



Изучение возможности применения метформина при интраназальном введении для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций половозрелых крыс

Хафизова А. З., Семина И. И.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Метформин — противодиабетическое средство в терапии сахарного диабета 2-го типа, обладающего комплексом фармакологических эффектов, которые могут позволить применять его в качестве геропротектора и средства для лечения когнитивных и поведенческих нарушений. Метформин при пероральном применении имеет низкую биодоступность (50–60 %), а также риск развития побочных эффектов, что является обоснованием для изучения интраназального пути введения метформина.

Цель. Исследование поведенческих эффектов метформина при интраназальном введении как обоснование для разработки его интраназальной лекарственной формы.

Материалы и методы. Объект исследования — метформин, применяемый интраназально (и/н) крысам в дозе 70 мг/кг. Для сравнения был использован внутрижелудочный (в/ж) путь введения (70 мг/кг). После 30-дневного и/н и в/ж введения метформина крысам проведены поведенческие тесты: «Т-лабиринт», «Водный лабиринт Морриса», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), а также «Экстраполяционное извлечение» (ЭПИ). Для статистической обработки был использован t-критерий Стьюдента в программе Graph pad Prism 8.0.1.

Результаты. При и/н введении отмечалось снижение латентного периода выбора рукава в 5,6 раза ($p = 0,022$), а при в/ж — в 4,3 раза ($p = 0,046$) по сравнению с контролем в тесте «Т-лабиринт». При и/н применении статистически значимого результата не обнаружено в тесте «ПКЛ», в отличие от в/ж, при котором продолжительность пребывания крыс в «открытом рукаве» было в 3,0 раза ($p = 0,01$) больше контроля, а в «закрытом рукаве» — в 1,3 раза ($p = 0,01$) меньше. В тесте «ЭПИ» и/н введение метформина способствовало уменьшению продолжительности прыжков в 5,1 раза ($p = 0,02$), а при в/ж введении в 2,9 раза ($p = 0,038$) по сравнению с контролем.

Заключение. Интраназальное введение метформина может рассматриваться как альтернативный способ его применения и явиться основанием для разработки системы направленной доставки метформина.

Ключевые слова: метформин; интраназальное введение; субтерапевтические дозы; нейропротекторные свойства; поведенческие методы

Для цитирования:

Хафизова А. З., Семина И. И. Изучение возможности применения метформина при интраназальном введении для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций половозрелых крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):35–42. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-35-42>. EDN: NZTPRM

Поступила: 09.01.2025. В доработанном виде: 17.02.2025. Принята к печати: 15.03.2025. Опубликовано: 31.03.2025.

Study of the possibility of using metformin by intranasal administration for the correction of behavioral and cognitive dysfunctions of rats

Ajgul Z. Hafizova, Irina I. Semina

Kazan Medical University MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Abstract

Relevance. Metformin is an antidiabetic agent in the therapy of type 2 diabetes mellitus, which has a complex of pharmacological effects that may allow its use as a geroprotector and a means for the treatment of cognitive and behavioral disorders. Metformin when administered orally has low bioavailability (50–60 %), as well as the risk of side effects, which is the rationale for studying the intranasal route of administration of metformin.

Objective. To investigate the behavioral effects of metformin during intranasal administration as a rationale for the development of its intranasal dosage form.

Materials and methods. The object of the study was metformin administered intranasally (i/n) to rats at a dose of 70 mg/kg. The intragastric (i/g) route of administration (70 mg/kg) was used for comparison. After 30-day i/n and i/g administration of metformin, the rats were subjected to behavioral tests: the T-Maze test, Water Maze test, Elevated Plus-Maze test (EPM), and Extrapolation Escape task (EE). The Student's t-test in Graph pad Prism 8.0.1 program was used for statistical processing.

Results. When administered i/n, there was 5.6 times ($p = 0.022$) decrease in the latent period of arm selection ($p = 0.022$), and when administered i/g, there was 2.9 times ($p = 0.01$) decrease in the “T-maze” test compared to the control. No statistically significant result was found in the “EPM” test when applied i/n, in contrast to i/g, in which the duration of stay of rats in the OA of the maze was 3.0 times ($p = 0.01$) more than the control, and in the CA — 1.3 times ($p = 0.01$) less. In the “EE” test, i/n administration of metformin contributed to 5.1 times ($p = 0.02$) decrease in jump duration compared to control. In case of i/g administration metformin, the duration of the jumping period was 2.9 times shorter ($p = 0.038$).

Conclusion. Intranasal administration of metformin can be considered as an alternative way of its use and be the basis for the development of a system of directed delivery of metformin.

Keywords: metformin; intranasal administration; subtherapeutic doses; neuroprotective properties; behavioral methods

For citations:

Hafizova AZ, Semina II. Study of the possibility of using metformin by intranasal administration for the correction of behavioral and cognitive dysfunctions of rats. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):35–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-35-42>. EDN: NZTPRM

Received: 09.01.2025. Revision received: 17.02.2025. Accepted: 15.03.2025. Published: 31.03.2025.

Введение / Introduction

Метформин является препаратом первой линии в терапии сахарного диабета 2-го типа, применяемого в клинической практике более 60 лет [1, 2]. В последние годы метформин привлекает внимание многих исследователей как препарат, обладающий комплексом фармакологических эффектов, которые могут позволить применять его в качестве геропротектора, средства для лечения когнитивных и поведенческих нарушений при различных психоневрологических расстройствах, в том числе нейродегенеративных заболеваниях [1, 3–5, 17]. Точный механизм нейропротекторной активности метформина до конца не изучен, но показано, что препарат обладает комплексным механизмом действия: проявляет антиоксидантные и противовоспалительные свойства [1, 2, 6], угнетает активность фермента ацетилхолинэстеразы, способствуя повышению уровня медиатора ацетилхолина, участвующего в процессах обучения и памяти [1, 4], повышает экспрессию ГАМК-рецепторов в гиппокампе [7]. Существенным фактором является то, что метформин обладает комплексом этих эффектов в субтерапевтических (по отношению к гипогликемическим) дозах, что может повысить его значимость как геропротектора [1, 3].

Недостатком метформина при пероральном применении является его низкая биодоступность (50–60 %), а также риск развития побочных эффектов, в основном со стороны ЖКТ [1, 3]. Интраназальный путь введения метформина непосредственно в мозг может иметь преимущества перед пероральным, включая более таргетное действие и снижение вероятности возникновения нежелательных реакций [8].

Таким образом, целью настоящей работы явилось исследование поведенческих эффектов метформина при интраназальном введении как обоснование для разработки его интраназальной лекарственной формы в качестве потенциального геропротектора и средства с нейропротекторной активностью.

Материалы и методы исследования / Materials and methods of research

Исследование проведено на 64 половозрелых крысах-самцах массой 200–250 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животные содержались в стандартных условиях, при естественном световом режиме на полнорационной сбалансированной диете (согласно ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением международных требований Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях, а также согласно «Правилам надлежащей лабораторной практики», утверждённым приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016.

Объектом исследования явилось противодиабетическое средство метформин, применяемый путём интраназального (и/н) введения крысам в дозе 70 мг/кг. Для сравнения был использован внутрижелудочный (в/ж) путь введения в той же дозе 70 мг/кг.

После 30-дневного и/н и в/ж введения метформина половозрелым крысам были проведены поведенческие тесты: «Т-лабиринт», «Водный лабиринт Морриса», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), а также «Экстраполяционное избавление» (ЭПИ).

Введение метформина было продолжено и в дни тестирования (за 30 минут до проведения теста). Контрольным группам животных вводили физиологический раствор в эквивалентном объёме аналогичным (и/н или в/ж) способом.

Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Изучение влияния на процессы обучения и когнитивные функции с применением следующих методов поведенческих тестов:

1. Тест «Т-лабиринт» (НПК «Открытая наука», Россия) применялся для изучения процессов памяти. Установка «Т-лабиринт» состоит из стартового рукава,

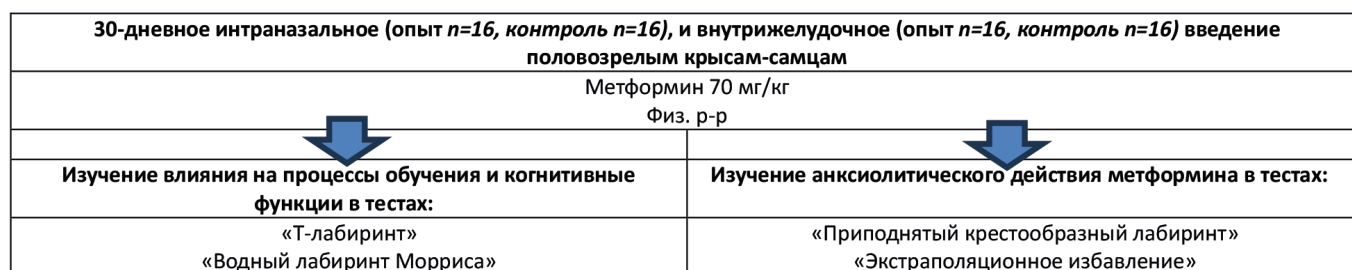


Рис. 1. Дизайн эксперимента
Fig. 1. Experiment Design

а также двух боковых рукавов. Тест служит оптимальным способом определения обучаемости, памяти и когнитивных функций животных путём выработки у них условного пищевого рефлекса и состоит из этапов обучения и тестирования, которым предшествовала стадия пищевой депривации (48 часов).

Этап обучения необходим для выработки у испытуемых животных понимания местонахождения пищи в лабиринте и состоит из 10 ежедневных попыток в течение 4 последовательных дней. Грызуна помещали в стартовый отсек «Т-лабиринта», в одном из рукавов которого была помещена кормушка с пищей. Через 30 с после посадки открывали дверцу стартового отсека и позволяли животному исследовать установку в течение 2 минут.

Второй этап (тестирование) был проведён на 5-й день эксперимента и состоял из 3 последовательных сессий поиска пищи, описанных выше. На данном этапе эксперимента регистрировали латентный период выбора рукава (с) (т. е. выбор рукава с пищевым подкреплением), что отражает состояние процессов памяти и когнитивных функций — правильно обученное животное стремится выбрать рукав с пищей и делает это быстрее. В качестве подкрепления применяли кусочки картофельных чипсов массой 0,15–0,2 г. В условиях, предшествующих выработке рефлекса пищевой депривации (48 ч), животные имели свободный доступ к воде. Кормление животных вне эксперимента осуществлялось в одно и то же время суток (обычно после окончания экспериментов) [9, 10].

2. Тест «Водный лабиринт Морриса» применялся для изучения пространственной памяти крыс [10]. Установка «Водный лабиринт Морриса» (НПК «Открытая наука», Россия) представляет собой круглый бассейн, который заполняется водой. В одном из секторов бассейна на глубине 2 см под водой устанавливается скрытая платформа, положение которой на этапе обучения животных неизменно. Перед началом эксперимента вода в бассейне подкрашивалась молочным порошком, для исключения платформы из поля зрения животного. Кроме того, по 4 сторонам света на стенки бассейна устанавливаются 4 чёрно-белых зрительных ориентира.

Первый этап эксперимента заключается в обучении животных находить платформу. Для этого каждое животное в течение 3 последовательных дней запускали в бассейн в одной из стартовых точек поочередно возле ориентиров и позволяли в течение 120 секунд самостоятельно искать платформу. Если в течение этого времени крыса не находила платформу, её аккуратно туда направляли. Крысе давали посидеть на платформе в течение 15 с, после чего её перемещали в клетку для просушки. На 4-й день после окончания этапа обучения проверяли показатели памяти [4, 9, 10].

Регистрировали длительность поиска платформы (с) на 4-й день опыта, что являлось критерием оценки пространственной памяти животных.

Изучение анксиолитического действия осуществ-

ляли с применением следующих методов поведенческого тестирования:

3. Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) позиционируется как один из наиболее чувствительных для исследования тревожности животного. Установка ПКЛ (НПК «Открытая наука», Россия) представляет собой объединение четырёх пластиковых отсеков, два из которых окружены с 3 сторон непрозрачными стенками — «закрытые рукава» (ЗР). Два оставшихся не имеют стенок и являются «открытыми рукавами» (ОР). Закрытые рукава являются аналогом норы, а открытые — потенциально опасной областью. Исследуемое животное помещали в центральную часть установки, носом к открытому рукаву, и в течение 5 минут тестирования регистрировали продолжительность нахождения в ОР (с), что обратно пропорционально увеличению тревожного поведения [9, 10]. Критерием регистрации захождения в тот или иной отсек модели считалось наличие всех лап животного внутри соответствующего отсека [10].

4. Тест «Экстраполяционное избавление» (ЭПИ) Установка ЭПИ (НПК «Открытая наука», Россия) представляет собой ёмкость (высотой 23 см, диаметром 35 см), наполненную водой, с прозрачным сосудом в центре (диаметром 9,2 см), который не касается стенок и погружён в воду (210С) на 2 см. Исследуемое животное помещали (хвостом вниз) внутрь цилиндра, ограниченное водное пространство которого считается стрессогенными условиями, выйти из которых возможно только, поднырнув под нижний его край, а в случае предрасположенности к тревожному поведению и эмоциональной реактивности крысы стараются выпрыгнуть через верх цилиндра [11, 12]. Оценивали продолжительность аверсивных реакций в форме карабканий и прыжков внутри цилиндра, что отражает общий уровень стресса, т. е. чем больше продолжительность прыжков — тем больше уровень стресса.

Для регистрации и анализа поведенческих изменений животных использовали компьютерную программу «EthoVisionXT» (Noldus, Нидерланды) с автоматическим способом анализа треков. Для статистической обработки был использован *t*-критерий Стьюдента в программе Graph pad Prism 8.0.1. Результаты поведенческих тестов представлены графически в виде $M \pm SEM$, где *M* — среднее значение, *SEM* — стандартная ошибка среднего, *p* — уровень значимости.

Результаты / Results

Результаты оценки поведения крыс в Т-лабиринте после 30-дневного и/н и в/ж введения в течение 30 дней не выявили существенных отличий между этими группами. При и/н введении отмечалось снижение латентного периода выбора рукава в 5,6 раза ($p = 0,022$), а при в/ж — в 4,3 раза ($p = 0,046$) по сравнению с контрольной группой животных (рис. 2А, В).

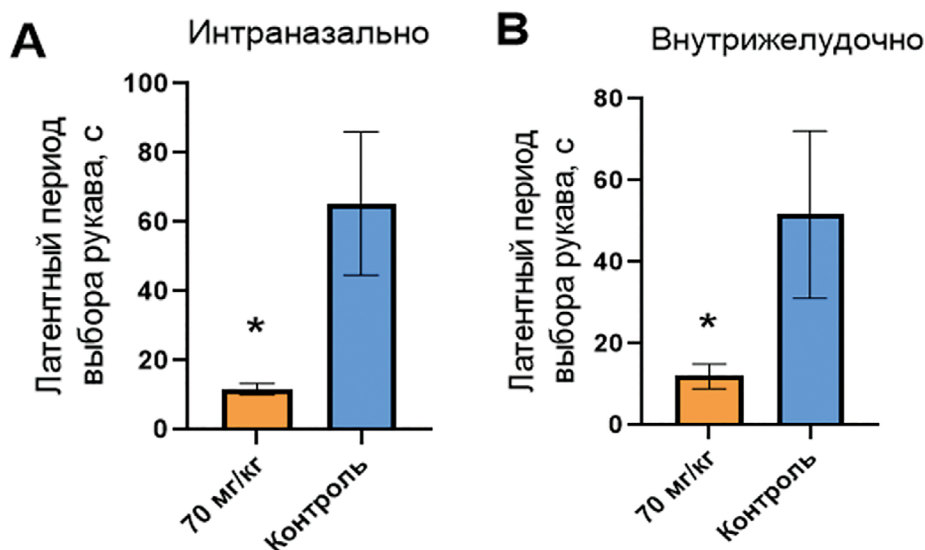


Рис. 2. Влияние интраназального (А) и в/ж (В) введения метформина на латентный период выбора рукава (с) половозрелых крыс в тесте «Т-лабиринт»
Fig. 2. Effect of intranasal (A) and ig (B) administration of metformin on the latent period of arm selection (c) of rats in the T-maze test

Примечания: по оси абсцисс — латентный период выбора рукава (с); по оси ординат — исследуемые группы крыс; $(p < 0,05)$ — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы.

Notes: abscissa axis — latent period of arm selection (s); ordinate axis — study groups; $(p < 0.05)$ — statistically significant differences with respect to the index of the control group.

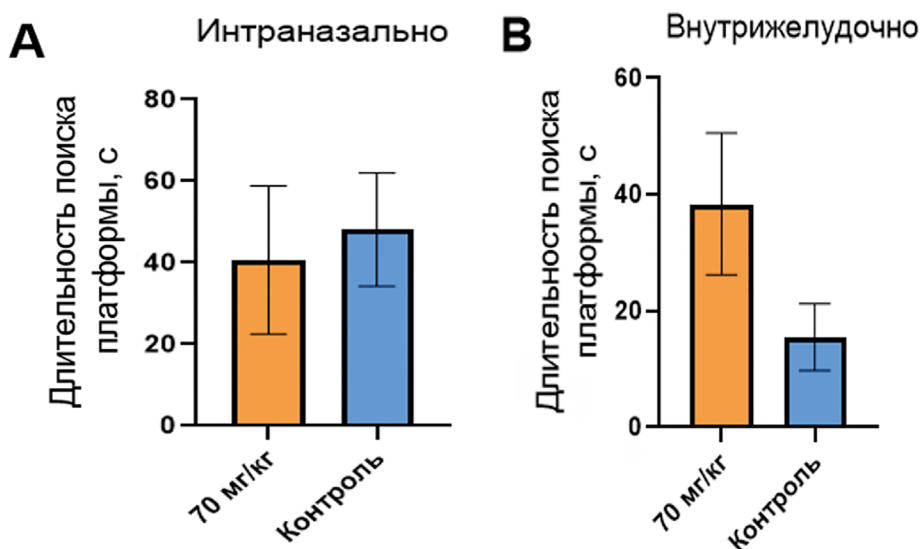


Рис. 3. Влияние 30-дневного интраназального (А) и в/ж (В) введения метформина на длительность поиска платформы (с) половозрелых крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса»
Fig. 3. Effect of intranasal (A) and ig (B) administration of metformin on duration of the platform search (s) of rats in the Morris Water Maze test

Примечания: по оси абсцисс — длительность поиска платформы (с); по оси ординат — исследуемые группы; $(p < 0,05)$ — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы

Notes: abscissa axis — duration of platform search (s), ordinate axis — studied groups; $(p < 0.05)$ — statistically significant differences with respect to the index of the control group

В тесте «Водный лабиринт Морриса» по показателю «длительность поиска платформы» нами не было выявлено статистически значимых отличий по сравнению с контрольными значениями как при и/н, так и при в/ж введении метформина (рис. 3А, В).

Что касается исследования анксиолитического действия метформина в ПКЛ — мы не увидели эффекта при и/н применении (рис. 4А, В), в отличие от

в/ж, при котором продолжительность пребывания крыс в ОР лабиринта было в 3,0 раза ($p = 0,01$) больше контрольных значений, а в ЗР — в 1,3 раза ($p = 0,01$) меньше (рис. 4Г, Д).

Несмотря на то, что при и/н применении мы не наблюдали анксиолитического действия метформина в тесте «ПКЛ», в тесте «ЭПИ», которое позиционируется как состояние повышенной тревожности, и/н

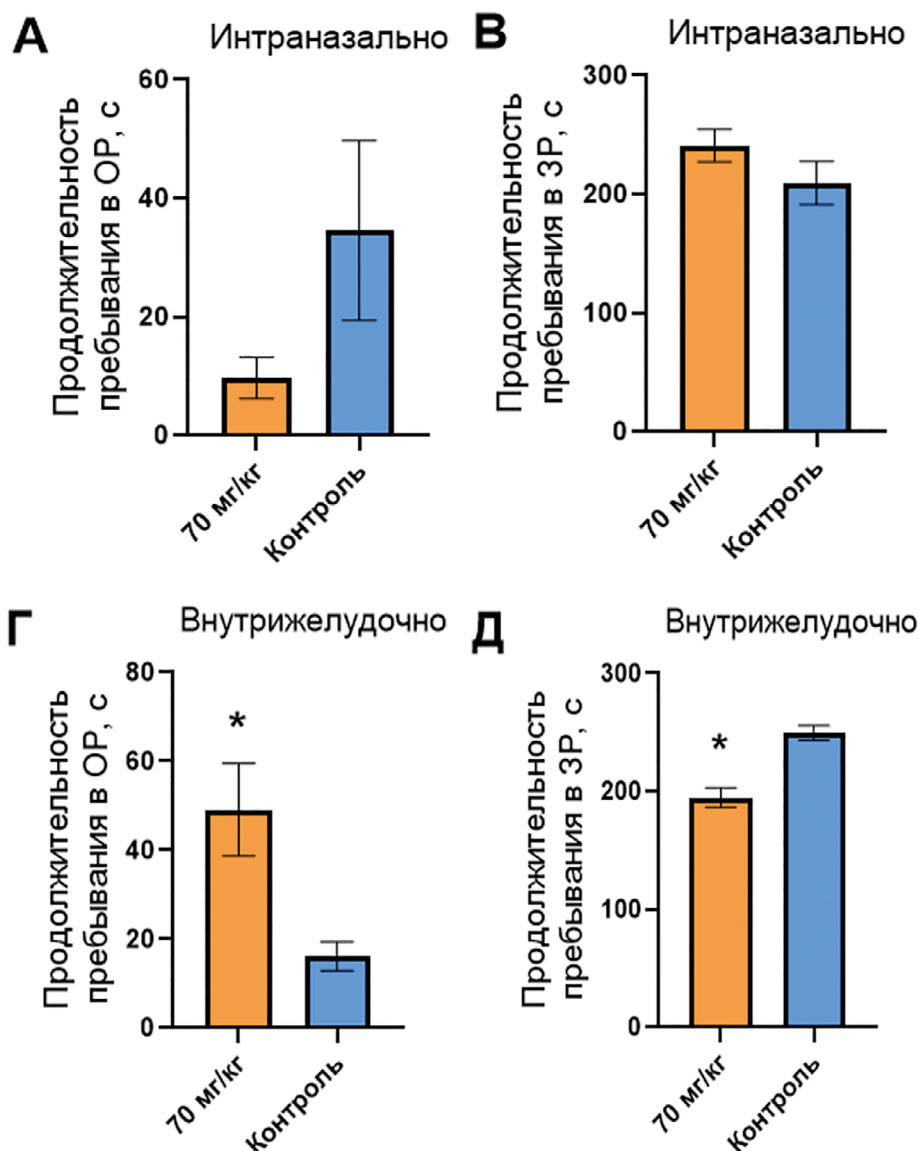


Рис. 4. Влияние 30-дневного интраназального (А, В) и в/ж (Г, Д) введения метформина на продолжительность пребывания в ОР (А, Г) и ЗР (В, Д) (с) половозрелых крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Fig. 4. Effect of intranasal (A, B) and ig (Г, Д) administration of metformin on the length of stay in the OR (A, Г) and OR (B, Д) (s) of rats in the test Elevated plus-maze test

Примечания: по оси абсцисс — продолжительность (с) пребывания крыс в ОР (А, Г) и ЗР (В, Д) лабиринта; по оси ординат — исследуемые группы; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы.

Notes: abscissa axis — duration of stay in OR (A, Г) and ZR (B, Д) (s); ordinate axis — study groups; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences with respect to the index of the control group

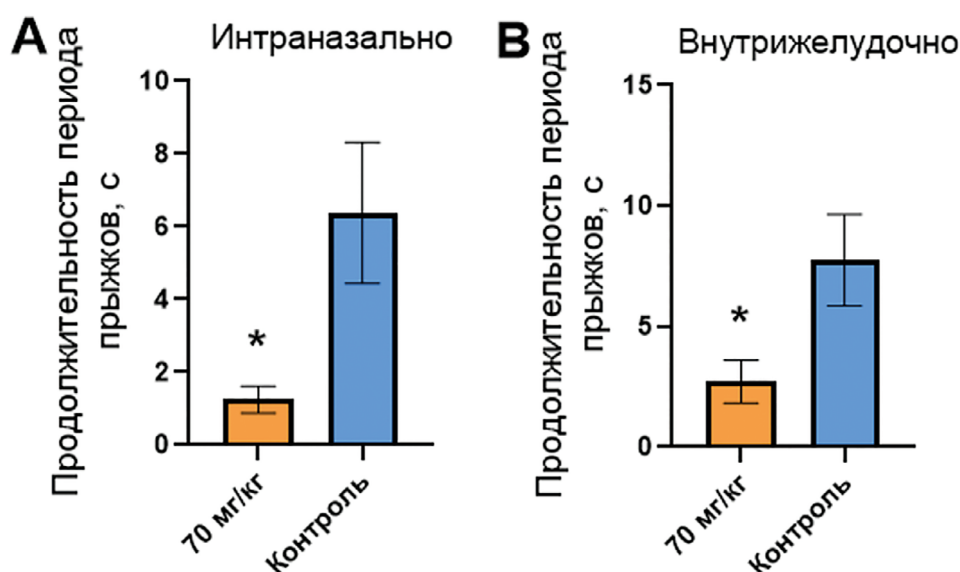


Рис. 5. Влияние интраназального (А) и в/ж (В) введения метформина на латентное время прыжков (с) половозрелых крыс в тесте «Экстраполяционное избегание»

Fig. 5. Effect of intranasal (A) and ig (B) administration of metformin on latent jumping time (s) of rats in the Extrapolation Escape task

Примечания: по оси абсцисс — продолжительность прыжков (с); по оси ординат — исследуемые группы; $*(p < 0,05)$ — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы.

Notes: abscissa axis — duration of jumps (s); ordinate axis — study groups; $*(p < 0.05)$ — statistically significant differences with respect to the index of the control group.

введение метформина способствовало уменьшению продолжительности прыжков в 5,1 раза ($p = 0,02$) по сравнению с контрольной группой животных, что свидетельствует об уменьшении тревожности в острых стрессогенных условиях (рис. 5А). При в/ж введении метформина продолжительность периода прыжков была меньше в 2,9 раза ($p = 0,038$) (рис. 5В).

Обсуждение / Discussion

В данной работе проведены пилотные исследования, которые показали, что метформин при интраназальном применении оказывает фармакологические эффекты, по выраженности сопоставимые с его пероральным действием. Для исследований была выбрана доза 70 мг/кг, являющаяся субтерапевтической по отношению к гипогликемическому действию и входящая в спектр тех доз, в которых метформин может проявлять нейропротекторное действие и использоваться как геропротектор [4, 7]. Хотя при внутрижелудочном применении метформин хорошо проникает через ГЭБ [13], побочные эффекты, особенно со стороны ЖКТ, могут ограничивать его использование как геропротектора, а также корректора когнитивных и поведенческих нарушений при деменциях различного происхождения, в том числе нейродегенеративного.

Интраназальное применение метформина в течение 30 дней показало его способность улучшать процессы памяти в «Т-лабиринте» как модели с положительным подкреплением, но в «Водном лабиринте Морриса» этот эффект не повторился, так же как и при его внутрижелудочном применении в этой дозе. Следует отметить, что по сравнению с «Т-лабиринтом» в водном тесте дополнительным компонентом является стрессовая ситуация, вызванная наличием воды, кроме того, в данном методе мы использовали только один показатель — длительность поиска спасательной платформы. Для продолжения исследований в этом тесте необходимо изучение более широкого спектра показателей — например, продолжительности плавания крыс в зоне платформы, которую необходимо предварительно убрать, разделить крыс, исходя из фенотипа нервной системы и др.

В отличие от внутрижелудочного введения, при интраназальном введении метформина мы не выявили анксиолитического действия. Видимо, для проявления этого эффекта необходима более высокая доза. В настоящем исследовании мы применяли метформин, растворённый в физиологическом растворе, а в этом случае препарат подвержен быстрому вымыванию со слизистой носа. Это недостаток интраназального применения, поэтому с целью повышения эффектив-

ности указанного пути введения необходима направленная разработка лекарственной формы на основе носителей, которые либо способствуют адгезии на слизистой носа с постепенным высвобождением лекарственного вещества, либо обеспечивают быстрое всасывание [7, 14–16].

Таким образом, отмеченные эффекты метформина при интраназальном введении дают основание для продолжения того направления, расширяя спектр его активности в других субтерапевтических дозах

с целью выявления оптимальных доз для последующей разработки интраназальной лекарственной формы.

Заключение / Conclusion

Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что интраназальное введение метформина может рассматриваться как альтернативный способ его применения. В дальнейшем это может явиться основанием для разработки системы направленной доставки метформина напрямую из носа в мозг.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Хафизова А. З. — проведение экспериментов, обработка полученных результатов, написание текста; *Семина И. И.* — концепция и дизайн исследования, общий анализ полученных данных, написание текста статьи.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 23–25–00333)

Соблюдение этических норм

Выполненные исследования одобрены Локальным Этическим Комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России [Протокол заседания № 6 от 20.06.2023]

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Authors' participation

Hafizova AZ — conducting experiments, processing the results obtained, writing the text; *Semina II* — concept and design of the study, general analysis of the data obtained, writing the text of the article.

Funding

The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 23-25-00333)

Compliance with ethical standards

The completed studies were approved by the Local Ethics Committee of the Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation [Minutes of meeting No. 6 dated 06/20/2023]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Хафизова Айгуль Зульфаровна — м. н. с. Молодежной научной лаборатории «Систем направлений доставки лекарственных средств» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: aygul_khafizova_1997@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-3795-1407>

Ajgul Z. Hafizova — Junior Research of the Research Laboratory «Drug Delivery Systems», FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: aygul_khafizova_1997@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-3795-1407>

Семина Ирина Ивановна — д. м. н., профессор кафедры фармакологии, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

e-mail: semina@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Irina I. Semina — PhD, Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Pharmacology, head of the Central Research Laboratory, FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

e-mail: semina@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Список литературы / References

1. Markowicz-Piasecka M, Sikora J, Szydłowska A, et al. Metformin – a Future Therapy for Neurodegenerative Diseases : Theme: Drug Discovery, Development and Delivery in Alzheimer's Disease Guest Editor: Davide Brambilla. *Pharm Res.* 2017 Dec;34(12):2614–2627. doi: 10.1007/s11095-017-2199-y.
2. Li N, Zhou T, Fei E. Actions of Metformin in the Brain: A New Perspective of Metformin Treatments in Related Neurological Disorders. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 27;23(15):8281. doi: 10.3390/ijms23158281.
3. Alharbi I, Alharbi H, Almogbel Y, et al. Effect of Metformin on Doxorubicin-Induced Memory Dysfunction. *Brain Sci.* 2020 Mar 7;10(3):152. doi: 10.3390/brainsci10030152.
4. Ashrotaghi Z, Ganji F, Sepehri H. Effect of metformin on the spatial memory in aged rats. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology.* 2015;5(5):416–420. doi: 10.5455/njppp.2015.5.1208201564.
5. Zhang W, Zhao L, Zhang J, Li P, Lv Z. Metformin improves cognitive impairment in diabetic mice induced by a combination of streptozotocin and isoflurane anesthesia. *Bioengineered.* 2021 Dec;12(2):10982–10993. doi: 10.1080/21655979.2021.2004978.
6. Buldak Ł, Łabuzek K, Buldak RJ, et al. Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacol Rep.* 2014 Jun;66(3):418–29. doi: 10.1016/j.pharep.2013.11.008.
7. Fan J, Li D, Chen HS, et al. Metformin produces anxiolytic-like effects in rats by facilitating GABAA receptor trafficking to membrane. *Br J Pharmacol.* 2019 Jan;176(2):297–316. doi: 10.1111/bph.14519.
8. Порфирьева Н.Н., Семина И.И., Мустафин Р.И., Хуторянский В.В. Интраназальное введение как способ доставки лекарств в головной мозг (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(4):117–127. [Porfiryeva NN, Semina II, Moustafine RI, Khutoryanskiy VV. Intranasal Administration as a Route to Deliver Drugs to the Brain (Review). *Drug development & registration.* 2021;10(4):117–127. (In Russ.)]. doi: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
9. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с. [Mironov AN, Bunyatyan ND, Vasiliev AN, et al. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part One. Moscow: Grif i K, 2012. (In Russ.)].
10. Семина И.И., Байчурина А.З., Никитин Д.О., и др. Поведенческая фармакология как основной подход в изучении эффективности

потенциальных психотропных средств: анализ современных методов (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(1):161–181. [Semina II, Baichurina AZ, Nikitin DO, et al. Behavioral Pharmacology as the Main Approach to Study the Efficiency of Potential Psychotropic Drugs: Analysis of Modern Methods (Review). *Drug development & registration.* 2023;12(1):161–181. (In Russ.)]. doi: 10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181.

11. Титович И.И., Радько С.В., Лисицкий Д.С., и др. Изучение влияния производного аминокэтанола на когнитивные функции лабораторных животных. *Биомедицина.* 2017;(3):102–110. [Titivich IA, Radko SV, Lisitskiy DS, et al. The study of the effect of the aminoethanol derivative on cognitive functions of laboratory animals. *Biomedicine.* 2017;(3):102–110. (In Russ.)].

12. Якимова Н.Л., Соседова Л.М. Дофамин-зависимое нарушение поведения белых крыс с интоксикацией сулемой в тесте экстраполяционного извлечения. *БЮЛЛЕТЕНЬ ВСНЦ СО РАМН.* 2013;1(89):130–133. [Yakimova NL, Sosedova LM. Dopamine-dependent disorder of conduct of albino rats with sublimate intoxication in the test of extrapolation deliverance. *Acta Biomedica Scientifica.* 2013;1(89):130–133. (In Russ.)].

13. Łabuzek K, Suchy D, Gabryel B, Bielecka A, Liber S, Okopień B. Quantification of metformin by the HPLC method in brain regions, cerebrospinal fluid and plasma of rats treated with lipopolysaccharide. *Pharmacol Rep.* 2010 Sep-Oct;62(5):956–65. doi: 10.1016/s1734-1140(10)70357-1.

14. Crowe TP, Greenlee MHW, Kanthasamy AG, Hsu WH. Mechanism of intranasal drug delivery directly to the brain. *Life Sci.* 2018 Feb 15;195:44–52. doi: 10.1016/j.lfs.2017.12.025.

15. Sharma G, Sharma AR, Lee SS, et al. Advances in nanocarriers enabled brain targeted drug delivery across blood brain barrier. *Int J Pharm.* 2019 Mar 25;559:360–372. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.056.

16. Kao HD, Traboulsi A, Itoh S, et al. Enhancement of the systemic and CNS specific delivery of L-dopa by the nasal administration of its water soluble prodrugs. *Pharm Res.* 2000 Aug;17(8):978–84. doi: 10.1023/a:1007583422634.

17. Хафизова А.З., Семина И.И., Никитин Д.О., и др. Перспективы применения противодиабетического средства метформина как способ замедления биологического старения и возраст-ассоциированных заболеваний. *Казанский медицинский журнал.* 2025;106(1):105–116. [Hafizova AZ, Semina II, Nikitin DO, et al. Perspectives for the use of the antidiabetic drug metformin as a strategy to slow biological aging and age-related diseases. *Kazan medical journal.* 2025;106(1):105–116. (In Russ.)]. doi: 10.17816/KMJ382686.