается с автором.

ЕДИНЫЕ ТРЕБОВАНИЯ К РУКОПИСЯМ, ПРЕДСТАВЛЯЕМЫМ В ЖУРНАЛ «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Составлены с учетом требований Высшей аттестационной комиссии РФ и «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов.

Оригинальную версию «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов, можно посмотреть на сайте www.ICMJE.org

Проведение и описание всех клинических исследований должно быть в полном соответствии со стандартами CONSORT – http://www.consort-statement.org

ОБЩИЕ ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

Электронный вариант статьи прилагается в формате А4 Microsof Word (*doc), Поля 2 см, шрифт Times New Roman, размер шрифта 14 пунктов через 1,5 интервала.

Объем рукописи: обзор – 15–20 страниц; оригинальные статьи – 10–12 страниц, включая литературу, таблицы и подписи к рисункам. Страницы рукописи следует нумеровать.

Перечень документов, подаваемый на рассмотрение в редакцию журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств», должен включать в себя:

1. Сопроводительное письмо.
2. Текст статьи.

1. СОПРОВОДИТЕЛЬНОЕ ПИСЬМО

Авторы должны предоставить заполненное и подписанное сопроводительное письмо, приложив к нему указанные в тексте письма документы.

2. РУКОПИСЬ

РУССКОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Титульный лист:

1. УДК;
2. название статьи;
3. фамилии и инициалы авторов;
4. полные названия учреждений (надстрочными арабскими цифрами отмечают соответствие учреждений, в которых работают авторы), полный почтовый адрес учреждений;
5. e-mail и телефон автора, ответственного за контакты с редакцией
6. ORCID всех авторов статьи.

Резюме и ключевые слова

Объем резюме должен составлять 250–300 слов.

Резюме оригинальной статьи должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Цель (цель работы в сжатой форме).

Материалы и методы (методы исследования, если необходимо, то указать их преимущества по сравнению с ранее применявшимися методическими приемами; характеристика материала).

Результаты (основные результаты исследования).

Заключение (основные выводы).

Резюме обзорной статьи также должно быть структурированным:

Введение (введение работы в сжатой форме).

Текст (описание содержания текста статьи в сжатой форме)

Заключение (основные выводы).

Все аббревиатуры в резюме необходимо раскрывать (несмотря на то, что они будут раскрыты в основном тексте статьи). Текст резюме должен быть связанным, с использованием слов «следовательно», «например», «в результате».

На сайте британского издательства Emerald приведены примеры качественных рефератов для различных типов статей (обзоры, научные статьи, концептуальные статьи, практические статьи – http://www.emeraldinsight.com/authors/guides/write/abstracts.htm?part=2&PHPSESSID=hdac5rtkb73ae013ofk4g8nrv1)

Ключевые слова: (5–8) помещают под резюме после обозначения «Ключевые слова». Ключевые слова должны использовать термины из текста статьи, определяющие предметную область и способствующие индексированию статьи в поисковых системах, и не повторять название статьи.

Вклад авторов. Авторы должны написать информацию о их вкладе в работу (пример: Авторы X1, X2 и X3 придумали и разработали эксперимент, авторы X4 и X5 синтезировали образцы и провели их электрохимическое исследование. X3 и X4 провели исследования методом спектроскопии комбинационного рассеяния и ЯМР. Авторы X1 и X6 участвовали в обработке данных. Автор X7 проводил теоретические расчеты. Авторы X1, X2 и X7 участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов).

АНГЛОЯЗЫЧНЫЙ БЛОК

Article title

Англоязычное название должно быть грамотно с точки зрения английского языка, при этом по смыслу полностью соответствовать русскоязычному названию.

Affiliation

Необходимо указывать официальное англоязычное название учреждения и почтовый адрес. Наиболее полный список названий учреждений и их официальной англоязычной версии можно найти на сайте РУНЭБ: http://elibrary.ru

Образец оформления

Mental Health Research Institute

4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

Abstract

Резюме статьи на английском языке должно по смыслу и структуре (для оригинальной статьи: Introduction, Aim, Materials and methods, Results and discussion, Conclusion; для обзорной статьи: Introduction, Text, Conclusion) соответствовать русскоязычному, по содержанию может быть более полным. Необходимо использовать активный, а не пассивный залог. Во избежание искажения основных понятий желательно иметь соответствующие английские термины. Это особенно важно, когда приводятся названия особых заболеваний, синдромов, упоминаются авторы или конкретные методы.

Keywords

Для выбора ключевых слов на английском языке следует использовать тезаурус Национальной медицинской библиотеки США – Medical Subject Headings (MeSH).

Contribution of the authors. Вклад авторов на английском языке должен соответствовать русскоязычному.

ОСНОВНОЙ ТЕКСТ

Оригинальные статьи должны иметь следующую структуру: а) введение; б) материалы и методы; в) результаты; г) обсуждение; д) заключение.

Обзорные статьи должны иметь следующую структуру а) введение; б) текст; д) заключение.

Текст обзорной статьи следует разделять на соответствующие содержанию статьи подразделы.

Должен быть переведен текст в таблицах и в рисунках. Текст должен быть и на русском, и на английском языках.

Введение

В разделе дается обоснование актуальности исследования и четко формулируется цель исследования.

Материалы и методы

Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии — группировочного или химического названия. Международные непатентованные названия фармацевтических субстанций и торговые наименования лекарственных средств необходимо оформлять в соответствии с Государственным реестром лекарственных средств (grls.rosminzdrav.ru). При описании в работе результатов клинических исследований необходимо привести номер и дату разрешения на проведение клинического исследования согласно Реестру выданных разрешений на проведение клинических исследований лекарственных препаратов.

При описании используемых общелабораторных реактивов следует приводить их наименование, класс чистоты, фирму-производителя и страну происхождения [пример: хлористоводородная кислота, х.ч. (Сигма Тек, Россия)]. При описании специфических импортных реактивов [пример: из каталога Sigma-Aldrich] необходимо дополнительно приводить каталожный номер реактива.

При описании исследуемых лекарственных средств необходимо приводить их торговое наименование, фирму-производителя, страну происхождения, серию и срок годности [пример: Синдранол таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой 4 мг, производства ФАРМАТЕН С.А., Греция, серия 1100638, срок годности до 05.2013].

При описании используемых стандартных образцов необходимо приводить количественное содержание активного вещества в стандартном образце, фирму-производитель, страну происхождения, серию и срок годности [пример: римантадина гидрохлорид, субстанция-порошок, содержание римантадина 99,9 %, Чжецзян Апелоа Кангю Фармацеутикал Ко.Лтд, Китай, серия KY-RH-M20110116, годен до 27.01.2016 г.].

При описании используемого аналитического оборудования необходимо указывать его название, фирму-производителя и страну происхождения [пример: прибор для теста «Растворение» DT-720 (Erweka GmbH, Германия)].

При описании используемого программного обеспечения необходимо указывать его название, версию, фирму-производителя, страну происхождения [пример: ChemStation (ver. B.04.03), Agilent Technologies, США].

При приведении в работе первичных данных аналитических исследований (спектров, хроматограмм, калибровочных графиков) их необходимо приводить в цвете, в прослеживаемом формате, с четкими, разборчивыми подписями осей, пиков, спектральных максимумов и т. д.). Названия лекарственных средств следует писать со строчной буквы на русском языке с обязательным указанием международного непатентованного названия, а при его отсутствии – группировочного или химического названия.

Числовые данные необходимо указывать цифрами, в десятичных дробях использовать запятые. Математические и химические формулы писать четко, с указанием на полях букв алфавита (русский, латинский, греческий), а также прописных и строчных букв, показателей степени, индексов. К статье может быть приложено необходимое количество таблиц и рисунков. Все таблицы и рисунки должны иметь номер и название, текст статьи должен содержать ссылку на них.

Рукописи статей, в которых при достаточном объеме экспериментальных данных отсутствует статистический анализ, а также некорректно использованы или описаны применяемые статистические методы, могут быть отклонены редакцией журнала.

Необходимо давать определение всем используемым статистическим терминам, сокращениям и символическим обозначениям. Например: M – выборочное среднее; m – ошибка среднего; σ – стандартное квадратичное отклонение; p – достигнутый уровень значимости и т.д. Если используется выражение типа $M \pm m$, указать объем выборки n. Если используемые статистические критерии имеют ограничения по их применению, указать, как проверялись эти ограничения и каковы результаты проверок. При использовании параметрических критериев описывается процедура проверки закона распределения (например, нормального) и результаты этой проверки.

Точность представления результатов расчетных показателей должна соответствовать точности используемых методов измерения. Средние величины не следует приводить точнее, чем на один десятичный знак по сравнению с исходными данными. Рекомендуется проводить округление результатов (средних и показателей вариабельности) измерения показателя до одинакового количества десятичных знаков, так как их разное количество может быть интерпретировано как различная точность измерений.

Согласно современным правилам, рекомендуется вместо термина «достоверность различий» использовать термин «уровень статистической значимости различий». В каждом конкретном случае рекомендуется указывать фактическую величину достигнутого уровня значимости p для используемого статистического критерия. Если показатель может быть рассчитан разными методами и они описаны в работе, то следует указать, какой именно метод расчета применен (например, коэффициент корреляции Пирсона, Спирмена, бисериальный и т. п.).

Результаты и обсуждение

В разделе в логической последовательности представляются результаты исследования в виде текста, таблиц или рисунков (графики, диаграммы). Следует избегать повторения в тексте данных из таблиц или рисунков. В качестве альтернативы таблицам с большим числом данных используются графики. На графиках и диаграммах рекомендуется указывать доверительный интервал или квадратичное отклонение. На графиках обязательно должны быть подписи и разметка осей, указаны единицы измерений.

В разделе следует выделить новые и важные аспекты результатов проведенного исследования, проанализировать возможные механизмы или толкования этих данных, по возможности сопоставить их с данными других исследователей. Не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации и возможное применение полученных результатов в предстоящих исследованиях.

В обзорных статьях рекомендуется описать методы и глубину поиска статей, критерии включения найденных материалов в обзор.

Заключение

В разделе представляются сформулированные в виде выводов результаты решения проблемы, указанной в заголовке и цели статьи. Не следует ссылаться на незавершенную работу. Выводы работы должны подтверждаться результатами проведенного статистического анализа, а не носить декларативный характер, обусловленный общими принципами.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Указать наличие так называемого конфликта интересов, то есть условий и фактов, способных повлиять на результаты исследования (например, финансирование от заинтересованных лиц и компаний, их участие в обсуждении результатов исследования, написании рукописи и т. д.).

При отсутствии таковых использовать следующую формулировку: «Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи».

Источник финансирования

Необходимо указывать источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.). Указывать размер финансирования не требуется. При отсутствии источника финансирования использовать следующую формулировку: «Авторы заявляют об отсутствии финансирования».

Соответствие принципам этики

Научно-исследовательские проекты с участием людей должны соответствовать этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все лица, участвующие в исследовании, должны дать информированное согласие на участие в исследовании. Для публикации результатов оригинальной работы необходимо указать, подписывали ли участники исследования информированное согласие.

Научно-исследовательские проекты, требующие использования экспериментальных животных, должны выполняться с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации

В обоих случаях необходимо указать, был ли протокол исследования одобрен этическим комитетом (с приведением названия соответствующей организации, номера протокола и даты заседания комитета).

Благодарности

Все члены коллектива, не отвечающие критериям авторства, должны быть перечислены с их согласия с подзаголовком «Выражение признательности».

ССЫЛКИ В ТЕКСТЕ СТАТЬИ

В журнале применяется **ванкуверский стиль цитирования**: в списке литературы ссылки нумеруются в порядке упоминания в тексте (независимо от языка, на котором дана работа), а не по алфавиту. Библиографические ссылки в тексте статьи обозначаются цифрами в квадратных скобках (ГОСТ Р 7.0.5-2008).

Библиографическая информация должна быть современной, авторитетной и исчерпывающей. Ссылки должны даваться на первоисточники и не цитировать один обзор, где они были упомянуты. Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами.

Каждый научный факт должен сопровождаться отдельной ссылкой на источник. Если в одном предложении упоминается несколько научных фактов, после каждого из них ставится ссылка (не в конце предложения). При множественных ссылках они даются в порядке хронологии [5–9]. Необходимо убедиться в том, что все ссылки, приведенные в тексте, присутствуют в списке литературы (и наоборот).

Не следует ссылаться: на неопубликованные статьи, на диссертации, а также авторефераты диссертаций, правильнее ссылаться на статьи, опубликованные по материалам диссертационных исследований.

Следует избегать ссылок на тезисы и статьи из сборников трудов и материалов конференций, поскольку их названия по требованию зарубежных баз данных должны быть переведены на английский язык. Еще не опубликованные, но принятые к печати статьи указываются «в печати» или «готовится к выходу», с добавлением письменного разрешения автора и издательства.

Недопустимо самоцитирование, кроме случаев, когда это необходимо (в обзоре литературы не более 3–5 ссылок).

Документы (приказы, ГОСТы, медико-санитарные правила, методические указания, положения, постановления, санитарно-эпидемиологические правила, нормативы, федеральные законы) нужно указывать в скобках в тексте.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Список литературы под заголовком **Литература/References** размещается в конце статьи и включает библиографическое описание всех работ, которые цитируются в тексте статьи.

Библиографические списки составляются с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals). Правильное описание используемых источников в списках литературы является залогом того, что цитируемая публикация будет учтена при оценке научной деятельности ее авторов и организаций, где они работают.

Учитывая требования международных систем цитирования, библиографические списки входят в англоязычный блок статьи и, соответственно, должны даваться не только на языке оригинала, но и в романском алфавите (латинскими буквами). Поэтому авторы статей должны представлять англоязычные источники латиницей, а русскоязычные – кириллицей и в романском алфавите. Транслитерируются фамилии авторов и русскоязычные названия источников (выделяется курсивом). Переводятся на английский язык названия статей, монографий, сборников статей, конференций с указанием после выходных данных языка источника (In Russ.). Название русскоязычных журналов в REFERENCES дается в *транслитерации, затем ставится знак = и дается английское название журнала* (не нужно самостоятельно переводить русское название журнала на английский язык, можно указать лишь ту версию названия на английском языке, которая, как правило, имеется на англоязычном сайте этого журнала. Если же ее нет, можно ограничиться транслитерацией).

Технология подготовки описания с использованием системы автоматической транслитерации и переводчика на сайте http://www.translit.ru

1. Войти на сайт translit.ru. В окошке «варианты» выбрать систему транслитерации BGN (Board of Geographic Names). Вставить в специальное поле ФИО авторов, название издания на русском языке и нажать кнопку «в транслит».
2. Копировать транслитерированный текст в готовящийся список.
3. Перевести с помощью переводчика Google название книги, статьи на английский язык, перенести его в готовящийся список. Перевод, безусловно, требует редактирования, поэтому данную часть необходимо готовить человеку, понимающему английский язык.
4. Объединить транслитерируемое и переводное описания, оформляя в соответствии с принятыми правилами.

5. В конце описания в круглых скобках указывается (In Russ.).

Образец оформления списка литературы

Литература/References

1. Литература

Насырова Р. Ф., Иванов М. В., Незнанов Н. Г. Введение в психофармакогенетику. СПб.: Издательский центр СПб НИПНИ им. В. М. Бехтерева; 2015. 272 с.

References

Nasyrova R. F., Ivanov M. V., Neznanov N. G. *Vvedenie v psikhofarmakogenetiku* [Introduction to psychophar-macogenetics]. St. Petersburg: Izdatel'skiy tsentr SPb NIPNI im. V. M. Bekhtereva; 2015. 272 p. (In Russ.).

2. Литература

Колесник А. П. Прогностическое значение экспрессии p53 у больных с ранними стадиями немелкоклеточного рака легкого. *Онкология*. 2013;15(1):20–23

References

Kolesnik A. P. Prognostic value of p53 expression in patients with early non-small cell lung cancer. *Onkologiya*. 2013;15(1):20–23. (In Russ.).

3. Литература

Шульженко М. Г., Василенко И. А., Уграк Б. И., Шохин И. Е., Медведев Ю. В., Малашенко Е. А. Сравнительный анализ методов определения подлинности субстанции-порошок «Даларгин». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(3):111–117DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

References

Shulzhenko M. G., Vasilenko I. A., Ugrak B. I., Shohin I. E., Medvedev Yu. V., Malashenko E. A. Comparative analysis of methods for determining the authenticity of the substance – «Dalargin» inquiry. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(3):111–117. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2020-9-3-111-117.

4. Литература/References

Üçok A., Gaebel W. Side effects of atypical antipsychotics: a brief overview. *World Psychiatry*. 2008;7(1):58–62. DOI: 10.1002/j.2051-5545.2008.tb00154.x.

5. Литература/References

Cornier M. A., Dabelea D., Hernandez T. L., Lindstrom R. C., Steig A. J., Nicole R. S., Van Pelt R. E., Wang H., Eckel R. H. The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*. 2008;29(7):777–822. DOI: 10.1210/er.2008–0024.

В библиографическом описании каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. Список литературы должен соответствовать формату, рекомендуемому Американской Национальной Организацией по Информационным стандартам (National Information Standards Organisation – NISO), принятому National Library of Medicine (NLM) для баз данных (Library's MEDLINE/PubMed database) NLM: http://www. nlm.nih.gov/citingmedicine.

Названия периодических изданий могут быть написаны в сокращенной форме в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine (NLM Catalog). Обычно эта форма написания самостоятельно принимается изданием; ее можно узнать на сайте издательства либо в списке аббревиатур Index Medicus. Если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название. Названия отечественных журналов сокращать нельзя. Недопустимо сокращать название статьи.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Монографии

Выходные данные указываются в следующей последовательности: фамилия и инициалы автора (авторов), название монографии (полностью раскрывая все слова), номер повторного издания, место издания (город), издательство, год издания, количество страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Соколова Г. Н., Потапова В. Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. М.: Анахарсис; 2009. 328 с.

References

Sokolova G. N., Potapova V. B. *Kliniko-patogeneticheskie aspekty yazvennoy bolezni zheludka* [Clinical and pathogenetic aspects of gastric ulcer]. Moscow: Anacharsis; 2009:328 p. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Jenkins P. F. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.

Статья из журнала

Выходные данные указываются в следующей последовательности: автор(ы) (фамилии и инициалы всех авторов). Название статьи. Название журнала (курсивом). Год; том (в скобках номер журнала): цифры первой и последней страниц.

Образец оформления

Для русскоязычных источников

Литература

Шишкин С. В., Мустафина С. В., Щербакова Л. В., Симонова Г. И. Метаболический синдром и риск инсульта в популяции Новосибирска. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2014;13(3):53–57.

References

Shishkin S. V., Mustafina S. V., Shcherbakova L. V., Simonova G. I. Metabolic syndrome and risk of stroke in the population of Novosibirsk. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2014;13(3):53–57. (In Russ.).

Для англоязычных источников

Dickerson F. B., Brown C. H., Kreyenbulh J. A., Fang L., Goldberg R. W., Wohlheiter K., Dixon L.B . Obesity among individuals with serious mental illness. Acta Psychiatr Scand. 2006;113(4):306–313. DOI: 10.1111/j.1600-0447.2005.00637.x.

Варианты библиографического описания материалов конференций: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7272/

Варианты библиографического описания патентов: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7260/

Варианты библиографического описания ресурсов удаленного доступа: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7274/

DOI

Во всех случаях, когда у цитируемого материала есть цифровой идентификатор Digital Object Identifier (DOI), его необходимо указывать в самом конце библиографической ссылки. Проверять наличие DOI статьи следует на сайте http://search.crossref.org/ или https://www. citethisforme.citethisforme.com.

Для получения DOI нужно ввести в поисковую строку название статьи на английском языке. Данный сайт, помимо DOI, автоматически генерирует правильно оформленное библиографическое описание статьи на английском языке в стиле цитирования AMA. Подавляющее большинство зарубежных журнальных статей с 2000 г. и многие русскоязычные статьи (опубликованные после 2013 г.) зарегистрированы в системе CrossRef и имеют уникальный DOI. За достоверность и правильность оформления представляемых библиографических данных авторы несут ответственность вплоть до отказа в праве на публикацию.

ТАБЛИЦЫ И РИСУНКИ

Таблицы и рисунки должны быть представлены на русском и английском языках.

Таблицы

Таблицы следует помещать в текст статьи, они должны иметь нумерованный заголовок на русском и английском языке и четко обозначенные графы, удобные и понятные для чтения. Данные таблицы должны соответствовать цифрам в тексте, однако не должны дублировать представленную в нем информацию.

Ссылки на таблицы в тексте обязательны. Для сноски применяется символ *. Если используются данные из другого опубликованного или неопубликованного источника, должно быть полностью приведено его название.

Рисунки

Все рисунки (диаграммы, фотографии) нумеруются. В тексте должна быть ссылка на соответствующий рисунок.

Каждый рисунок должен сопровождаться подрисуночной подписью на русском и английском языках. В подрисуночных подписях не должно быть аббревиатур. Внутририсуночные обозначения подписываются цифрами или латинскими буквами.

Если рисунки ранее уже публиковались, необходимо указать оригинальный источник, представить письменное разрешение на их воспроизведение от держателя прав на публикацию.

Список подрисуночных подписей на русском и английском языках размещается в конце статьи.

Рисунки представляются отдельными файлами в формате *tif, *jpg, *cdr, *ai. с разрешением не менее 300 dpi.

Каждый файл именуется по фамилии первого автора и номеру рисунка.

научно-производственный журнал

РРЛС

разработка и регистрация лекарственных средств

Журнал является Open Access изданием со свободным бесплатным доступом к научным трудам ученых, с которыми читатель может ознакомиться в интернете.

Журнал предназначен для фармацевтических предприятий-производителей и их сотрудников из отделов разработки, контроля качества, регистрации, производства и развития; сотрудников лабораторных центров, контрактно-исследовательских организаций, научных и образовательных учреждений.

Основные пять тематических разделов журнала «Разработка и регистрация лекарственных средств» включают цикл развития лекарственного средства от его создания до получения регистрационного удостоверения.

Наименование и содержание научных работ, публикуемых в журнале «Разработка и регистрация лекарственных средств», соответствует отраслям науки:

- ✓ 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки, фармацевтические науки, биологические науки).
- ✓ 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств (фармацевтические науки).
- ✓ 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки).

Журнал индексируется в ведущих научных базах:

- ✓ Scopus (Q3).
- ✓ Российский индекс научного цитирования (РИНЦ).
- ✓ Высшая аттестационная комиссия (ВАК).
- ✓ А также ВИНИТИ, Академия Google (Google Scholar), СОЦИОНЕТ, Base, РГБ, Lens.

Издательские услуги:

Английский перевод статей

- ➢ Услуга комплексного перевода.
- ➢ Производство англоязычной статьи, включающее верстку и научный перевод.

Специальный выпуск журнала

- ➢ При заключении договора сотрудничества возможна публикации специального выпуска журнала.

Специальный выпуск, посвященный 10-летию ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России», был выпущен номером Том 10, № 4 (2021).

Журнал является **Open Access** изданием со свободным бесплатным доступом к научным трудам ученых, с которыми читатель может ознакомиться в интернете.

Основатель журнала и главный редактор – д. фарм. н., генеральный директор ООО «Центр Фармацевтической Аналитики» **Шохин Игорь Евгеньевич**

По вопросам сотрудничества просьба обращаться на почту: **info@cpha.ru**

научно-производственный журнал

РРЛС

разработка и регистрация лекарственных средств

Электронный журнал

Печатный журнал

Информационный ресурс

Фармацевтический журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств»

Наша аудитория:

Среди наших читателей специалисты и руководители отделов разработки ЛС, контроля и обеспечения качества, специалисты по ДКИ, КИ, отделов регистрации, сотрудники аналитических лабораторий, технологи, инженеры, а также топ-менеджмент фармацевтических компаний.

Разделы журнала:

- Поиск и разработка новых лекарственных средств.
- Фармацевтическая технология.
- Методы анализа лекарственных средств.
- Доклинические и клинические исследования.
- Регуляторные вопросы.

Аудитория **10 000+**
Нас читают **Россия, СНГ**

Партнер ключевых мероприятий отрасли

Периодичность выхода журнала **4 раза в год**

Распространяется **бесплатно**

Мы в Telegram

По вопросам сотрудничества

info@pharmjournal.ru
info@chpa.ru