

ISSN 2587-7836 (print)
ISSN 2686-8830 (online)

ФАРМАКОКИНЕТИКА и ДИНАМИКА

Включен в перечень рецензируемых
научных журналов ВАК РФ



№2.2026



Издательство
ОКИ

Главный редактор — Дорофеев Владимир Львович
д. фарм. н., проф., Москва, Россия

Зам. главного редактора — Смирнов Валерий Валерьевич
д. фарм. н., Москва, Россия

Зам. главного редактора — Мокров Григорий Владимирович
д. х. н., Москва, Россия

Ответственный секретарь — Сергеева Мария Сергеевна
к. фарм. н., Москва, Россия

Редакционная коллегия

Бачурин Сергей Олегович
академик РАН, д. х. н., проф.,
Москва, Россия

Блынская Евгения Викторовна
д. фарм. н., Москва, Россия

Бондарева Ирина Борисовна
д. техн. н., д. б. н., Москва, Россия

Воронина Татьяна Александровна
д. м. н., проф., Москва, Россия

Гаева Людмила Михайловна
д. фарм. н., Москва, Россия

Громова Ольга Алексеевна
д. м. н., проф., Москва, Россия

Грушевская Любовь Николаевна
д. фарм. н., Москва, Россия

Гудашева Татьяна Александровна
член-корр. РАН, д. х. н., д. б. н.,
проф., Москва, Россия

Жанатаев Алий Курманович
к. б. н., Москва, Россия

Жердев Владимир Павлович
д. м. н., проф., Москва, Россия

Зайнуллина Лиана Фанзилевна
к. б. н., Москва, Россия

Замятин Андрей Александрович
д. б. н., доцент, проф., Москва, Россия

Зиганшин Айрат Усманович
д. м. н., проф., Казань, Россия

Иванов Роман Алексеевич
к. м. н., Сочи, Федеральная террито-
рия «Сирис», Россия

Калинина Татьяна Сергеевна
д. б. н., Москва, Россия

Ковалёв Георгий Иванович
д. м. н., проф., Москва, Россия

Коллик Лариса Геннадьевна
д. б. н., проф. РАН, Москва, Россия

Колыванов Геннадий Борисович
д. б. н., Москва, Россия

Крыжановский Сергей Александрович
д. м. н., Москва, Россия

Куцев Сергей Иванович
академик РАН, д. м. н., Москва, Россия

Выпускающая группа

Белоусов Дмитрий Юрьевич
Ответственный за выпуск журнала + 7 (910) 449-22-73 e-mail: clinvest@mail.ru

Афанасьева Елена Владимировна
Генеральный директор ООО «Издательство ОКИ» подписка + 7 (916) 986-04-65
e-mail: eva88@list.ru сайм: www.izdat-oki.ru

Жук Елена Владимировна
Дизайн и верстка e-mail: elenazuk70@mail.ru

Подписано в печать 30.06.2026 г. **Тираж** 400 экз.

Типография: ООО «Буки Веди», www.bukivedi.com
115093, г. Москва, Партийный переулок, д. 1, корп. 58, стр. 3, пом. 11

Адрес редакции: 125315, Москва, ул. Балтийская, 8 ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспек-
тивных биомедицинских и фармацевтических технологий», e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru
NEBCON (лаборатория Elpub) — создание и поддержка сайта журнала www.pharmacokinetics.ru
на платформе Elpub.

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информацион-
ных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) 04.02.2021 года свидетельство
о регистрации СМИ ПИ № ФС 77-80349. ISSN 2587-7836. Журнал включен в перечень
ВАК. Авторские материалы не обязательно отражают точку зрения редакции. Редакция
не несет ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных
материалах.

Сайты

www.Antibiotics-Chemotherapy.ru
www.ClinVest.ru
www.MyRWD.ru
www.Patient-Oriented.ru
www.PharmacoGenetics-Pharmaco-
Genomics.ru

www.HealthEconomics.ru
www.izdat-oki.ru

Журналы

Антибиотики и Химиотерапия
Качественная клиническая практика
Реальная клиническая практика: данные и доказательства
Пациентоориентированная медицина и фармация
Фармакогенетика и Фармакогеномика

WEB-порталы

Центр Фармакоэкономических Исследований
Издательство ОКИ

МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

Взаимодействие гибридной молекулы ADK-1113 с σ_7 , NMDA-
и AMPA-рецепторами: исследование методами докинга и
молекулярной динамики
Дюжева М.А., Маликин Д.О., Максименко А.С., Капица И.Г.,
Мокров Г.В., Дорофеев В.Л. 3

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ

Хроматографическое определение родственных примесей
в субстанции оригинального соединения с противо-
эпилептической активностью ГИЖ-298: разработка
и валидация методики
Подгорнова В.А., Сергеева М.С., Грушевская Л.Н.,
Кузнецов Д.Н., Дорофеев В.Л. 17

ПОИСК НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Противовирусная активность новых фосфорорганических
соединений *in vitro*
Зимин М. С., Лилеева Е. Г. 30

ПОИСК НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Влияние соединения 1-((4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]
фенил)сульфонил-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-
карбоновой кислоты (ГГМ-27) на рост опухоли и продол-
жительность жизни мышей BALB/c с аденокарциномой
толстой кишки АКТОЛ в сравнении с доксорубицином
Коваленко Л.П., Журиков Р.В., Григорьевич О.С.,
Иванова Е.А., Васильчук А.Г., Мокров Г.В.,
Жанатаев А.К., Гудашева Т.А., Дорофеев В.Л. 37

Конструирование и синтез нового димерного дипептидного
миметика 4-й петли нейротрофина-3 гексаметилендиамида
бис-(N-моноголутарил-L- аспарагинил-L-аспарагина)
и его D,D-стереоизомера
Сазонова Н.М., Филиппова М.Ю., Мельникова М.В.,
Ребеко А.Г., Кузнецов Д.Н., Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А. 45

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОДИНАМИКИ

Коррекция поведенческих нарушений фобомитозолом
при постнатальной пропонионой модели расстройств
аутистического спектра у крыс
Бояркин В.С., Капица И.Г., Воронина Т.А. 59

Сравнительное изучение антиаритмической и противо-
ишемической активности различных солей N1-(2,3,4-
триметоксibenзил)-N2-[2-[(2,3,4-триметоксibenзил)амино]
этил]-1,2-этандиамина
Цорин И.Б., Мокров Г. В., Барчуков В.В., Вититнова М.Б.,
Крыжановский С.А. 67

Нефропротективное действие ресвератрола при цисплатин-
индуцированном остром повреждении почек
Нетребенко А.С., Покровский М.В. 73

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка мутагенности и острой токсичности линей-
ного замещённого глипролина — этилового эфира
N-фенилацетилглицин-L-пролина
Коллик Л.Г., Качалов К.С., Чайка З.В., Алексеев И.В., Захаров А.Д.,
Волкова А.В., Мирошкина И.А., Колясникова К.Н., Дурнев А.Д.,
Жанатаев А.К. 79

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Технологические аспекты получения таблеток,
диспергируемых в полости рта
Тишков С. В., Вуйнович Д. Д., Маркеев В. Б., Мистюков В. Л.,
Сергеева М. С., Блынская Е. В., Дорофеев В. Л. 90

Разработка самоэмульгирующейся системы доставки
N-(адамант-2-ил)-N-(пара-бромфенил)амина
(адамантил-бромфениламина) в виде лекарственного пре-
парата для перорального применения. Часть 1
Гаврилов Д.И., Маркеев В.Б., Выхристюк М.С., Тишков С.В.,
Блынская Е.В., Дорофеев В.Л. 101



EDITOR-IN-CHIEF — Vladimir L. Dorofeev

Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Moscow, Russia

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF — Valery V. Smirnov

Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Moscow, Russia

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF — Grigory V. Mokrov

Dr. Sci. (Chem.), Moscow, Russia

ASSISTANT EDITOR — Maria S. Sergeeva

Cand. Sci. (Pharm.), Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD

Sergey O. Bachurin

Dr. Sci. (Chem.), Prof., Academician RAS, Moscow, Russia

Evgeniya V. Blynskaya

Dr. Sci. (Pharm.), Moscow, Russia

Irina B. Bondareva

Dr. Sci. (Eng.), Dr. Sci. (Biol.), Moscow, Russia

Tatyana A. Voronina

Dr. Sci. (Med.), Prof., Moscow, Russia

Lyudmila M. Gaevaya

Dr. Sci. (Pharm.), Moscow, Russia

Olga A. Gromova

Dr. Sci. (Med.), Prof., Moscow, Russia

Lyubov N. Grushevskaya

Dr. Sci. (Pharm.), Moscow, Russia

Tatyana A. Gudasheva

Cand. Sci. (Chem.), Dr. Sci. (Biol.), Prof., Corr. Member RAS, Moscow, Russia

Aliy K. Zhanataev

Cand. Sci. (Biol.), Moscow, Russia

Vladimir P. Zherdev

Dr. Sci. (Med.), Prof., Moscow, Russia

Liana F. Zainullina

Cand. Sci. (Biol.), Moscow, Russia

Andrey A. Zamyatnin

Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Prof., Moscow, Russia

Airat U. Ziganshin

Dr. Sci. (Med.), Prof., Kazan, Russia

Roman A. Ivanov

PhD, Sochi, Sirius Federal Territory, Russia

Tatyana S. Kalinina

Dr. Sci. (Biol.), Moscow, Russia

Georgy I. Kovalev

Dr. Sci. (Med.), Prof., Moscow, Russia

Larisa G. Kolik

Dr. Sci. (Biol.), Prof. RAS, Moscow, Russia

Gennady B. Kolyvanov

Dr. Sci. (Biol.), Moscow, Russia

Sergey A. Kryzhanovskii

Dr. Sci. (Med.), Moscow, Russia

Sergey I. Kutsev

Dr. Sci. (Med.), Academician RAS, Moscow, Russia

Alexander A. Litvin

Dr. Sci. (Biol.), Moscow, Russia

ISSUING GROUP

Dmitry Yu. Belousov

Managing Editor +7 (910) 449-22-73 e-mail: clinvest@mail.ru

Elena V. Afanaseva

CEO in LLC «Publishing OKI» subscription +7 (916) 986-04-65 e-mail: eva88@list.ru site: www.izdat-ok.ru

Elena V. Zhuk

Design and layout e-mail: elenazuk70@mail.ru

Signed in print 30.06.2020. Circulation 400 copies.

Typography: LLC Buki Vedi, www.bukivedi.com

115093, Moscow, Partiyinyj pereulok, 1/58, bld. 3, office 11

Editorial address: 125315, Moscow, ul. Baltiyskay, 8 Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies. e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru NEICON (Elpub Lab) — www.pharmacokinetics.ru creation and support on the Elpub Platform. The journal was registered with the Federal Service for Supervision in the Sphere of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor) on 02/04/2021, the certificate of registration of the mass media PI No. FS 77-80349, ISSN 2587-7836. The journal is included in the list of Higher Attestation Commission (HAC) of Russian Federation. Copying material does not necessarily reflect the views of the publisher. We take no responsibility for the accuracy of the information contained in promotional materials.

Sites

www.Antibiotics-Chemotherapy.ru
www.ClinVest.ru
www.MyRWD.ru
www.Patient-Oriented.ru
www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru

Journals

Antibiotics and Chemotherapy
Good Clinical Practice
Real-World Data & Evidence
Patient-Oriented Medicine and Pharmacy
Pharmacogenetics and Pharmacogenomics

WEB-portals

www.HealthEconomics.ru
www.izdat-ok.ru
Center of Pharmacoeconomics Research
Publisher OKI

MEDICAL CHEMISTRY

Interaction of the hybrid molecule ADK-1113 with σ_1 , NMDA-, and AMPA-receptors: a molecular docking and molecular dynamics study

Diuzheva MA, Malikin DO, Maksimenko AS, Kapitsa IG, Mokrov GV, Dorofeev VL

3

PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, PHARMACOGNOSY

Chromatographic determination of related substances in the original antiepileptic compound GIZH-298 substance: development and validation of a method

Podgornova VA, Sergeeva MS, Grushevskaya LN, Kuznetsov DN, Dorofeev VL

17

SCREENING FOR NEW PHARMACOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Antiviral activity of new organophosphorus compounds *in vitro*

Zimin MS, Lileeva EG

30

NEW DRUGS DISCOVERY

Study of the effect of 1-([4-[(2,4-dichlorobenzoyl)amino]phenyl]sulfonyl-(2S,4R)-4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid (GGM-27) on tumor growth and survival in BALB/c mice bearing ACATOL colon adenocarcinoma in comparison with doxorubicin

Kovalenko LP, Zhurikov RV, Grigorovich OS, Ivanova EA, Vasilchuk AG, Mokrov GV, Zhanatayev AK, Gudasheva TA, Dorofeev VL

37

Designing and synthesis of a new dimeric dipeptide mimetic of the 4th loop of neurotrophin-3 bis-(N-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) hexamethylenediamide and its D,D-stereoisomer

Sazonova NM, Filippova MYu, Melnikova MV, Rebeko AG, Kuznetsov DN, Povarnina PYu, Gudasheva TA

45

PRECLINICAL PHARMACODYNAMICS STUDIES

Fabomotizole corrects behavioral impairments in a postnatal propionic acid model of autism spectrum disorders in rats

Boyarkina VS, Kapitsa IG, Voronina TA

59

Comparative study of antiarrhythmic and anti-ischemic activity of various salts of n-1-(2,3,4-trimethoxybenzyl)-n-2-[(2,3,4-trimethoxybenzyl)amino]ethyl]-1,2-ethane-diamine

Tsorin IB, Mokrov GV, Barchukov VV, Vititnova MB, Kryzhanovskii SA

67

Nephroprotective activity of resveratrol in cisplatin-induced acute kidney injury

Netrebenko AS, Pokrovsky MV

73

TOXICOLOGICAL STUDIES

Assessment of mutagenicity and acute toxicity of linear substituted glyproline — ethyl ester of N-phenylacetylglutyl-L-proline

Kolik LG, Kachalov KS, Chayka ZV, Alekseev IV, Zakharov AD, Volkov AV, Miroshkina IA, Kolyasnikova KN, Durnev AD, Zhanataev AK

79

PHARMACEUTICAL MANUFACTURING TECHNOLOGY

Technological aspects of the production of orodispersible tablets

Tishkov SV, Vuynovich DD, Markeev VB, Mistyukov VL, Sergeeva MS, Blynskaya EV, Dorofeev VL

90

Development of a self-emulsifying delivery system N-(adamant-2-yl)-N-(para-bromophenyl)amine (adamantylbromophenylamine) in the form of a medicinal drug for oral administration. Part 1

Gavrilov DI, Markeev VB, Vykhristyuk MS, Tishkov SV, Blynskaya EV, Dorofeev VL

101



Взаимодействие гибридной молекулы ADK-1113 с σ_1 , NMDA- и AMPA-рецепторами: исследование методами докинга и молекулярной динамики

Дюжева М. А., Маликин Д. О., Максименко А. С., Капица И. Г., Мокров Г. В., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Болезнь Паркинсона имеет многофакторный патогенез, включающий глутаматную эксайтотоксичность, окислительный стресс, нейровоспаление и нарушения работы нейромедиаторных систем. В связи с этим перспективным направлением является разработка мультитаргетных соединений, способных взаимодействовать с несколькими патогенетически значимыми мишенями.

Цель. Оценка взаимодействия гибридной молекулы ADK-1113, созданной на основе структурных фрагментов фабомотизола и мемантина, с σ_1 , NMDA- и AMPA-рецепторами с использованием методов молекулярного моделирования.

Методы. Молекулярный докинг ADK-1113 проводили с использованием структур σ_1 , NMDA- и AMPA-рецепторов с последующим моделированием молекулярной динамики (МД) полученных комплексов. Стабильность связывания оценивали по сохранению лиганда в связывающем сайте, значениям среднеквадратичного отклонения атомных координат (root mean square deviation, RMSD), характеру нековалентных взаимодействий и свободной энергии связывания, рассчитанной методом MM/PBSA (Molecular Mechanics/Poisson–Boltzmann Surface Area; молекулярная механика/площадь поверхности Пуассона–Больцмана).

Результаты. ADK-1113 связывался со всеми исследованными рецепторами и сохранялся в их связывающих сайтах в ходе молекулярной динамики. Наиболее стабильный комплекс был выявлен с σ_1 -рецептором, что согласовывалось с наиболее отрицательными значениями свободной энергии связывания по данным MM/PBSA. Комплекс с NMDA-рецептором занимал промежуточное положение, тогда как для AMPA-рецептора были получены наименее выгодные значения энергии связывания.

Заключение. Полученные данные указывают на потенциальную мультитаргетную активность ADK-1113 и его способность взаимодействовать с несколькими компонентами нейромедиаторных систем. Результаты моделирования *in silico* требуют дальнейшего экспериментального подтверждения.

Ключевые слова: исследования *in silico*; ADK-1113; фабомотизол; мемантин; σ_1 -рецептор; NMDA-рецептор; AMPA-рецептор; взаимодействие белок–лиганд

Для цитирования:

Дюжева М. А., Маликин Д. О., Максименко А. С., Капица И. Г., Мокров Г. В., Дорофеев В. Л. Взаимодействие гибридной молекулы ADK-1113 с σ_1 , NMDA- и AMPA-рецепторами: исследование методами докинга и молекулярной динамики. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):3–16. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-3-16>. EDN: ZMIWFW

Поступила: 15.05.2026. В доработанном виде: 15.06.2026. Принята к печати: 27.06.2026. Опубликовано: 30.06.2026.

Interaction of the hybrid molecule ADK-1113 with σ_1 , NMDA-, and AMPA-receptors: a molecular docking and molecular dynamics study

Mariia A. Diuzheva, Daniel O. Malikin, Anna S. Maksimenko, Inga G. Kapitsa, Grigory V. Mokrov, Vladimir L. Dorofeev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Background. Parkinson's disease has a multifactorial pathogenesis involving glutamate excitotoxicity, oxidative stress, neuroinflammation, and dysregulation of neurotransmitter systems. Therefore, the development of multitarget compounds capable of interacting with several pathogenetically relevant targets is a promising research direction.

Objective. Evaluation of the interaction of the hybrid molecule ADK-1113, designed on the basis of structural fragments of fabomotizole and memantine, with σ_1 , NMDA, and AMPA receptors using molecular modeling methods.

Methods. Molecular docking of ADK-1113 was performed using the structures of σ_1 , NMDA-, and AMPA-receptors, followed by molecular dynamics (MD) simulations of the resulting complexes. Binding stability was assessed based on ligand retention within the binding site, root mean square deviation (RMSD) values, the pattern of noncovalent interactions, and binding free energy calculated using the MM/PBSA method (Molecular Mechanics/Poisson–Boltzmann Surface Area).

Results. ADK-1113 bound to all studied receptors and remained within their binding sites during molecular dynamics simulations. The most stable complex was observed for the σ_1 -receptor, which was consistent with the most negative binding free energy values obtained by MM/PBSA. The complex with the NMDA-receptor showed intermediate stability, whereas the least favorable binding energy values were obtained for the AMPA-receptor.

Conclusion. The obtained data indicate the potential multitarget activity of ADK-1113 and its ability to interact with several components of neurotransmitter systems. The results of *in silico* modeling require further experimental confirmation.

Keywords: *in silico* studies; ADK-1113; fabomotizole; memantine; σ_1 -receptor; NMDA-receptor; AMPA-receptor; protein–ligand interactions

For citations:

Diuzheva MA, Malikin DO, Maksimenko AS, Kapitsa IG, Mokrov GV, Dorofeev VL. Interaction of the hybrid molecule ADK-1113 with σ_1 , NMDA-, and AMPA-receptors: a molecular docking and molecular dynamics study. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):3–16. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-3-16>. EDN: ZMIWFW

Received: 15.05.2026. Revision received: 15.06.2026. Accepted: 27.06.2026. Published: 30.06.2026.

Введение / Introduction

Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся многофакторным патогенезом, в котором задействованы глутаматная эксайтотоксичность, окислительный стресс, нейровоспаление, дисфункция дофаминовой и ГАМК-ергической систем. В связи с этим воздействие на единственную молекулярную мишень часто оказывается недостаточным для достижения устойчивого терапевтического эффекта, поскольку функциональная избыточность и перекрёстные связи в биологических сетях компенсируют блокаду отдельного звена патогенеза [1]. В качестве рациональной альтернативы классической парадигме «одна молекула — одна мишень» в последние годы активно развивается стратегия дизайна мультитаргетных лигандов (multitarget-directed ligands, MTDL), способных одновременно модулировать несколько ключевых механизмов заболевания [2]. Данный подход позволяет не только повысить терапевтическую эффективность, но и снизить риск полипрагмазии, лекарственных взаимодействий и побочных эффектов, характерных для комбинации нескольких монотаргетных препаратов. Показательными примерами реализации такой стратегии при лечении нейродегенеративных заболеваний служат препарат ладостигил, ингибирующий как холинэстеразу, так и моноаминоксидазу (MAO-A/B) [3], а также гибридные конъюгаты адамантанового ряда, нацеленные на одновременную модуляцию нескольких патогенетических звеньев болезни Паркинсона, включая NMDA-рецепторы (снижение эксайтотоксичности) и процессы окислительного стресса [4].

В рамках MTDL-стратегии в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» разработано гибридное соединение **ADK-1113**, сочетающее структурные фрагменты аминокатамантановых препаратов (антагонистов NMDA-рецепторов, дофаминергических модуляторов) и фабомотизола (лиганд σ_1 -рецепторов с анксиолити-

ческим и нейропротекторным действием). Ожидается, что такое сочетание обеспечит синергическое воздействие на моторные и немоторные симптомы БП при благоприятном профиле безопасности [5].

Производные аминокатамантанов (амантадин, римантадин), зарегистрированные в 1970-х годах как противовирусные средства, в настоящее время исключены из рекомендованных схем лечения гриппа вследствие быстрого развития резистентности вирусов. Однако клинические наблюдения, зафиксировавшие улучшение симптомов паркинсонизма у пациента, получавшего противовирусный препарат, стимулировали исследование нейротропных эффектов этого класса соединений [6]. Впоследствии на основе адамантанового остова были разработаны и зарегистрированы такие препараты, как амантадин, мемантин и бромантан [7–9]. Последний создан в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (в настоящее время ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий») и в 2008 году разрешён к медицинскому применению в России. Амантадин одобрен Food and Drug Administration (FDA) для терапии болезни Паркинсона и в настоящее время зарегистрирован более чем в 20 странах [9]. Точный механизм его действия при паркинсонизме и лекарственных экстрапирамидных расстройствах до конца не выяснен. Ранние исследования на животных предполагали прямое и косвенное влияние на дофаминергическую нейротрансмиссию; более поздние работы показали, что амантадин является неконкурентным антагонистом NMDA-рецепторов ($K_i = 10$ мкМ) [10]. Хотя в экспериментах на животных прямая антихолинергическая активность не была продемонстрирована, в клинической практике наблюдаются побочные эффекты, характерные для антихолинергических средств [7].

Фабомотизол — оригинальный анксиолитик, также разработанный в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (в настоящее время ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий») [11].

В отличие от классических агонистов бензодиазепиновых рецепторов он не обладает седативным, миорелаксантным или амнестическим действием и не вызывает лекарственной зависимости. Механизм его действия связывают с взаимодействием с σ_1 -рецепторами, которые в покое локализованы на мембране эндоплазматического ретикула в теле нейрона. Добавление фабомотизола вызывает быструю (в течение 30–60 минут) транслокацию этих рецепторов к плазматической мембране, включая область аксонов. Такая транслокация запускает регуляторные сигнальные каскады, связанные с транспортом Ca^{2+} и энергетическим обменом, что, как полагают, лежит в основе нейропротекторного действия препарата и восстановления функции ГАМК-рецепторов [12].

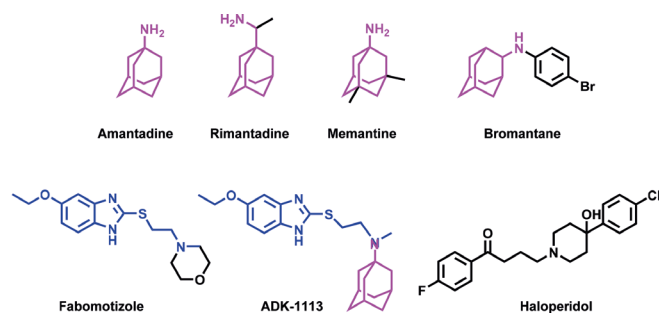


Рис. 1. Химические структуры соединений, рассматриваемых в работе

Fig. 1. Chemical structures of the compounds considered in this study

Считается, что фабомотизол оказывает анксиолитическое и нейропротекторное действие, не сопровождающееся выраженными побочными эффектами, характерными для бензодиазепинов. При этом по ряду показателей (в том числе по профилю безопасности) он может превосходить диазепам при лечении пациентов с генерализованным тревожным расстройством и расстройствами адаптации [13].

Несмотря на рациональное конструирование молекулы ADK-1113 на основе фрагментов молекул с известными фармакологическими механизмами, прямые исследования молекулярных механизмов взаимодействия данного соединения с предполагаемыми мишенями ранее не проводились. В связи с этим целью настоящей работы явилось проведение первичной оценки потенциального взаимодействия ADK-1113 с σ_1 -, NMDA- и AMPA-рецепторами как предполагаемыми молекулярными мишенями его фармакологической активности с использованием методов молекулярного моделирования.

Материалы и методы / Materials and methods

Молекулярный докинг проводили с использованием структур σ_1 -рецептора (PDB ID: 6DJZ), NMDA-рецептора (PDB ID: 7SAD), AMPA-рецептора (PDB ID: 9E4Y) в комплексе с референсными лигандами в программе Glide с использованием стандартного протокола и режима стандартной точности (standard precision, SP). Структуру мишени подготавливали с помощью Schrödinger Protein Preparation Wizard. Подготовку лигандов проводили в программе LigPrep с использованием Epik [14] в пакете Schrödinger [15] для нахождения протонированных и таутомерных состояний при pH 7,4 $\pm$ 2,0. Для генерации конформеров использовался Confgen с силовым полем OPLS4 [16]. Полученные позы лигандов были визуализированы в программе Maestro.

Для молекулярно-динамического моделирования для каждого комплекса выбирали позу с наименьшим docking score (оценочная функция в молекулярном докинге, характеризующая эффективность взаимодействия лиганда с белком). Заряды атомов лиганда были рассчитаны методом RESP (restrained electrostatic potential; метод ограниченного электростатического потенциала) с помощью программ ORCA, Psi4 и Multiwfn. Подготовка системы осуществлялась с помощью AmberTools22 с использованием силового поля AMBER FF19SB. Система была помещена в октаэдрическую оболочку из молекул воды на расстоянии 10 Å от белка. Модель воды — OPC (optimal point charge; оптимальный точечный заряд). Система была нейтрализована добавлением ионов K⁺ и Cl⁻ до физиологической ионной силы 0,15 М. После первоначальной минимизации энергии системы методом наискорейшего спуска выполняли стабилизацию системы в NVT-ансамбле (постоянные число частиц,

объём и температура) в течение 125000 шагов по 1 фс. После стабилизации проводили моделирование молекулярной динамики в NPT-ансамбле (постоянные — число частиц, давление и температура) в программе GROMACS с использованием графического процессора NVIDIA, записывая состояние системы через каждые 100 пс. Полученные .xtc-файлы были обработаны программой cpptraj пакета AmberTools22 [17] и модулем MDAAnalysis языка Python [18]. В ходе анализа траекторий оценивали стабильность комплексов по значениям RMSD (root mean square deviation; среднеквадратичное отклонение атомных координат) белка и лиганда.

Расчёты MM/PBSA (Molecular Mechanics/Poisson–Boltzmann Surface Area; молекулярная механика/площадь поверхности Пуассона–Больцмана) были проведены для предсказания свободных энергий связывания комплексов рецептора и лиганда в программе gmx_MMPBSA [19] с использованием одной траектории молекулярной динамики для оценки энергий комплекса, белка и лиганда. Для расчёта свободной энергии связывания комплекса использовалась следующая методика: энергия связывания ΔG вычислялась как разница между энергией комплекса, энергией свободного лиганда и энергией рецептора. Для вычисления энергий были выбраны кадры из последних 30 нс траектории молекулярной динамики с шагом в 100 пс. Среднее значение ΔG было рассчитано как среднее арифметическое значений свободной энергии связывания для всех выбранных кадров.

Анализ нековалентных контактов между лигандом и остатками белка в траекториях молекулярно-динамических симуляций выполнялся с помощью PyContact версии 1.0.4 [20]. PyContact определяет контакты на основе геометрических критериев (пороговое значение расстояния и, где применимо, углу для водородных связей) и отслеживает их присутствие в каждом кадре траектории. Для каждой пары атомов/остатков был подсчитан «contact score» — накопленное значение, пропорциональное частоте и продолжительности контакта по всей траектории. Контакты со значением «contact score» выше заданного порога, равного 1, были включены в последующий статистический и визуальный анализ.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В исследовании использовалась последовательная вычислительная схема, включающая молекулярный докинг, молекулярную динамику и последующую оценку свободной энергии связывания методом MM/PBSA. На первом этапе докинг применялся для генерации и первичного ранжирования возможных поз лиганда в связывающем сайте. Далее наиболее вероятные комплексы подвергались молекулярно-динамическому моделированию, что позволяло учитывать конформационную подвижность белка и лиганда, а также влияние растворителя. Заключительный этап расчётов

(MM/PBSA) использовался для более количественной оценки энергии взаимодействия на основе ансамбля структур, полученных в ходе динамики.

Для анализа особенностей связывания ADK-1113 полученные позы сравнивали с положением референсных лигандов, присутствующих в экспериментальных структурах исследуемых рецепторов: галоперидола в структуре σ_1 -рецептора (PDB ID: 6DJZ) и мемантина в структурах NMDA- и AMPA-рецепторов (PDB ID: 7SAD и 9E4Y соответственно).

Для σ_1 -рецептора в качестве эталонного лиганда рассмотрен галоперидол — антипсихотическое соединение с высокой аффинностью к σ_1 -рецептору, широко используемое в структурных исследованиях данного белка [21]. В случае ионотропных глутаматных рецепторов NMDA и AMPA в качестве референсного соединения использован мемантин — неконкурентный антагонист NMDA-рецепторов, применяемый в терапии нейродегенеративных заболеваний и часто используемый в качестве модельного лиганда при анализе взаимодействий в глутаматергической системе.

σ_1 -рецептор представляет собой олигомерный белок, его N-концевая часть обращена в цитозоль, тогда как лиганд-связывающий домен локализован на люминальной стороне эндоплазматического ретикула. NMDA- и AMPA-рецепторы относятся к ионотропным глутаматным рецепторам с тетрамерной организацией.

С целью снижения вычислительных затрат в расчётах использовались усечённые модели рецепторов. Для σ_1 -рецептора рассматривалась одна субъединица без трансмембранного сегмента (рис. 2). Для NMDA- и AMPA-рецепторов использовались фрагменты, включающие трансмембранный (поровый) домен, содержащий область связывания лиганда (рис. 3).

Итоги докинга приведены в табл. 1. Для ADK-1113 наиболее благоприятная оценка связывания получена для σ_1 -рецептора, несколько менее благоприятные — в NMDA- и AMPA-рецепторах. В целом значения

Таблица 1

Докинг исследуемых и референсных лигандов: значения docking score, ккал/моль

Table 1

Docking of the studied and reference ligands: docking score values, kcal/mol

Лиганд	σ_1 -рецептор	NMDA-рецептор	AMPA-рецептор
ADK-1113	-7,867	-7,068	-5,868
Мемантин	—	-6,638	-5,752
Галоперидол	-9,569	—	—

docking score для ADK-1113 и референсных лигандов находились в сопоставимом диапазоне, что позволяет рассматривать полученные позы как пригодные для последующего анализа методом молекулярной динамики.

Редокинг галоперидола в структуре σ_1 -рецептора (6DJZ) воспроизводит положение лиганда в связывающем сайте (при допустимых отклонениях), что подтверждает корректность результатов докинга для данной системы (рис. 4A).

Для мемантина в структурах NMDA- и AMPA-рецепторов полученные докинг-позы не воспроизводят экспериментальное положение строго (рис. 4B, C), однако сохраняют ключевые элементы ориентации, включая положение катионного центра и общий характер размещения в канале. Это позволяет рассматривать результаты докинга как методически приемлемые и пригодные для дальнейшей валидации с использованием молекулярной динамики.

В σ_1 -рецепторе ADK-1113 ориентирован таким образом, что адамантановый фрагмент направлен в преимущественно гидрофобную область, в формировании которой участвуют остатки Met93, Leu95, Leu182, Thr181, Thr202 и Tyr206 (рис. 5A, B). Протонированный атом азота лиганда стабилизируется

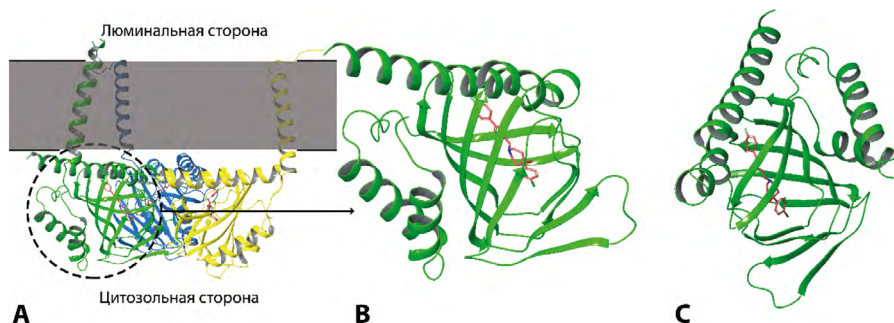


Рис. 2. Структура σ_1 -рецептора (PDB ID: 6DJZ)

Fig. 2. Structure of the σ_1 -receptor (PDB ID: 6DJZ)

Примечания: Слева — исходная тримерная структура; справа — модель субъединицы A, выделенной из полной структуры и использованной для докинг-расчётов и моделирования МД. В сайте связывания показан референсный лиганд галоперидол.

Notes: Left — original trimeric structure; right: a model of subunit A extracted from the full structure and used for molecular docking and MD simulations. The reference ligand haloperidol is shown in the binding site.

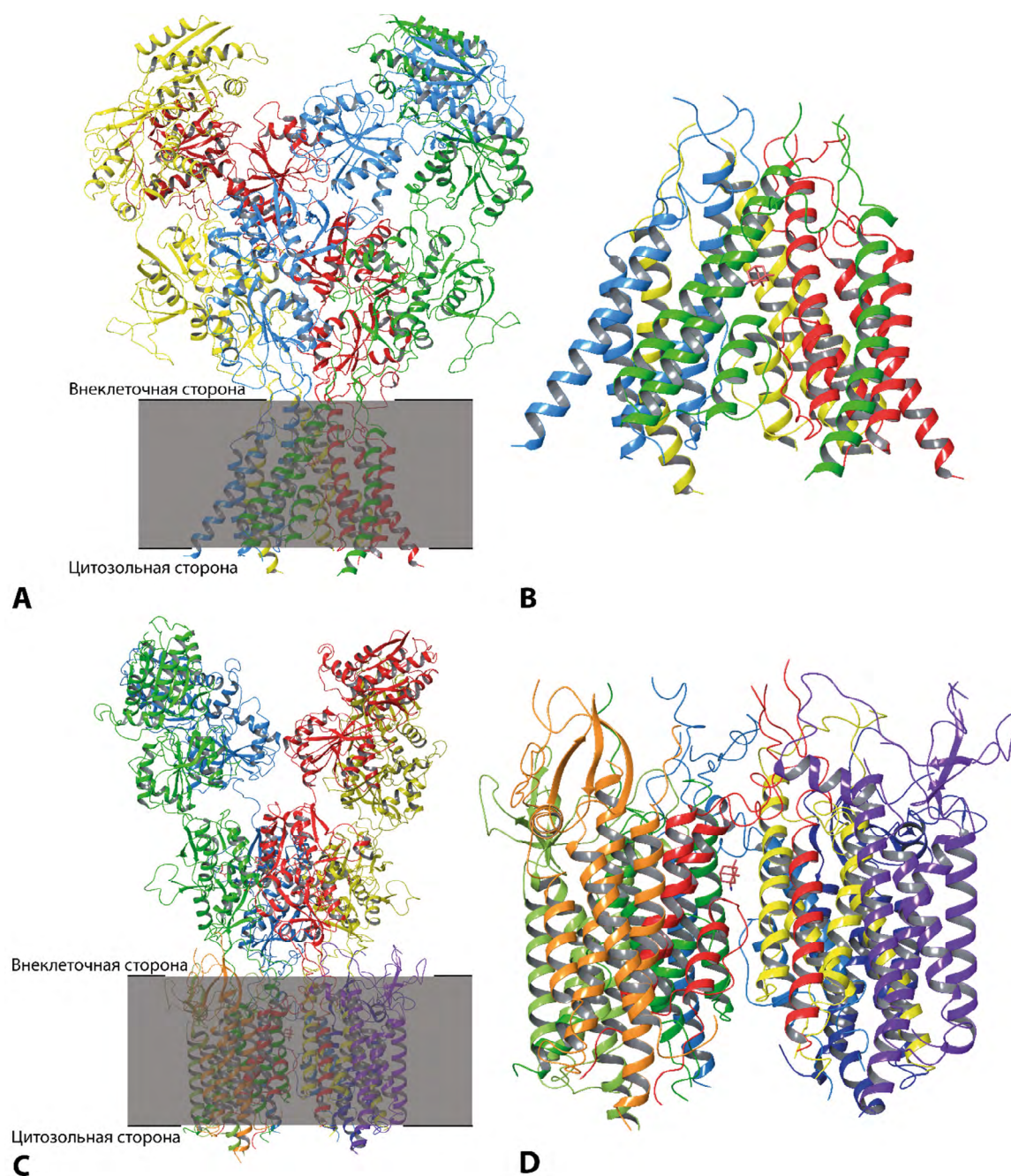


Рис. 3. Структуры ионотропных глутаматных рецепторов

Fig. 3. Structures of ionotropic glutamate receptors

Примечания: A, B — NMDA-рецептор (PDB ID: 7SAD); C, D — AMPA-рецептор (PDB ID: 9E4Y). На рисунках слева изображены исходные структуры комплексов; справа — модели фрагментов, включающих трансмембранный поровый домен, использованные для докинга и МД. Для NMDA-рецептора модель включала трансмембранные участки четырёх субъединиц GluN1/GluN2B: цепей A и C GluN1 и цепей B и D GluN2B. Для AMPA-рецептора модель включала трансмембранные участки четырёх субъединиц GluA2: цепей A–D. В сайтах связывания показан референсный лиганд мемантин.

Notes: A, B — NMDA receptor (PDB ID: 7SAD); C, D — AMPA receptor (PDB ID: 9E4Y). The panels on the left show the original structures of the complexes; the panels on the right show models of fragments including the transmembrane pore domain that were used for molecular docking and MD. For the NMDA receptor, the model included the transmembrane regions of four GluN1/GluN2B subunits: chains A and C of GluN1 and chains B and D of GluN2B. For the AMPA receptor, the model included the transmembrane regions of four GluA2 subunits: chains A–D. The reference ligand memantine is shown in the binding sites.

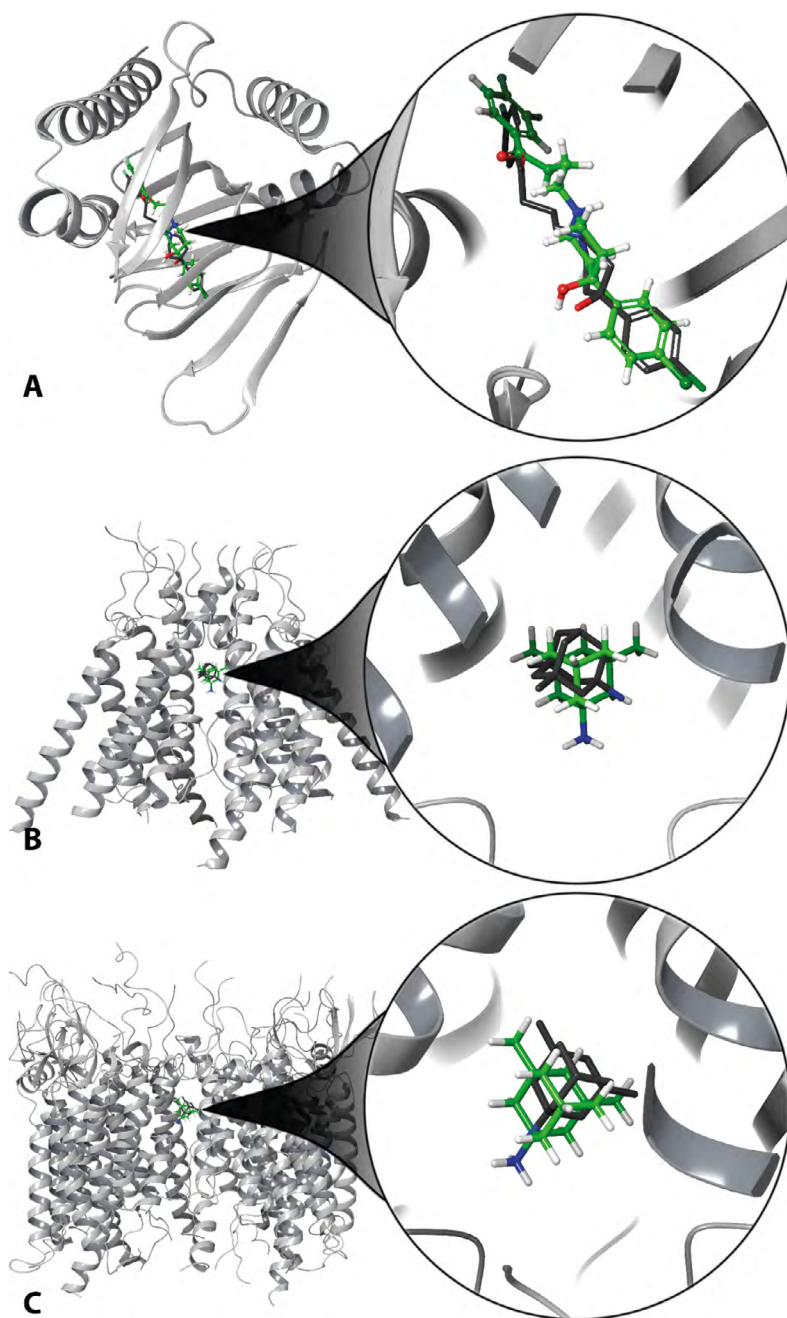


Рис. 4. Сравнение результата редокинга референсных лигандов в структуры рецепторов (зелёный) с кристаллической структурой (чёрный)

Fig. 4. Comparison of re-docking results of reference ligands into receptor structures (green) with their crystallographic poses (black)

Примечания: А. σ_1 -рецептор и галоперидол, В. NMDA-рецептор и мемантин, С. AMPA-рецептор и мемантин.

Notes: A. σ_1 -receptor and haloperidol; B. NMDA receptor and memantine; C. AMPA receptor and memantine.

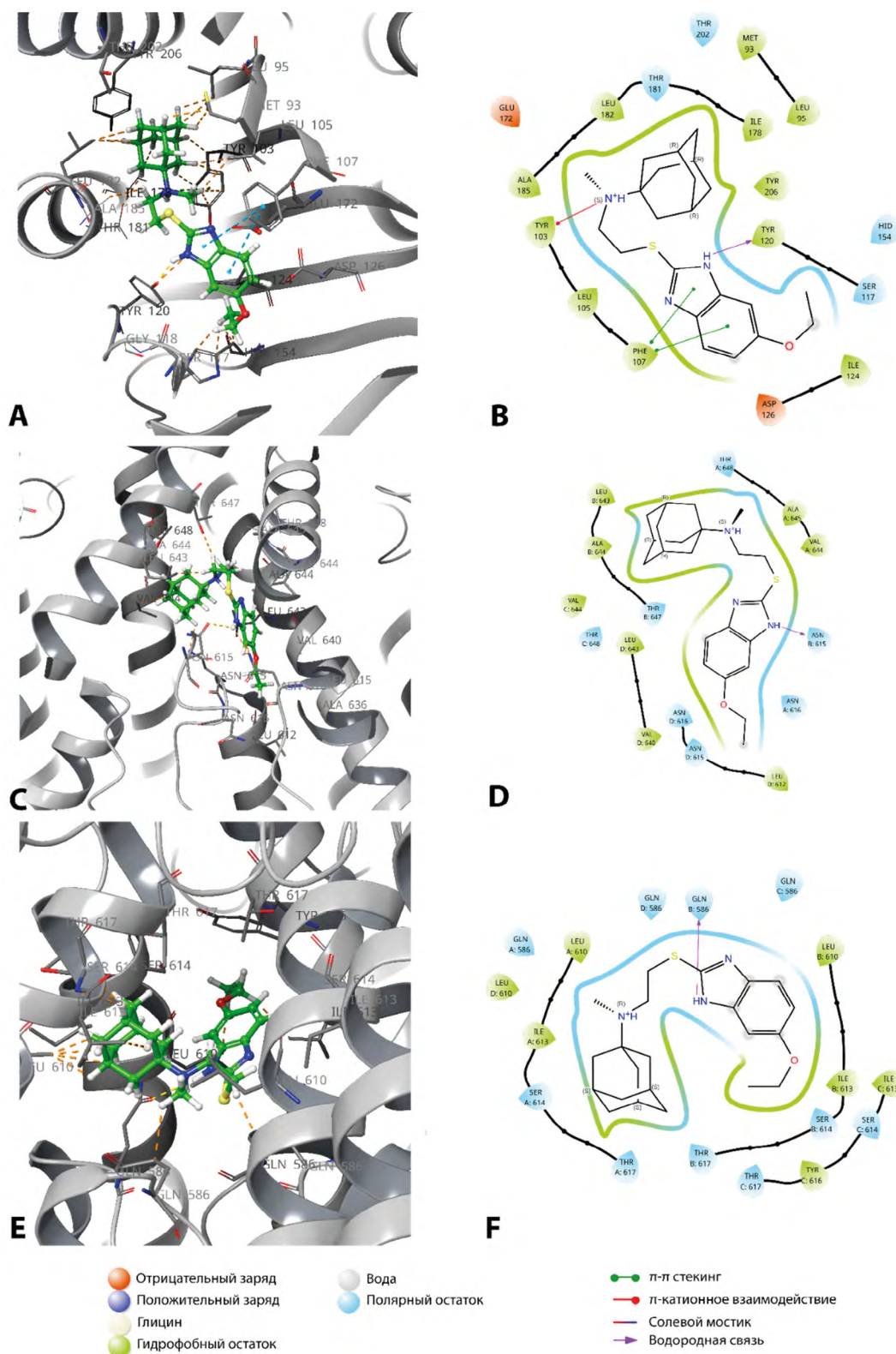


Рис. 5. Результаты молекулярного докинга ADK-1113

Fig. 5. Molecular docking results of ADK-1113

Примечания: А, В — комплекс с σ -рецептором; С, Д — комплекс с NMDA-рецептором; Е, Ф — комплекс с AMPA-рецептором. Слева показаны структуры комплексов рецептор–лиганд, справа — диаграммы межмолекулярных взаимодействий.

Notes: А, В — σ -receptor complex; С, Д — NMDA receptor complex; Е, Ф — AMPA receptor complex. The left panels show receptor–ligand complexes, and the right panels show diagrams of intermolecular interactions.

π –катионным взаимодействием с Tyr103. Ароматическая часть молекулы локализуется в более полярной области связывающей полости между β -листами, окружённой остатками Phe107, Ser117, Tyr120, Ile214, Asp126 и His154, и дополнительно стабилизируется π – π -стекингом с Phe107.

В NMDA-рецепторе адамантовый фрагмент ADK-1113 ориентирован в сторону выхода из транс-мембранного домена и окружён остатками Leu643, Ala644 и Thr647 цепи В (рис. 5С). Ароматическая часть лиганда направлена вглубь домена, в область с более полярным окружением (рис. 5D). Протонированный атом азота лиганда расположен вблизи остатка Asp615 цепи В; геометрия этого контакта соответствует возможному образованию водородной связи.

В AMPA-рецепторе ADK-1113 занимает относительно плоское положение в связывающем сайте, без выраженной ориентации отдельных фрагментов лиганда вдоль оси поры (рис. 5Е). Адамантовый фрагмент располагается в области с умеренно полярным окружением, сформированной остатками Ile613, Ser614 и Thr617 цепи А, а также Thr617 цепи В (рис. 5F). Гибкий линкер ориентирован таким образом, что его гетероатомы — катионный атом азота, атом серы и атомы азота бензимидазольного фрагмента — направлены в сторону более полярной части связывающей полости. Дополнительно в докинг-позе наблюдается контакт между протонированным атомом азота бензимидазольного фрагмента и остатком Gln586 цепи В, геометрия которого соответствует возможной водородной связи.

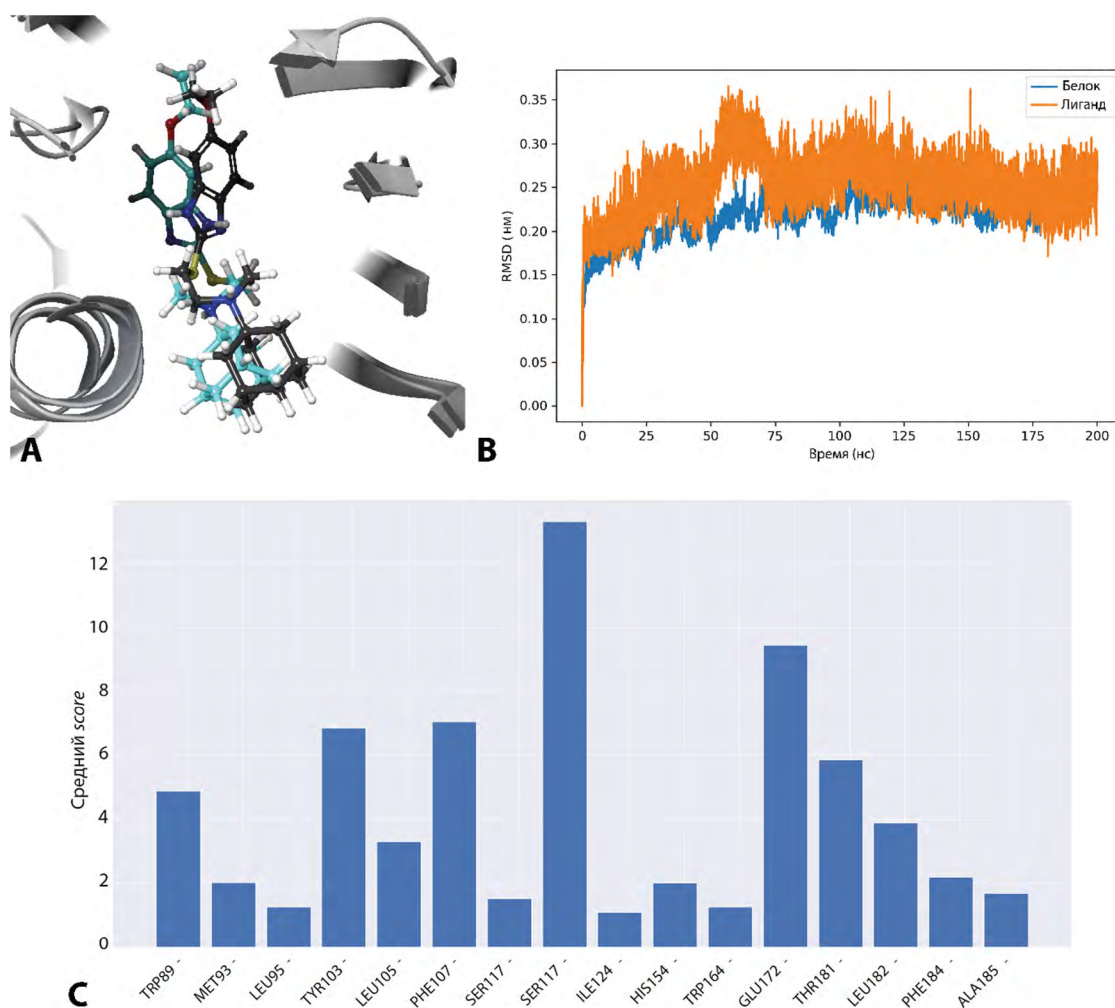


Рис. 6. Анализ стабильности и взаимодействий комплекса σ_1 -рецептора с ADK-1113 по результатам молекулярной динамики

Fig. 6. Analysis of the stability and interactions of the σ_1 -receptor — ADK-1113 complex based on molecular dynamics results

Примечания: А — сравнение комплекса: результат докинга (серый) и структура после 200 нс МД (голубой); В — RMSD рецептора и лиганда; С — гистограмма взаимодействий в комплексе.

Notes: А — comparison of the complex: docking pose (gray) and structure after 200 ns of molecular dynamics (blue); В — RMSD of the receptor and ligand; С — interaction histogram for the complex.

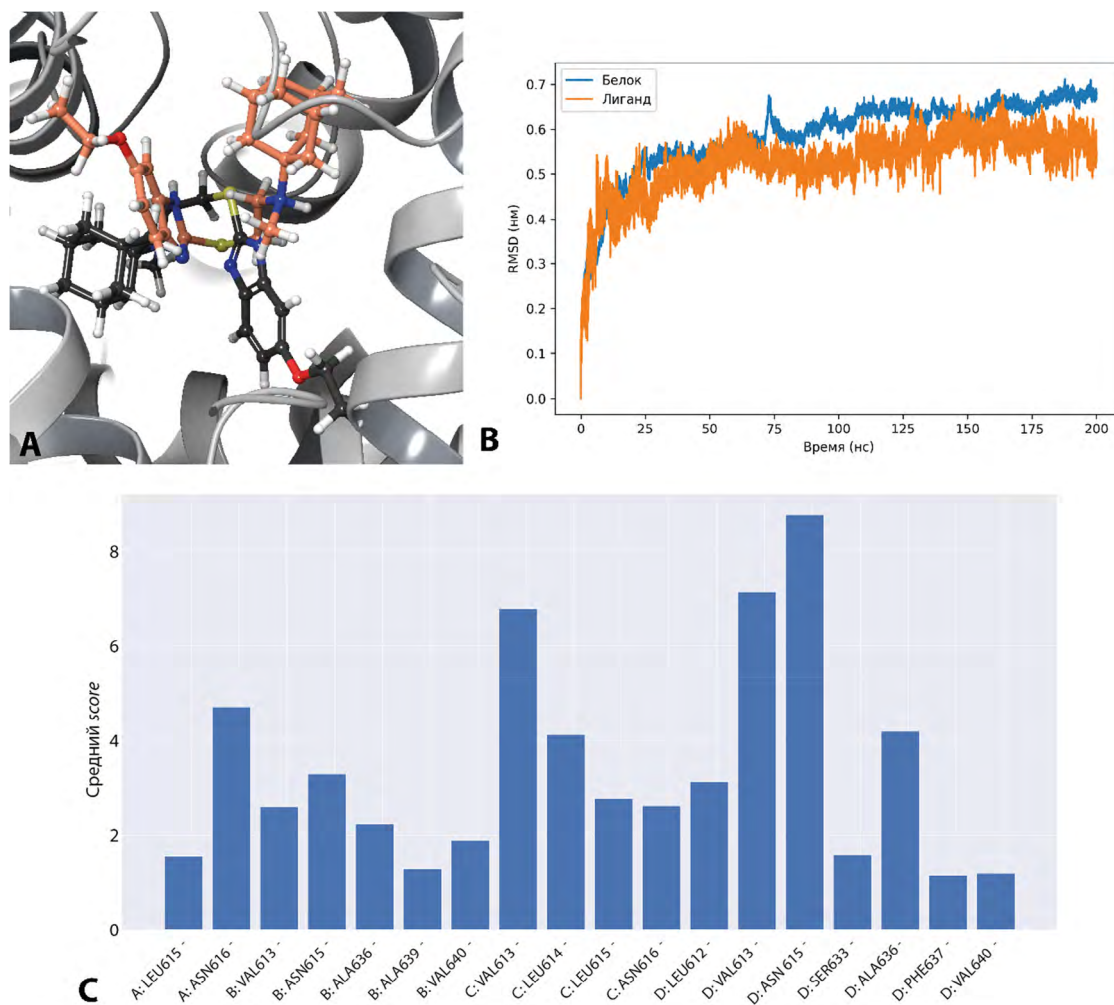


Рис. 7. Анализ стабильности и взаимодействий комплекса NMDA-рецептора с ADK-1113 по результатам молекулярной динамики

Fig. 7. Analysis of the stability and interactions of the NMDA-receptor — ADK-1113 complex based on molecular dynamics results

Примечания: А — сравнение комплекса: результат докинга (серый) и структура после 200 нс МД (голубой); В — RMSD рецептора и лиганда; С — гистограмма взаимодействий в комплексе.

Notes: A — comparison of the complex: docking pose (gray) and structure after 200 ns of molecular dynamics (blue); B — RMSD of the receptor and ligand; C — interaction histogram for the complex.

Далее в рамках настоящего исследования были выполнены молекулярно-динамические симуляции комплексов.

В случае σ_1 -рецептора в ходе молекулярной динамики наблюдается сохранение исходной ориентации лиганда (рис. 6А). Адамантовый фрагмент остаётся локализованным в гидрофобной межспиральной области, сформированной остатками Met93, Leu95, Leu182, Thr181, Thr202 и Tyr206. Протонированный атом азота лиганда стабильно участвует в π -катионном взаимодействии с Tyr103, что сохраняется на протяжении траектории. Ароматическая часть молекулы удерживается в более полярной области между β -листами, где дополнительно стабилизируется π - π -взаимодействием с Phe107. Профиль RMSD лиганда характеризуется быстрым выходом на плато и невысокими значениями, достигающими $\approx 0,15$ – $0,25$ нм, тогда как RMSD белка стабилизируется

в диапазоне $\approx 0,20$ – $0,30$ нм (рис. 6В). Это свидетельствует о высокой стабильности комплекса и устойчивом удержании лиганда в связывающем сайте. Для наглядности совокупность описанных взаимодействий представлена на рисунке 6С в виде распределения интенсивности взаимодействий по аминокислотным остаткам.

В комплексе NMDA-рецептора с ADK-1113 по результатам молекулярной динамики наблюдаются заметные отклонения от исходной докинг-позы (рис. 7А). Несмотря на сохранение общего положения лиганда в канале, происходит его частичная переориентация. Анализ RMSD (рис. 7В) показывает, что как лиганд, так и белок характеризуются повышенной подвижностью. RMSD лиганда быстро возрастает в начальной стадии траектории и далее колеблется в диапазоне $\approx 0,5$ – $0,6$ нм. При этом RMSD белка демонстрирует постепенное

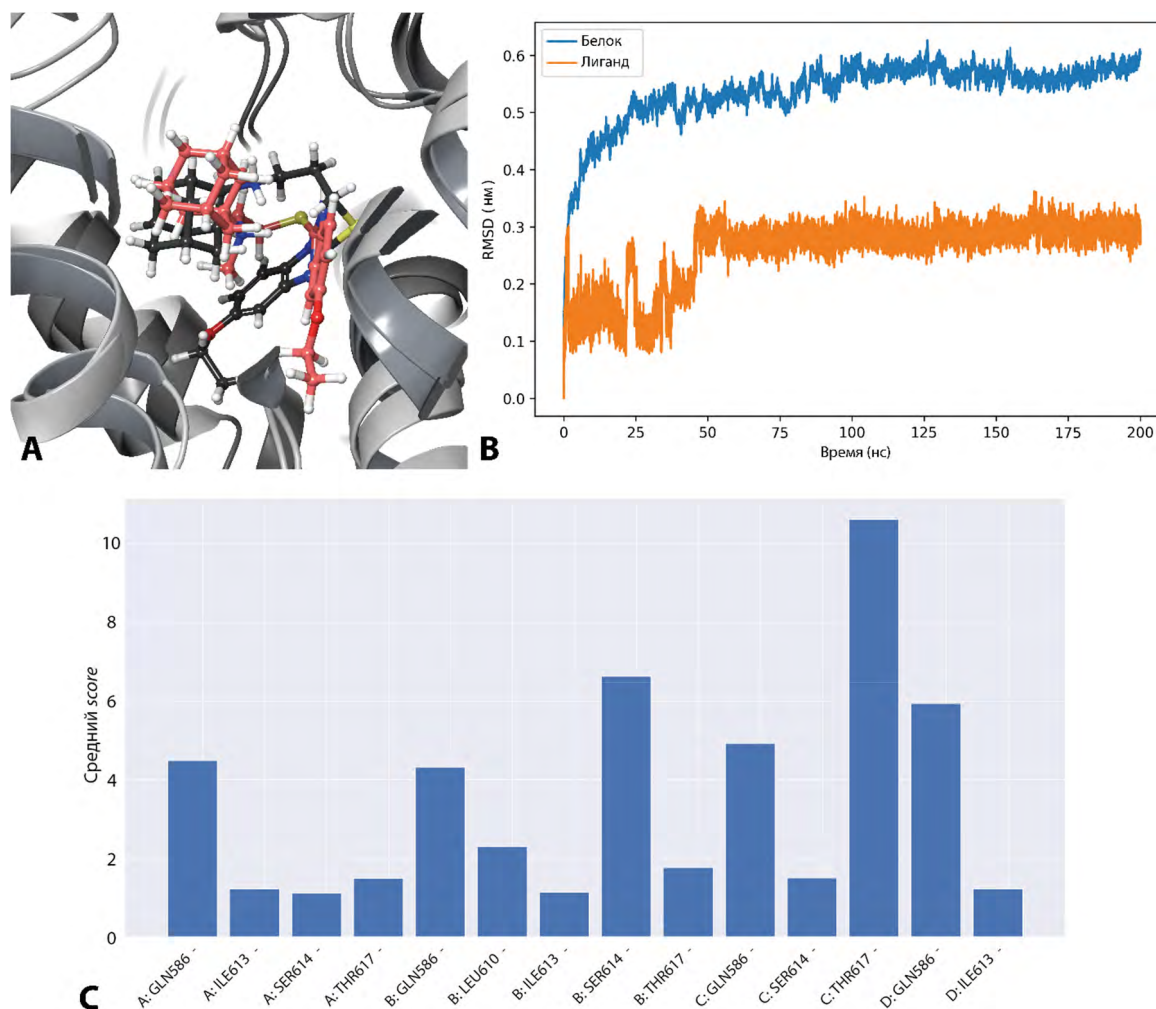


Рис. 8. Анализ стабильности и взаимодействий комплекса AMPA-рецептора с ADK-1113 по результатам молекулярной динамики

Fig. 8. Analysis of the stability and interactions of the AMPA-receptor — ADK-1113 complex based on molecular dynamics results

Примечания: А — сравнение комплекса: результат докинга (серый) и структура после 200 нс МД (голубой); В — RMSD рецептора и лиганда; С — гистограмма взаимодействий в комплексе.

Notes: А — comparison of the complex: docking pose (gray) and structure after 200 ns of molecular dynamics (blue); В — RMSD of the receptor and ligand; С — interaction histogram for the complex.

увеличение на протяжении всей симуляции, достигая значений $\approx 0,6$ нм к концу траектории, без выхода на чёткое плато. Такое поведение указывает на наличие медленных конформационных перестроек белка и в целом менее стабильный характер комплекса по сравнению с σ_1 -рецептором. Согласно анализу распределения взаимодействий (рис. 7С), наиболее значимыми являются контакты с остатками Val613 (цепи С и D). Контакт с Asn615, выявленный также в докинговой позе, может соответствовать водородной связи с участием протонированного атома азота лиганда.

В комплексе AMPA-рецептора с ADK-1113 в ходе молекулярной динамики наблюдается изменение исходной докинговой позы лиганда (рис. 8А). При этом лиганд сохраняет общее положение в пределах связывающего сайта, однако происходит переориентация его

отдельных фрагментов, в первую очередь гибкого линкера и ароматической части. Анализ RMSD (рис. 8В) показывает, что после начального участка траектории RMSD лиганда стабилизируется в диапазоне $\approx 0,25$ – $0,35$ нм, что указывает на сохранение его положения в связывающем сайте. RMSD белка возрастает до $\approx 0,5$ – $0,6$ нм и далее остаётся в пределах этого диапазона, что указывает на отсутствие дальнейшей выраженной дестабилизации системы. В целом значения RMSD ниже, чем в случае NMDA-рецептора. Согласно анализу распределения взаимодействий (рис. 8С), наиболее значимыми являются контакты с остатками Gln586 (всех четырёх цепей), остатком Ser614 цепи В и Thr617 цепи С. Контакт с Gln586 цепи В, выявленный также в докинговой позе, может соответствовать водородной связи с участием протонированного атома азота бензимидазольного фрагмента.

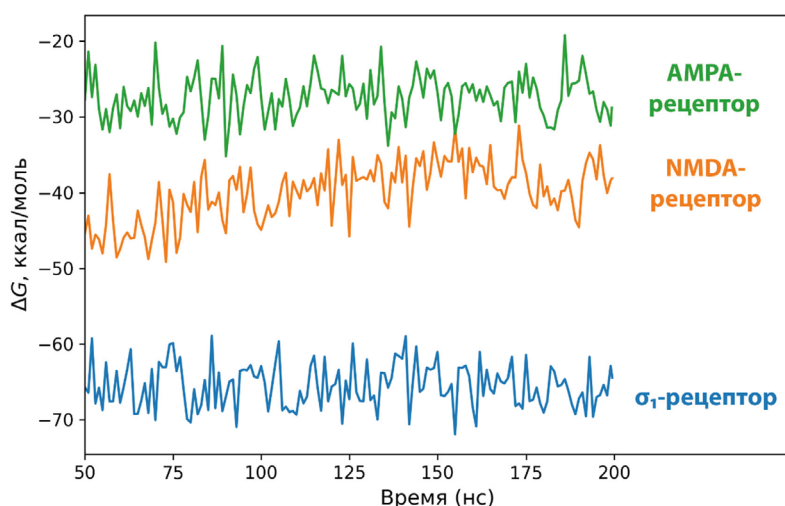


Рис. 9. Зависимость свободной энергии связывания (ΔG) комплексов ADK-1113 с σ_1 -, NMDA- и AMPA-рецепторами от времени по данным молекулярной динамики, рассчитанная методом ММ/РБСА

Fig. 9. Time dependence of binding free energy (ΔG) for ADK-1113 complexes with σ_1 , NMDA, and AMPA receptors obtained from molecular dynamics simulations and calculated using the MM/PBSA method

Расчёты свободной энергии связывания методом ММ/РБСА показали, что среди исследованных комплексов наиболее отрицательные значения ΔG наблюдаются для комплекса ADK-1113 с σ_1 -рецептором (рис. 9). На протяжении анализируемого участка траектории значения ΔG для данного комплекса находились преимущественно в диапазоне от -60 до -70 ккал/моль, со средним значением около -65 ккал/моль, что указывает на наиболее термодинамически выгодное связывание лиганда с этой мишенью. Для комплекса с NMDA-рецептором значения свободной энергии связывания были менее отрицательными и варьировали приблизительно от -35 до -47 ккал/моль, составляя в среднем около -40 ккал/моль. Это соответствует промежуточной стабильности комплекса по сравнению с σ_1 - и AMPA-рецепторами. Наименее выгодные значения ΔG были получены для комплекса с AMPA-рецептором: они находились преимущественно в диапазоне от -22 до -32 ккал/моль, со средним значением около -27 ккал/моль. Таким образом, данные ММ/РБСА подтверждают выраженное преимущество связывания ADK-1113 с σ_1 -рецептором, тогда как взаимодействие с NMDA-рецептором характеризуется умеренной, а с AMPA-рецептором — наименьшей термодинамической стабильностью.

Заключение / Conclusion

Результаты проведённого исследования показывают, что ADK-1113 способен формировать комплексы со всеми рассмотренными рецепторами — σ_1 -, NMDA- и AMPA-рецепторами. Это согласуется с результатами молекулярного докинга и с сохранением лиганда в пределах связывающих сайтов в ходе моле-

кулярно-динамического моделирования. При этом наибольшая стабильность комплекса наблюдается для σ_1 -рецептора, что согласуется с наиболее отрицательными значениями свободной энергии связывания, полученными методом ММ/РБСА. Комплекс с NMDA-рецептором характеризуется промежуточной стабильностью, тогда как для AMPA-рецептора получены наименее выгодные значения энергии связывания.

Таким образом, ADK-1113 можно рассматривать как соединение с потенциальной мультитаргетной активностью, способное взаимодействовать с несколькими компонентами нейромедиаторных систем. Это делает его перспективным объектом для дальнейших исследований, направленных на уточнение функциональной активности и оптимизацию селективности. Следует отметить, что полученные результаты, основанные на моделировании *in silico*, требуют дальнейшего экспериментального подтверждения.

Ограничения исследования / Study limitations

Настоящее исследование выполнено с использованием методов молекулярного моделирования, поэтому полученные результаты следует рассматривать как предварительную оценку возможного взаимодействия ADK-1113 с σ_1 -, NMDA- и AMPA-рецепторами, а не как прямое экспериментальное подтверждение его механизма действия. Кроме того, использование усечённых структурных моделей рецепторов и приближённого метода ММ/РБСА не позволяет полностью учитывать нативное мембранное окружение, конформационную динамику белков и все энергетические вклады, что требует дальнейшей экспериментальной проверки полученных данных.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Дюжева М. А. — выполнение расчётной части исследования, анализ и интерпретация результатов, написание текста статьи; *Маликин Д. О.* — участие в обсуждении дизайна исследования и интерпретации результатов; *Максименко А. С.* — анализ данных литературы, написание введения, редактирование текста; *Капица И. Г.* — анализ данных литературы, редактирование текста; *Мокров Г. В.* — постановка задачи, научное руководство, критический пересмотр и редактирование текста; *Дорофеев В. Л.* — общее руководство исследованием, организационное сопровождение работы, утверждение окончательной версии статьи.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках Государственного задания по теме НИР № FGFG-2025-0009.

Соответствие принципам этики

Авторы заявляют, что одобрение комитетом по этике не требовалось, поскольку были проанализированы обезличенные данные технологического процесса, и в исследовании непосредственно не участвовали люди.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Authors' participation

Diuzheva MA — performance of the computational part of the study, analysis and interpretation of the results, writing of the text; *Malikin DO* — participation in the discussion of the study design and interpretation of the results; *Maksimenko AS* — analysis of literature data, writing of the Introduction, editing of the text; *Kapitsa IG* — analysis of literary data, text editing; *Mokrov GV* — formulation of the research objective, scientific supervision, critical revision and editing of the text; *Dorofeev VL* — general supervision of the study, organizational support, approval of the final version of the manuscript.

Funding

The study was performed within the framework of the State assignment under the R&D topic № FGFG-2025-0009.

Ethics approval

According to the authors, the analysis was based on previously published anonymised data (technological records), and the study did not involve direct participation of human subjects. Hence, this study is exempt from ethics approval.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Дюжева Мария Александровна — ведущий инженер лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: dyuzheva_ma@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1515-091X>
РИНЦ SPIN-код: 6306-6192

Маликин Даниил Олегович — м. н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: malikin_do@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-8949-6683>
РИНЦ SPIN-код: 2485-0630

Mariia A. Diuzheva — Lead Engineer at the Fine Organic Synthesis Laboratory at the Drug Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: dyuzheva_ma@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1515-091X>
RSCI SPIN code: 6306-6192

Daniel O. Malikin — Junior Researcher at the Fine Organic Synthesis Laboratory at the Drug Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: malikin_do@academpharm.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8949-6683>
RSCI SPIN code: 2485-0630

Максименко Анна Сергеевна — к. х. н., с. н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: maksimenko_as@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6945-2046>
РИНЦ SPIN-код: 2250-5529

Капица Инга Геннадиевна — к. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейropsychофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: kapica_ig@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4487-0991>
РИНЦ SPIN-код: 7339-8634

Мокров Григорий Владимирович — д. х. н., гл. н. с., руководитель отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>
РИНЦ SPIN-код: 8755-7666

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и. о. генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
РИНЦ SPIN-код: 3237-7268

Anna S. Maksimenko — PhD, Cand. Sci. (Chemical), Senior Researcher of the Fine Organic Synthesis Laboratory at the Drug Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: maksimenko_as@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6945-2046>
RSCI SPIN code: 2250-5529

Inga G. Kapitsa — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of the Laboratory of Pharmacology of Mental Disorders, Department of Neuropsychopharmacology, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: kapica_ig@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4487-0991>
RSCI SPIN code: 7339-8634

Grigory V. Mokrov — PhD, Dr. Sci. (Chemical), Chief Researcher, Head of Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
Corresponding author
e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>
RSCI SPIN code: 8755-7666

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
RSCI SPIN code: 3237-7268

Список литературы / References

1. Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A, et al. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *J Med Chem*. 2008 Feb 14;51(3):347-72. doi: 10.1021/jm7009364.
2. Morphy R, Rankovic Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. *J Med Chem*. 2005 Oct 20;48(21):6523-43. doi: 10.1021/jm058225d.
3. Terry AV Jr, Callahan PM, Hall B, Webster SJ. Alzheimer's disease and age-related memory decline (preclinical). *Pharmacol Biochem Behav*. 2011 Aug;99(2):190-210. doi: 10.1016/j.pbb.2011.02.002. EDN: OLIYYN
4. Grigoriev VV, Shevtsova EF, Aksinenko AY, et al. New Hybrid Structures Based on Memantine and Edaravone Molecules. *Dokl Biochem Biophys*. 2023 Oct;512(1):284-287. doi: 10.1134/S1607672923700461. EDN: FDLNME
5. Капица И.Г., Кравцова О.Ю., Дворянинов Д.А. и др. Антипаркинсоническая активность нового адамантильного производного

- бензимидазола (ADK-1113) в эксперименте на мышах. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2024;87(3):3-8. [Kapitsa IG, Kravtsova OYu, Dvoryaninov DA, et al. Experimental study of antiparkinsonian activity of the new adamantyl derivative of benzimidazole (ADK-1113) in mice. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2024;87(3):3-8. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2024-87-3-3-8. EDN: CWLIYV
6. Dembitsky VM, Glorizova TA, Poroikov VV. Pharmacological profile of natural and synthetic compounds with rigid adamantane-based scaffolds as potential agents for the treatment of neurodegenerative diseases. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020 Sep 3;529(4):1225-1241. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.06.123. EDN: BNDYRA
 7. Symmetrel (amantadine hydrochloride). Prescribing information [Internet]. U.S. Food and Drug Administration; 2009 [cited 2026 Apr 28]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/016023s041,018101s0161bl.pdf.

8. Ладастен. Инструкция по медицинскому применению [Интернет]. Web Archive [доступ от 28.04.2026]. Доступ по ссылке: <https://web.archive.org/web/20120607050219/http://www.ladasten.ru>.
9. Amantadine. International Drug Names [Internet]. Drugs.com [cited 2026 Apr 28]. Available from: <https://www.drugs.com/international/amantadine.html>.
10. Kornhuber J, Bormann J, Hübers M, et al. Effects of the 1-amino-adamantanes at the MK-801-binding site of the NMDA-receptor-gated ion channel: a human postmortem brain study. *Eur J Pharmacol*. 1991 Apr 25;206(4):297-300. doi: 10.1016/0922-4106(91)90113-v.
11. Патент РФ на изобретение №2694837/ 17.07.2019. Бюл. №20. Середенин С.Б., Яркова М.А., Алексеев К.В., и др. Фармацевтическая композиция пролонгированного действия на основе 5-этокси-2-[2-(морфолино)-этилтио] бензимидазола дигидрохлорида и/или основания (Афобазола). [Patent RUS №2694837/ 17.07.2019. Byul. №20. Seredenin SB, Yarkova MA, Alekseev KV, et al. Farmatsevticheskaya kompozitsiya prolongirovannogo deistviya na osnove 5-etoksi-2-[2-(morfolino)-etiltilio] benzimidazola digidrokhlorida i/ili osnovaniya (Afobazola). (In Russ.)]. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2694837C2/en>. Ссылка активна на 04.05.2026.
12. Seredenin SB, Antipova TA, Voronin MV, et al. Interaction of afobazole with sigma1-receptors. *Bull Exp Biol Med*. 2009 Jul;148(1):42-4. doi: 10.1007/s10517-009-0624-x. EDN: MWZCWV
13. Сюняков Т.С., Незнамов Г.Г. Оценка терапевтической эффективности и безопасности селективного анксиолитика афобазола при генерализованном тревожном расстройстве и расстройствах адаптации: результаты многоцентрового рандомизированного сравнительного с диазепамом исследования. *Терапевтический архив*. 2016;88(8):73-86. [Syunyakov TS, Neznamov GG. Evaluation of the therapeutic efficacy and safety of the selective anxiolytic afobazole in generalized anxiety disorder and adjustment disorders: Results of a multicenter randomized comparative study of diazepam. *Therapeutic Archive*. 2016;88(8):73-86. (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh201688873-86 EDN: WKGCFJ
14. Johnston RC, Yao K, Kaplan Z, et al. Epik: pKa and Protonation State Prediction through Machine Learning. *J Chem Theory Comput*. 2023 Apr 25;19(8):2380-2388. doi: 10.1021/acs.jctc.3c00044. EDN: LRD XV F
15. Schrödinger Release 2025-2: LigPrep. Schrödinger, LLC, New York, NY; 2025.
16. Lu C, Wu C, Ghoreishi D, et al. OPLS4: Improving Force Field Accuracy on Challenging Regimes of Chemical Space. *J Chem Theory Comput*. 2021 Jul 13;17(7):4291-4300. doi: 10.1021/acs.jctc.1c00302. EDN: ROXRCC
17. Case DA, Aktulga HM, Belfon K, et al. AmberTools. *J Chem Inf Model*. 2023 Oct 23;63(20):6183-6191. doi: 10.1021/acs.jcim.3c01153. EDN: ZFMYXL
18. Michaud-Agrawal N, Denning EJ, Woolf TB, Beckstein O. MDAAnalysis: a toolkit for the analysis of molecular dynamics simulations. *J Comput Chem*. 2011 Jul 30;32(10):2319-27. doi: 10.1002/jcc.21787.
19. Valdés-Tresanco MS, Valdés-Tresanco ME, Valiente PA, Moreno E. gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy Calculations with GROMACS. *J Chem Theory Comput*. 2021 Oct 12;17(10):6281-6291. doi: 10.1021/acs.jctc.1c00645. EDN: ROBNIM
20. Scheurer M, Rodenkirch P, Siggel M, et al. PyContact: Rapid, Customizable, and Visual Analysis of Noncovalent Interactions in MD Simulations. *Biophys J*. 2018 Feb 6;114(3):577-583. doi: 10.1016/j.bpj.2017.12.003. EDN: VERSUE
21. Lee IT, Chen S, Schetz JA. An unambiguous assay for the cloned human sigma1 receptor reveals high affinity interactions with dopamine D4 receptor selective compounds and a distinct structure-affinity relationship for butyrophenones. *Eur J Pharmacol*. 2008 Jan 14;578(2-3):123-36. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.09.020.



Хроматографическое определение родственных примесей в субстанции оригинального соединения с противоэпилептической активностью ГИЖ-298: разработка и валидация методики

Подгорнова В. А., Сергеева М. С., Грушевская Л. Н., Кузнецов Д. Н., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Для внедрения в медицинскую практику нового оригинального соединения под шифром ГИЖ-298, обладающего выраженной противосудорожной активностью в экспериментах *in vivo*, требуется проведение его всесторонней фармацевтической разработки. Одним из её ключевых этапов, обеспечивающим качество, безопасность и эффективность будущего лекарственного средства, является разработка методик контроля родственных примесей.

Цель работы. Разработка и валидация методики определения родственных примесей в субстанции нового оригинального противосудорожного соединения ГИЖ-298 методом ВЭЖХ-УФ.

Материалы и методы. Исследования выполнены на опытных образцах субстанции ГИЖ-298, а также на исходных, промежуточных и побочном продуктах её синтеза. Хроматографическое разделение проведено на жидкостном хроматографе Infinity 1260 (Agilent Technologies, США), оснащённом спектрофотометрическим детектором с переменной длиной волны, программное обеспечение Agilent OpenLAB CDS ChemStation. Стрессовые исследования для оценки специфичности проведены в условиях воздействия 0,1 М раствора HCl, 0,1 М раствора NaOH, 3 % раствора H₂O₂, а также при воздействии светового излучения в камере ATLAS SUNTEST CPS+ с системой охлаждения ATLAS SunCool (ATLAS MTT, США).

Результаты. Разработана методика определения родственных примесей в субстанции ГИЖ-298 методом ВЭЖХ-УФ на колонке BDS Hypersil C18 250 мм × 4,6 мм, 5 мкм (Agilent Technologies, США). Состав подвижной фазы: смесь 0,02 М раствора дикалия гидрофосфата с pH 7,45±0,05, ацетонитрила и метанола (250:100:100). Методика валидирована по следующим характеристикам: специфичность, линейность, предел обнаружения, предел количественного определения, правильность и прецизионность (сходимость). Методика позволяет обнаруживать как известные технологические примеси на уровне 0,05 % и ниже, так и примеси, образующиеся в процессе гидролиза, окисления и фотодеструкции субстанции ГИЖ-298.

Заключение. Разработанная методика может быть использована для оценки содержания родственных примесей в фармацевтической субстанции ГИЖ-298 и лекарственных препаратах на её основе.

Ключевые слова: ГИЖ-298; родственные примеси; валидация; высокоэффективная жидкостная хроматография; ВЭЖХ

Для цитирования:

Подгорнова В. А., Сергеева М. С., Грушевская Л. Н., Кузнецов Д. Н., Дорофеев В. Л. Хроматографическое определение родственных примесей в субстанции оригинального соединения с противоэпилептической активностью ГИЖ-298: разработка и валидация методики. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):17–29. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-17-29>. EDN: CXATFU

Поступила: 05.06.2026. **В доработанном виде:** 15.06.2026. **Принята к печати:** 25.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Chromatographic determination of related substances in the original antiepileptic compound GIZH-298 substance: development and validation of a method

Valeriya A. Podgornova, Mariya S. Sergeeva, Lyubov N. Grushevskaya, Dmitry N. Kuznetsov, Vladimir L. Dorofeev
Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. For the introduction into medical practice of the new original compound codenamed GIZH-298, which exhibits pronounced anticonvulsant activity in *in vivo* experiments, comprehensive pharmaceutical development is required. One of its key stages ensuring the quality, safety, and efficacy of the future drug product is the development of methods for the related substances control.

Objective. Development and validation of a related substances determination method for the new original anticonvulsant compound GIZH-298 substance by HPLC-UV.

Materials and methods. The studies were performed on pilot samples of the GIZH-298 substance, as well as on the starting, intermediate, and by-products of its synthesis. Chromatographic separation was carried out on an Infinity 1260 liquid chromatograph (Agilent Technologies, USA) equipped with a variable wavelength spectrophotometric detector, using Agilent OpenLAB CDS ChemStation software. Stress studies to assess specificity were conducted under exposure to 0.1 M HCl, 0.1 M NaOH, 3 % H₂O₂, as well as under light exposure in an ATLAS SUNTEST CPS+ chamber with an ATLAS SunCool cooling system (ATLAS MTT, USA).

Results. A related substances determination method in the GIZH-298 substance by HPLC-UV was developed using a BDS Hypersil C18 column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, Agilent Technologies, USA). Mobile phase: 0.02 M dipotassium hydrogen phosphate solution (pH 7.45±0.05), acetonitrile and methanol (250:100:100). Validated covered specificity, linearity, detection limit, quantitation limit, accuracy, and precision (repeatability). The method detects known process-related impurities at the level of 0.05 % and below, as well as impurities formed during hydrolysis, oxidation, and photodegradation.

Conclusions. The developed method is suitable for assessing related substances in the GIZH-298 pharmaceutical substance and its drug products.

Keywords: GIZH-298; related substances; validation; high performance liquid chromatography; HPLC

For citations:

Podgornova VA, Sergeeva MS, Grushevskaya LN, Kuznetsov DN, Dorofeev VL. Chromatographic determination of related substances in the original antiepileptic compound GIZH-298 substance: development and validation of a method. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):17–29. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-17-29>. EDN: CXATFU

Received: 05.06.2026. Revision received: 15.06.2026. Accepted: 25.06.2026. Published: 30.06.2026.

Введение / Introduction

По оценкам ВОЗ, эпилепсия остаётся одним из самых распространённых неврологических заболеваний в мире (болезнью страдают около 50 миллионов человек всех возрастов по всему миру) и занимает четвёртое место по распространённости после мигрени, инсульта и деменции, вызванной болезнью Альцгеймера [1, 2]. Примерно у половины людей с эпилепсией имеются сопутствующие соматические или психические заболевания. Наличие у людей с эпилепсией сопутствующей патологии сопряжено с ухудшением состояния здоровья, увеличением потребностей в оказании медицинской помощи, снижением качества жизни и усугублением социальной изоляции. К наиболее распространённым сопутствующим психическим заболеваниям относятся депрессия (23 %) и тревожные состояния (20 %) [1].

Таким образом, одним из перспективных направлений в разработке новых противоэпилептических средств является создание лекарственных препаратов, обладающих дополнительными фармакологическими эффектами, такими как улучшение когнитивных функций и снижение уровня тревожности у пациентов.

В рамках исследований, направленных на поиск и создание новых лекарственных средств с противосудорожной активностью, проводимых в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», было синтезировано

соединение под шифром ГИЖ-298. По химическому строению ГИЖ-298 относится к группе диалкиламиноалкильных производных оксимов бензоилпиридинов и представляет собой *Z*-*O*-2-морфолиноэтилоксим 4-бензоилпиридина оксалат (рис. 1) [3]. В доклинических экспериментах *in vivo* продемонстрирована его выраженная противосудорожная активность в широком наборе моделей, а также анксиолитические свойства [3–7], что позволяет рассматривать данное соединение в качестве перспективного кандидата для дальнейшей фармацевтической разработки. При этом путь от синтезированной молекулы до лекарственного препарата требует решения целого комплекса задач, среди которых одно из ключевых мест занимает обеспечение надлежащего уровня качества фармацевтической субстанции. В соответствии с требованиями отечественной и международной нормативной правовой документации в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах должен осуществляться контроль родственных примесей [8–10], поскольку присутствие посторонних веществ в лекарственных средствах может оказывать влияние на их терапевтическую эффективность и безопасность.

Цель / Objective

Цель настоящего исследования — разработка и валидация аналитической методики определения родственных примесей, обеспечивающей контроль

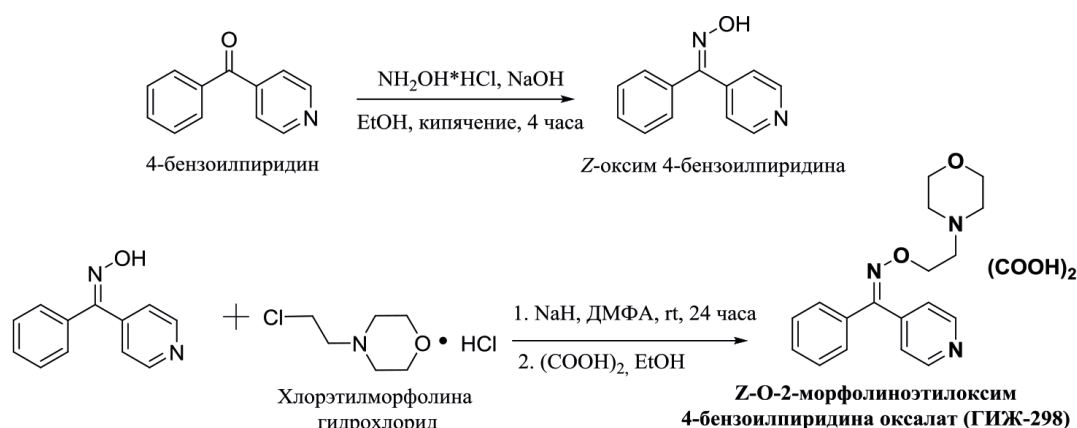


Рис. 1. Схема синтеза субстанции ГИЖ-298

Fig. 1. GIZH-298 substance synthesis route

Источник: рисунок подготовлен авторами на основании [3].

Source: the figure was prepared by the authors based on [3].

исходных, промежуточных и побочных продуктов синтеза, а также потенциальных продуктов деструкции в субстанции ГИЖ-298 с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием (ВЭЖХ-УФ).

Материалы и методы / Materials and methods

Материалы / Materials. Исследования выполнены на опытных образцах субстанции ГИЖ-298, синтезированных в лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (руководитель отдела — д. х. н. *Г. В. Мокров*).

Согласно схеме синтеза [3] (рис. 1) в качестве веществ-свидетелей при разработке методики использовали 4-бензоилпиридин (Macklin, кат. № B685447), хлорэтилморфолина гидрохлорид (Macklin, кат. № 888351), а также Z-оксим 4-бензоилпиридина и побочный продукт синтеза субстанции ГИЖ-298 — E-O-2-морфолиноэтилоксим 4-бензоилпиридина оксалат (E-ГИЖ-298), синтезированные в лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

При разработке методики были использованы следующие реактивы: ацетонитрил (для ВЭЖХ (for UV, IR, HPLC, ACS), AppliChem, Германия), метанол (для ультраградиентной ВЭЖХ ((ultra) gradient HPLC grade for liquid), Baker, США), дикалия гидрофосфат безводный ($\geq 99,0\%$, Sigma-Aldrich, Германия), калия дигидрофосфат (extra pure, Pharmpur, Scharlau, Испания), кислота ортофосфорная 85 % (Orthophosphoric acid 85 % for analysis, EMSURE, ACS, ISO, Reag. Ph Eur, Supelco, Швейцария), кислота соляная, ХЧ, ГОСТ 3118-77; натрия гидроокись, ЧДА, ГОСТ 4328-77, водорода пероксид, ХЧ, ГОСТ 10929-76.

Методы / Methods. Хроматографическое разделение ГИЖ-298, его технологических примесей и продуктов деструкции выполнено на жидкостном хроматографе Infinity 1260 (Agilent Technologies, США), оснащённом спектрофотометрическим детектором с переменной длиной волны, программное обеспечение Agilent OpenLAB CDS ChemStation. В работе использованы стальные хроматографические колонки, заполненные октадецилсилильным силикагелем (C18) — BDS Hypersil C18 250 мм $\times$ 4,6 мм, 5 мкм (Agilent Technologies, США) и Zorbax SB-C18 StableBond Analytical 250 мм $\times$ 4,6 мм, 5 мкм, (Agilent Technologies, США), а также подвижные фазы, включавшие ацетонитрил, метанол и фосфатные буферные растворы со значениями pH 2,00–7,50.

УФ-спектры исследуемых веществ регистрировали на спектрофотометре Unico 2804 (United Products and Instruments, США), измерения проводили в кварцевых

кюветах марки Hellma Analytics (QS) с толщиной слоя 10 мм (Hellma GmbH & Co. KG, Германия).

Разрабатываемая методика количественного определения родственных примесей в субстанции ГИЖ-298 была валидирована в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик» (ГФ РФ XV издания ОФС.1.1.0012) по показателям специфичность, линейность, предел обнаружения (ПО), предел количественного определения (ПКО), правильность и прецизионность [11].

Для оценки специфичности разработанной методики в отношении потенциальных продуктов деструкции субстанции ГИЖ-298 была подвергнута принудительной деградации под воздействием 0,1 М растворов хлористоводородной кислоты и гидроксида натрия, а также 3 % раствора пероксида водорода. Пробы выдерживали при температуре 70 °C в сушильном шкафу Binder FD 53 (Binder, Германия) в течение 24 часов. Параллельно аналогичным образом готовили соответствующие холостые растворы.

Воздействие на субстанцию светового излучения оценивали в испытательной камере светочувствительности ATLAS SUNTEST CPS+ (ксеноновая лампа, стандарт ID 65) с системой охлаждения ATLAS SunCool (ATLAS MTT, США) в условиях общей световой экспозиции 3,6 млн лк·ч и энергетической экспозиции в ближней ультрафиолетовой области — 1140 Вт·ч/м², что соответствовало троекратному превышению светового воздействия в подтверждающих условиях оценки фотостабильности согласно регуляторным требованиям [12, 13]. Температура внутри камеры не превышала 30 °C.

Оценку правильности и прецизионности (сходимости) разработанной методики проводили на модельных смесях субстанции ГИЖ-298 и известных технологических примесей на трёх уровнях концентрации (контролируемый предел (0,05 %), предполагаемая норма спецификации и 120 % от предполагаемой нормы спецификации). Для каждого уровня концентрации были приготовлены по три модельных смеси.

Исходные растворы технологических примесей были приготовлены отдельно в метаноле, а затем в соответствующих объёмах добавлены к навескам субстанции ГИЖ-298 перед растворением в подвижной фазе.

Определение содержания технологических примесей в модельных смесях проводили с применением внешнего стандарта — раствора каждой из примесей, а также раствора ГИЖ-298 с учётом отклика детектора для каждой из примесей (поправочных коэффициентов). Поправочные коэффициенты для каждой из примесей рассчитывали непосредственно перед каждым испытанием путём хроматографирования стандартного раствора, содержащего ГИЖ-298 и технологические примеси.

В образце субстанции ГИЖ-298, используемом в данном валидационном эксперименте, присутство-

вали неидентифицированная примесь со временем удерживания, близким ко времени удерживания Z-оксима 4-бензоилпиридина, в содержании менее контролируемого предела, а также примесь E-изомера в содержании 0,22 %.

При определении правильности методики содержание этих примесей влияло на открываемость, соответственно, оно было учтено при расчётах. Для пиков Z-оксима 4-бензоилпиридина и E-изомера рассчитывалась «исправленная» площадь пика исходя из значений, полученных при хроматографировании контрольного образца — раствора ГИЖ-298 без добавления технологических примесей.

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

В качестве подвижных фаз при разработке методики использовали различные смеси ацетонитрила, метанола и фосфатных буферных растворов со значениями pH от 2,00 до 7,50 в изократическом режиме элюирования. Проведённые исследования показали, что в двухкомпонентных подвижных фазах на основе фосфатного буферного раствора с pH в диапазоне от 2,01 до 2,35 в смеси с ацетонитрилом или метанолом элюирование ГИЖ-298 происходило слишком быстро за счёт ионизации (протонирования основных центров) молекулы ГИЖ-298 в кислых средах и, соответственно, её неудовлетворительным временем удерживания. Использование двухкомпонентных подвижных фаз с фосфатным буферным раствором с pH 7,45 в смеси с ацетонитрилом или метанолом напротив приводило

к увеличению времени удерживания ГИЖ-298 что обусловлено образованием его нейтральной формы (основания), наблюдалось разделение с примесями, однако в двухкомпонентных смесях с метанолом симметрия пика ГИЖ-298 резко ухудшалась.

Удовлетворительного разделения всех исследуемых соединений, а также неидентифицированных примесей, содержащихся в субстанции ГИЖ-298, удалось добиться при выполнении хроматографического анализа на колонке BDS Hypersil C18 250 × 4,6 мм, 5 мкм, в подвижной фазе состава: 0,02М раствора дикалия гидрофосфата (pH 7,45±0,05) — метанол — ацетонитрил (250:100:100 по объёму); pH раствора дикалия гидрофосфата до нужного значения доводили ортофосфорной кислотой концентрированной. Скорость потока подвижной фазы составила 1,3 мл/мин, температура термостата колонки — 25 °С.

В разработанных хроматографических условиях время удерживания ГИЖ-298 составляло около 14 мин, а примесей Z-оксима 4-бензоилпиридина, 4-бензоилпиридина и E-ГИЖ-298 — около 6 мин, 7,5 мин и 12,5 мин соответственно (рис. 2), усреднённые параметры хроматографического разделения приведены в табл. 1.

Выбор аналитической длины волны осуществляли на основании спектральных характеристик ГИЖ-298 и его примесей: совпадение областей наиболее интенсивного поглощения электромагнитного излучения растворов изучаемых соединений в выбранной подвижной фазе наблюдалось в диапазоне от 205 до 220 нм, в качестве аналитической длины волны была выбрана длина волны 210 нм (рис. 3).

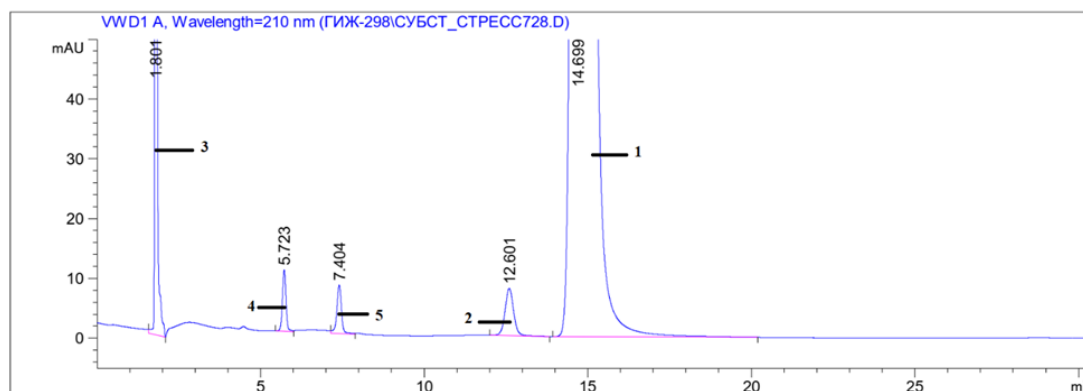


Рис. 2. Хроматограмма модельного раствора субстанции ГИЖ-298 (1) и примесей синтеза (2 — примесь E-ГИЖ-298, 4 — примесь Z-оксим 4-бензоилпиридина, 5 — примесь 4-бензоилпиридина, 3 — пик шавелевой кислоты)

Fig. 2. Chromatogram of a GIZH-298 (1) solution spiked with process impurities (2 — impurity E-GIZH-298, 4 — impurity Z-oxime of 4-benzoylpyridine, 5 — impurity 4-benzoylpyridine, 3 — oxalic acid peak)

Примечания: Концентрация ГИЖ-298 в испытуемом растворе 1 мг/мл, концентрация технологических примесей — 0,01 мг/мл (1 % от содержания основного вещества). Рисунок подготовлен авторами.

Note: Concentration of GIZH-298 in the test solution is 1 mg/mL, concentration of process impurities is 0.01 mg/mL (1 % of the main substance content). The figure is prepared by the authors.

Таблица 1

Параметры хроматографического разделения, ПО и ПКО ГИЖ-298 и технологических примесей

Table 1

Chromatographic separation parameters, limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) of GIZH-298 and process impurities

Соединение	Время удерживания (RT), мин	Относительное время удерживания (RRT)	Разрешение соседних пар (Rs)	Фактор асимметрии пика (As)	ПО, мкг	ПКО, мкг
Z-оксим 4-бензоилпиридина	5,42	0,37±0,02	—	1,17±0,01	0,00003	0,00005
4-бензоилпиридин	7,20	0,50±0,02	7,95	1,18±0,01	0,00003	0,00005
E-ГИЖ-298	12,40	0,85±0,02	14,4	1,08±0,01	0,00005	0,00015
ГИЖ-298	14,50	1	4,97	1,01±0,02	0,00005	0,00015

Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.

Source: the table is prepared by the authors using their own data.

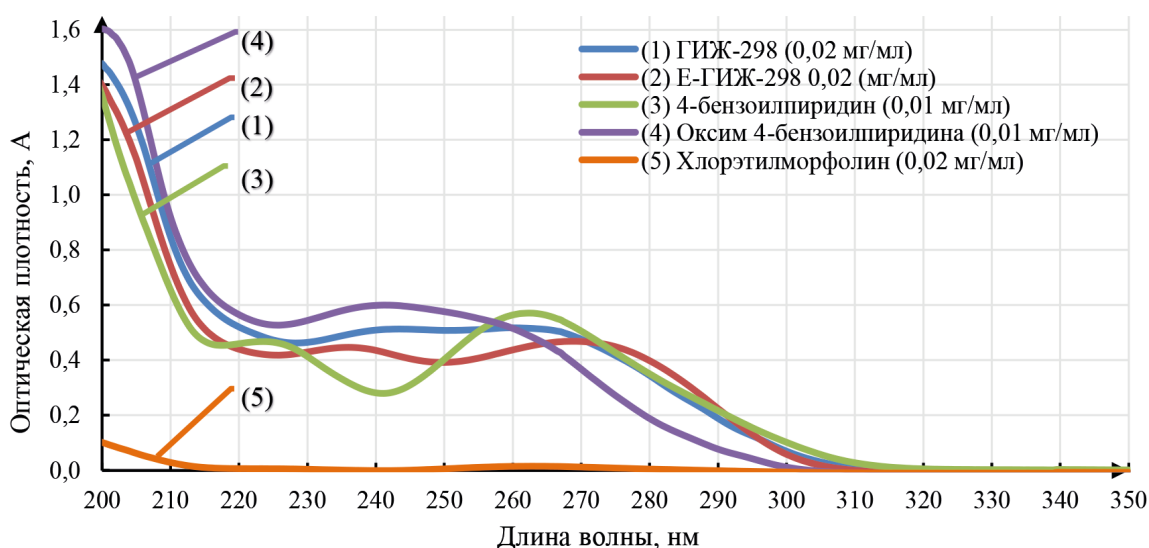


Рис. 3. УФ-спектры поглощения растворов субстанции ГИЖ-298 и исследуемых примесей в подвижной фазе

Fig. 3. UV absorption spectra of GIZH-298 substance solutions and the studied impurities in the mobile phase

Источник: рисунок подготовлен авторами.

Source: the figure is prepared by the authors.

Как видно на рис. 3, поглощение электромагнитного излучения в рабочей УФ-области раствором хлорэтилморфолина, вследствие отсутствия хромофоров в его молекуле, было крайне незначительным, из-за чего было принято решение разрабатывать отдельную методику ТСХ для определения данной примеси.

Практическая идентичность УФ-спектров растворов соли и основания ГИЖ-298 в эквивалентных концентрациях свидетельствует об отсутствии влияния оксалат-иона на поглощение, что позволяет использовать длину волны 210 нм для испытания (рис. 4).

Линейная зависимость площадей пиков ГИЖ-298 и его примесей от концентраций их растворов при длине волны 210 нм была подтверждена в диапазоне от 0,0005 до 0,02 мг/мл. Коэффициенты корреля-

ции для всех соединений превышали 0,9999 (рис. 5). Пределы обнаружения и пределы количественного определения были установлены экспериментально из соотношения сигнал/шум не менее 3:1 и не менее 10:1, соответственно (табл. 1).

На основании полученных результатов оценки линейности, ПО и ПКО технологических примесей и ГИЖ-298 была выбрана рабочая концентрация испытуемого раствора ГИЖ-298, равная 1 мг/мл, обеспечивающая обнаружение известных технологических примесей в анализируемой пробе на уровне 0,05 % (контролируемый предел ГФ РФ XV издания) и ниже.

Специфичность выбранных хроматографических условий в отношении потенциальных продуктов деструкции субстанции ГИЖ-298 подтверждена

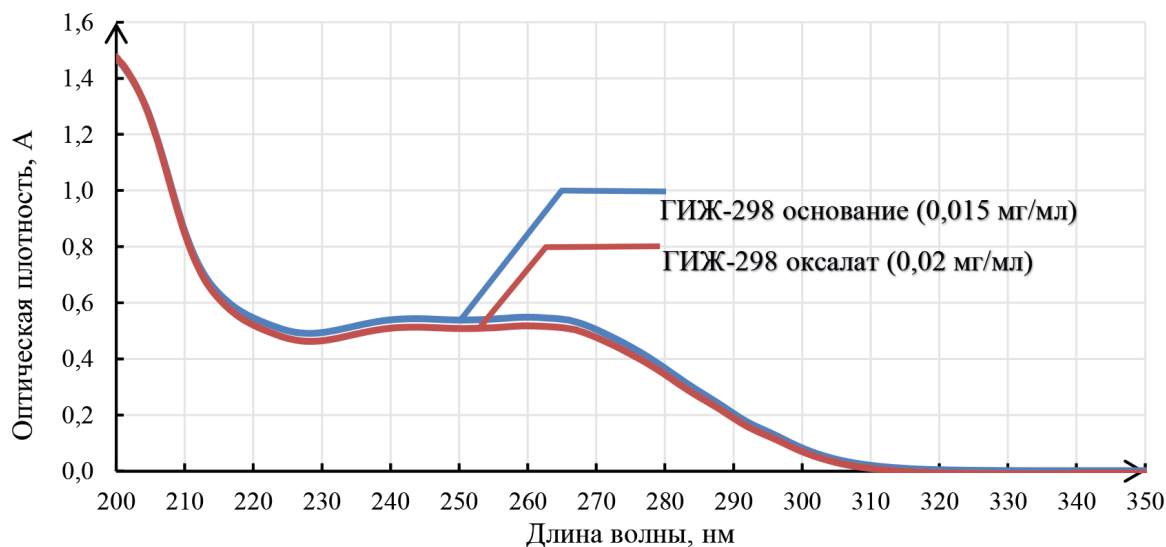


Рис. 4. УФ-спектры поглощения растворов субстанции соли ГИЖ-298 оксалата и основания ГИЖ-298 в подвижной фазе

Fig. 4. UV absorption spectra of GIZH-298 oxalate and GIZH-298 base solutions in the mobile phase

Источник: рисунок подготовлен авторами.

Source: the figure is prepared by the authors.

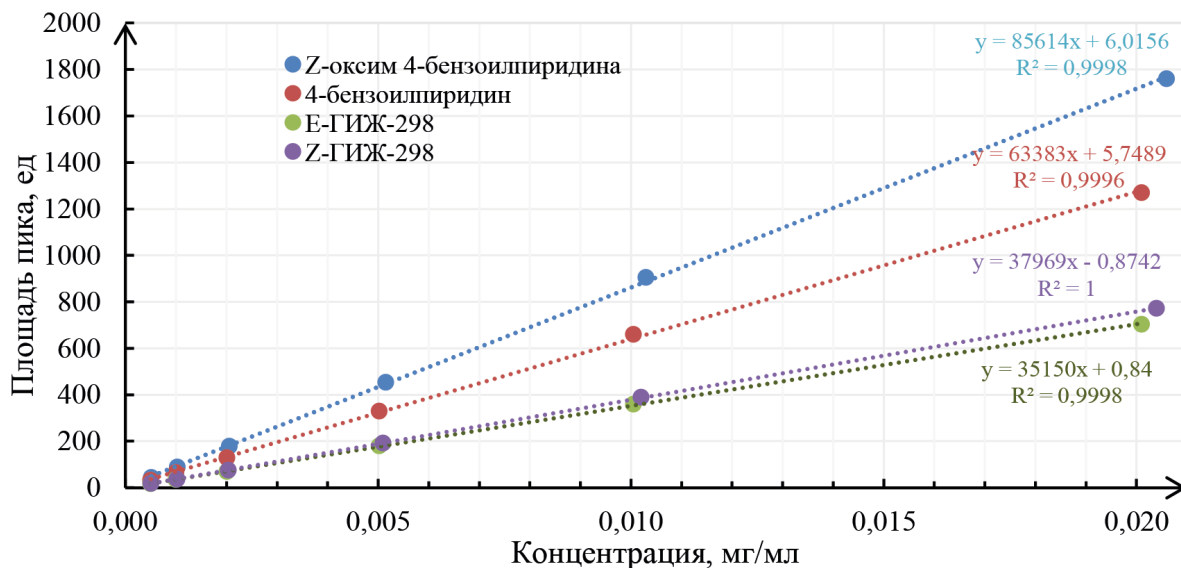


Рис. 5. Зависимость площади пика от концентрации испытуемых растворов ГИЖ-298 и его технологических примесей

Fig. 5. Linearity of peak area vs concentration for GIZH-298 and its process impurities

Источник: рисунок подготовлен авторами.

Source: the figure is prepared by the authors.

в исследованиях принудительной деградации при воздействии 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты, гидроксида натрия, 3 % пероксида водорода, а также при воздействии светового излучения. Репрезентативные хроматограммы при проведении стресс-испытаний представлены на рис. 6.

По результатам хроматографического анализа после воздействия 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты наблюдалось увеличение содержания *E*-изомера до 1,39 % по сравнению с исходным образцом субстанции (содержание *E*-ГИЖ-298 0,34 %). Также в испытуемом образце появлялась дополнительная примесь с $t_{\text{отн}}$ 0,52 (по относительному времени удерживания соответствующая примеси 4-бензоилпиридина, см. табл. 1) в содержании 2,90 %.

В пробе, подвергшейся воздействию 0,1 М раствора натрия гидроксида, содержание *E*-ГИЖ-298 за время эксперимента практически не изменилось по сравнению с контрольным образцом субстанции, новых примесей обнаружено не было.

При хроматографическом анализе раствора ГИЖ-298 после воздействия 3 % раствором пероксида водорода в указанных выше условиях наблюдалась выраженная

деструкция соединения с образованием основного продукта деградации с $t_{\text{отн}}$ 0,31 в содержании 58,86 %. Также в испытуемой пробе были обнаружены: примесь с $t_{\text{отн}}$ 0,38 в содержании 0,39 %, примесь с $t_{\text{отн}}$ 0,52 (предположительно примесь 4-бензоилпиридина) в содержании 0,17 % и ряд других неидентифицированных примесей, содержание *E*-изомера практически не изменилось. Сумма примесей составила 64,02 %.

При световом воздействии на порошок субстанции ГИЖ-298 в твёрдом виде в условиях стрессовых исследований фотостабильности наблюдалось значительное увеличение содержания примеси, соответствующей по относительному времени удерживания примеси *E*-ГИЖ-298, с 0,34 % до 16,70 % что вероятнее всего связано с протеканием процесса интенсивной фотоизомеризации.

Полученные результаты свидетельствуют о достаточной селективности разрабатываемой методики не только в отношении примесей синтеза субстанции ГИЖ-298, но и в отношении продуктов его деструкции, и позволяют сделать вывод о специфичности разрабатываемой методики.

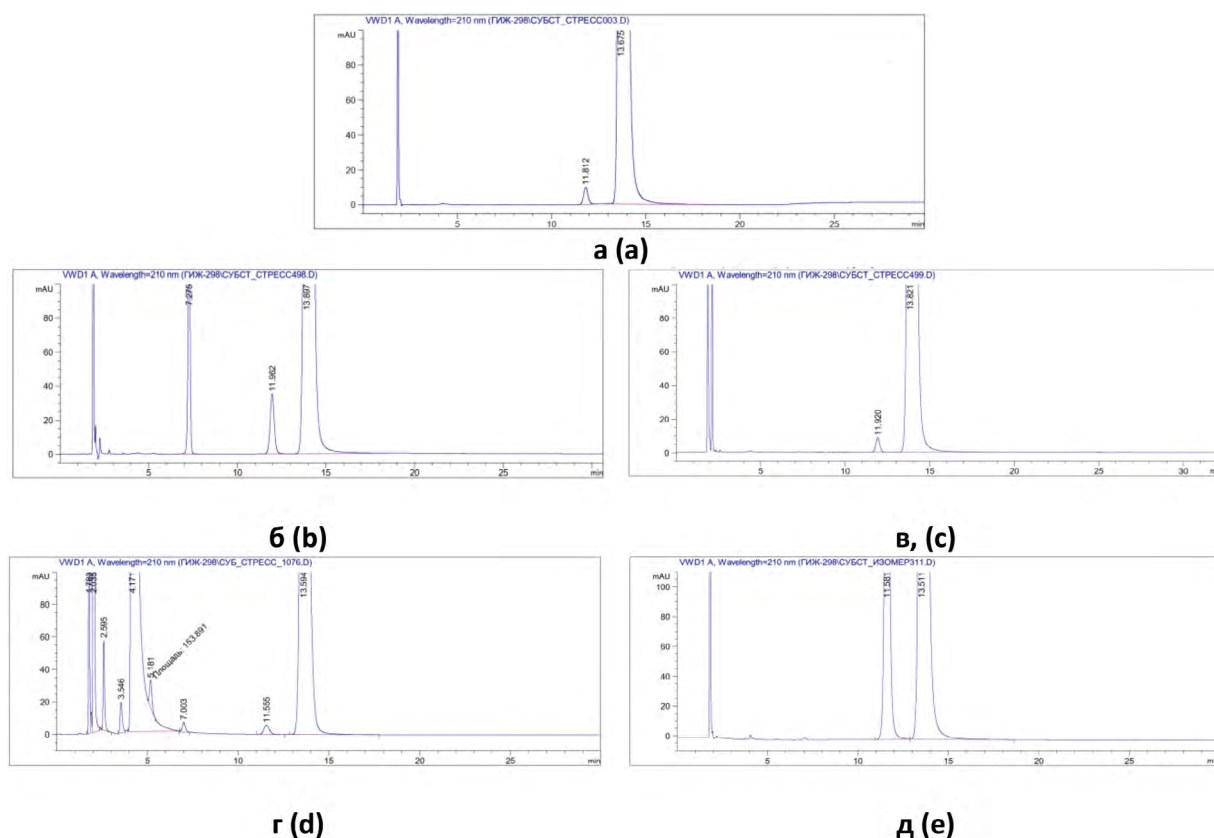


Рис. 6. Хроматограммы исходного испытуемого раствора субстанции ГИЖ-298 (а), испытуемых растворов после воздействия при температуре 70 °С в течение суток 0,1 М раствора НСl (б), 0,1 М раствора NaOH (в), 3 % раствора Н₂О₂ (г), светового излучения (д)

Fig. 6. Chromatograms of the initial test solution of the substance GIZH-298 (a), test solutions after exposure at 70 °C for 24 hours to 0,1 M HCl (b), 0,1 M NaOH (c), 3% H₂O₂ (d), and light exposure (e)

Источник: рисунок подготовлен авторами.
Source: the figure is prepared by the authors.

Определение правильности и прецизионности (сходимости) разработанной методики проведено на модельных смесях ГИЖ-298 (концентрация 1 мг/мл) и каждой из примесей на трёх уровнях концентраций. Для примесей оксима 4-бензоилпиридина и 4-бензоилпиридина правильность и сходимость результатов оценивали на уровнях 0,05 % (концентрация примесей около 0,0005 мг/мл), 0,15 % (концентрация примесей около 0,0015 мг/мл), 0,18 % (концентрация примесей около 0,0018 мг/мл). В случае *E*-ГИЖ-298 предполагаемая норма спецификации была расширена до 0,5 %, на основании данных

токсикологических исследований, проведённых в отделе лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (руководитель отдела — к. б. н. А. К. Жанатаев), а также фактических результатов определения содержания данной примеси в опытных образцах субстанции ГИЖ-298. Соответственно исследуемые уровни концентрации составляли 0,05 % (концентрация 0,0005 мг/мл), 0,5 % (концентрация 0,005 мг/мл) и 0,6 % (концентрация 0,006 мг/мл). Полученные данные и их статистическая обработка представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Результаты оценки правильности и сходимости методики на модельных растворах ГИЖ-298 и примесей с применением внешнего стандарта

Table 2

Results of evaluating the accuracy and precision of the method on GIZH-298 solutions spiked with impurities using an external standard

Содержание в % от концентрации исп. раствора	Взято*, г (m ₁)	Найдено**, г (m ₂)	Абсолютная ошибка (A), (m ₂ – m ₁)	Относительная ошибка A × 100/m ₁	Найдено, %	Метрологические характеристики
Z-оксим 4-бензоилпиридина						
0,05 %	0,0200	0,0191	–0,0009	–4,5	95,5	X _{ср} = 98,17 % SD = 1,93 RSD = 1,97 % ΔX = 1,49 ε = 1,52 % t _{выч.} = 2,84 t _{табл.} = 2,31 δ = 1,83
0,05 %	0,0200	0,0192	–0,0008	–4	96	
0,05 %	0,0200	0,0191	–0,0009	–4,5	95,5	
0,15 %	0,0203	0,0202	–0,0001	–0,5	99,5	
0,15 %	0,0203	0,0200	–0,0003	–1,5	98,5	
0,15 %	0,0203	0,0201	–0,0002	–1	99	
0,18 %	0,0183	0,0183	0	0	100	
0,18 %	0,0183	0,0182	–0,0001	–0,5	99,5	
0,18 %	0,0183	0,0183	0	0	100	
4-бензоилпиридин						
0,05 %	0,0200	0,0202	0,0002	0,8	100,8	X _{ср} = 100,38 % SD = 0,53 RSD = 0,53 % ΔX = 0,41 ε = 0,41 % t _{выч.} = 2,13 t _{табл.} = 2,31
0,05 %	0,0200	0,0201	0,0001	0,6	100,6	
0,05 %	0,0200	0,0201	0,0001	0,6	100,6	
0,15 %	0,0202	0,0204	0,0002	1	101	
0,15 %	0,0202	0,0203	0,0001	0,5	100,5	
0,15 %	0,0202	0,0202	0	0	100	
0,18 %	0,0183	0,0182	–0,0001	–0,5	99,5	
0,18 %	0,0183	0,0182	–0,0001	–0,5	99,5	
0,18 %	0,0183	0,0183	0	0	100	
E-ГИЖ-298						
0,05 %	0,0200	0,0202	0,0002	1	101	X _{ср} = 99,83 % SD = 2,1 RSD = 2,1 % ΔX = 1,62 ε = 1,62 % t _{выч.} = 0,25 t _{табл.} = 2,31
0,05 %	0,0200	0,0192	–0,0008	–4	96	
0,05 %	0,0200	0,0194	–0,0006	–3	97	
0,5 %	0,0203	0,0206	0,0003	1,5	101,5	
0,5 %	0,0203	0,0205	0,0002	1	101	
0,5 %	0,0203	0,0205	0,0002	1	101	
0,6 %	0,0201	0,0198	–0,0003	–1,5	98,5	
0,6 %	0,0201	0,0203	0,0002	1	101	
0,6 %	0,0201	0,0204	0,0003	1,5	101,5	

Примечания: * — масса навески каждой из примесей, взятой при приготовлении исходных растворов; ** — расчёты проведены с учётом всех разведений для получения испытуемой пробы. Таблица составлена авторами по собственным данным.

Notes: * — the weight of the sample of each of the impurities taken during the preparation of the initial solutions; ** — calculations were carried out taking into account all dilutions to obtain the test sample. The table is prepared by the authors using their own data.

Таблица 3

Результаты оценки правильности и сходимости методики на модельных растворах ГИЖ-298 и примесей с применением поправочных коэффициентов

Table 3

Results of evaluating the accuracy and precision of the method on GIZH-298 solutions spiked with impurities using correction factors

Содержание в % от концентрации исп. раствора	Взято*, г (m ₁)	Найдено**, г (m ₂)	Абсолютная ошибка (A), (m ₂ – m ₁)	Относительная ошибка A × 100/m ₁	Найдено, %	Метрологические характеристики
Z-оксим 4-бензоилпиридина (поправочный коэффициент — 0,52)						
0,05%	0,0200	0,0192	–0,0008	–4	96	X _{ср} = 98,15 % SD = 1,40 RSD = 1,42 % ΔX = 1,08 ε = 1,10 % t _{выч.} = 3,98 t _{табл.} = 2,31 δ = 1,85
0,05 %	0,0200	0,0193	–0,0007	–3,5	96,5	
0,05 %	0,0200	0,0193	–0,0007	–3,5	96,5	
0,15 %	0,0203	0,0202	–0,0001	–0,5	99,5	
0,15 %	0,0203	0,0200	–0,0003	–1,48	98,5	
0,15 %	0,0203	0,0201	–0,0002	–1	99	
0,18 %	0,0183	0,0182	–0,0001	–0,5	99,5	
0,18 %	0,0183	0,0181	–0,0002	–1	98,9	
0,18 %	0,0183	0,0181	–0,0002	–1	98,9	
4-бензоилпиридин (поправочный коэффициент — 0,68)						
0,05 %	0,0200	0,0199	–0,0001	–0,3	99,7	X _{ср} = 99,85 % SD = 0,38 RSD = 0,38 % ΔX = 0,3 ε = 0,3 % t _{выч.} = 1,14 t _{табл.} = 2,31
0,05 %	0,0200	0,0199	–0,0001	–0,4	99,6	
0,05 %	0,0200	0,0199	–0,0001	–0,4	99,6	
0,15 %	0,0202	0,0203	0,0001	1	100,6	
0,15 %	0,0202	0,0202	0	–0,1	99,9	
0,15 %	0,0202	0,0201	–0,0001	–0,5	99,5	
0,18 %	0,0183	0,0183	0	0	100	
0,18 %	0,0183	0,0183	0	0	100	
0,18 %	0,0183	0,0184	0,0001	0,36	100,4	
E-ГИЖ-298 (поправочный коэффициент — 1,28)						
0,05 %	0,0200	0,0204	0,0004	2	102	X _{ср} = 99,5 % SD = 1,71 RSD = 1,72 % ΔX = 1,32 ε = 1,32 % t _{выч.} = 0,88 t _{табл.} = 2,31
0,05 %	0,0200	0,0194	–0,0006	–3	97	
0,05 %	0,0200	0,0196	–0,0004	–2	98	
0,5 %	0,0203	0,0205	0,0002	1	101	
0,5 %	0,0203	0,0204	0,0001	0,5	100,5	
0,5 %	0,0203	0,0201	–0,0002	–1	99	
0,6 %	0,0201	0,0196	–0,0005	–2,5	97,5	
0,6 %	0,0201	0,0201	0	0	100	
0,6 %	0,0201	0,0202	0,0001	0,5	100,5	
Примечания: * — масса навески каждой из примесей, взятой при приготовлении исходных растворов; ** — расчёты проведены с учётом всех разведений для получения испытуемой пробы. Таблица составлена авторами по собственным данным. Notes: * — the weight of the sample of each of the impurities taken during the preparation of the initial solutions; ** — the calculations were carried out taking into account all dilutions to obtain the test sample. The table is prepared by the authors using their own data.						

Результаты статистической обработки данных (табл. 2, 3) показали, что для всех технологических примесей, за исключением Z-оксима 4-бензоилпиридина, доверительный интервал среднего значения включает 100 %, а рассчитанные значения критерия Стьюдента (t_{выч.}) не превышают табличные (t_{табл.}), что свидетельствует об отсутствии систематической погрешности. Таким образом, валидируемая методика является правильной. Для Z-оксима 4-бензоилпиридина выявлена систематическая погрешность (δ менее

2 %), однако её величина не оказывает значимого влияния на результаты анализа [14, 15].

Относительная ошибка единичного определения для всех анализируемых примесей не превышает 5,0 %, а значение коэффициента вариации (RSD) составляет менее 3,5 %, что позволяет заключить об удовлетворительной сходимости результатов, полученных на модельных смесях.

Оценку пригодности хроматографической системы было предложено проводить с применением трёх

тестовых растворов. Первый раствор представлял собой раствор ГИЖ-298 с концентрацией 0,005 мг/мл (раствор сравнения), второй раствор — раствор ГИЖ-298 с концентрацией 0,0005 мг/мл (раствор для оценки чувствительности хроматографической системы, ОЧХС), а третий раствор — раствор ГИЖ-298 и его *E*-изомера с концентрацией каждого соединения 0,005 мг/мл (раствор для оценки разделительной способности хроматографической системы).

Для определения пригодности хроматографической системы были выбраны следующие критерии: относительное стандартное отклонение (RSD) результатов пяти отдельных измерений площадей пика ГИЖ-298 на хроматограммах раствора сравнения, число теоретических тарелок (N), рассчитанное для пика ГИЖ-298 на пяти хроматограммах раствора сравнения; коэффициент асимметрии пика ГИЖ-298 (AS), рассчитанный по пяти хроматограммам раствора сравнения, а также разрешение (R_s) пиков ГИЖ-298 и примеси *E*-ГИЖ-298 на хроматограмме для проверки разделительной способности хроматографической системы.

Определение чувствительности хроматографической системы предложено осуществлять путём однократного хроматографирования раствора с концентрацией ГИЖ-298 0,0005 мг/мл (раствор для ОЧХС), что соответствует 0,05 % от рабочей концентрации 1 мг/мл испытуемого раствора ГИЖ-298. Высота пика на хроматограмме раствора для ОЧХС должна превышать величину шума базовой линии (отношение сигнал/шум) не менее чем в 10 раз. Таким образом, выбранный нами уровень минимально определяемой концентрации (предел количественного определения) в соответствии с требованиями ГФ РФ XV издания основан на значении порога игнорирования примесей 0,05 %.

Усреднённые результаты пяти определений пригодности хроматографической системы, выполненных в разные дни на одном и том же оборудовании, представлены в табл. 4.

На основании полученных данных были установлены следующие критерии пригодности хроматографической системы: число теоретических тарелок — не менее 10000; коэффициент асимметрии пика ГИЖ-298 — не более 1,5; относительное стандартное отклонение результатов отдельных измерений площадей пика ГИЖ-298 — не более 2 %. Соотношение сигнал/шум для пика ГИЖ-298 на хроматограмме раствора для ОЧХС должно составлять не менее 10. Разрешение пиков ГИЖ-298 и примеси *E*-ГИЖ-298 на хроматограмме для проверки разделительной способности хроматографической системы должно быть не менее 3.

Ограничения исследования / Study limitations

В данной работе использовали только один наиболее распространённый тип неподвижной фазы (C18); хроматографическое разделение ГИЖ-298 и известных примесей синтеза не изучалось на колонках другого типа (например, Phenyl-Hexyl).

Идентификация примесей продуктов деградации проведена предварительно — на основании относительного времени удерживания и предполагаемого механизма реакции деградации исходя из структуры ГИЖ-298 и условий стрессового воздействия.

Не изучались процессы деструкции при термическом воздействии и воздействии повышенной влажности, соответственно, на данном этапе отсутствуют данные о потенциальных примесях, образующихся в этих условиях.

Заключение / Conclusion

В результате проведённых исследований разработана и валидирована методика определения родственных примесей в субстанции нового соединения с противосудорожной активностью ГИЖ-298 методом ВЭЖХ-УФ, позволяющая с удовлетворительной правильностью и прецизионностью провести количе-

Параметры и критерии пригодности хроматографической системы

Таблица 4

Chromatographic system suitability parameters and criteria

Table 4

Результаты определения параметров пригодности хроматографической системы				
Раствор сравнения			Раствор для ОЧХС	Раствор для оценки разрешения
N	As	RSD	Сигнал/шум	RS
12363	1,17	0,25 %	26,5	5,3
Критерии приемлемости				
Не менее 10000	Не более 1,5	Не более 2 %	Не менее 10	Не менее 3
Источник: таблица составлена авторами по собственным данным. Source: the table is prepared by the authors using their own data.				

ственную оценку содержания родственных примесей 4-бензоилпиридина, оксима 4-бензоилпиридина и примеси *E*-ГИЖ-298 в субстанции в аналитическом диапазоне от 0,05 % до 120 % от предполагаемой нормы их содержания.

Разработанная методика специфична в отношении изученных технологических примесей субстанции ГИЖ-298, а также примесей продуктов щелочного и

кислотного гидролиза, окисления и фотодеструкции ГИЖ-298, что было показано при проведении стрессовых исследований.

В дальнейшем разработанная методика может быть использована для определения родственных примесей в фармацевтической субстанции ГИЖ-298 и лекарственных препаратах на её основе.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Подгорнова В. А. — выполнение исследования, анализ полученных результатов, написание текста и редактирование рукописи; *Сергеева М. С.* — разработка дизайна исследования, анализ полученных результатов, редактирование и утверждение рукописи; *Грушевская Л. Н.* — анализ полученных результатов исследования и редактирование рукописи; *Кузнецов Д. Н.* — анализ полученных результатов исследования и написание текста рукописи; *Дорофеев В. Л.* — анализ полученных результатов, финальное утверждение рукописи.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» FGFG-2025-0010 «Поиск и разработка новых фармакологических средств лечения эпилепсии, инсультов, рассеянного склероза и мигрени на основе современных представлений о патогенезе».

Соответствие принципам этики

Авторы заявляют, что одобрение комитетом по этике не требовалось, поскольку были проанализированы данные аналитических исследований.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The author declares no conflicts of interest.

Authors' participation

Podgornova VA — study execution, data analysis, writing and editing of the manuscript; *Sergeeva MS* — study design development, data analysis, editing and approval of the manuscript; *Grushevskaya LN* — data analysis and manuscript editing; *Kuznetsov DN* — data analysis and manuscript writing; *Dorofeev VL* — data analysis and final approval of the manuscript.

Funding

The work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies FGFG-2025-0010 "Search and development of new pharmacological agents for the treatment of epilepsy, strokes, multiple sclerosis and migraine based on modern concepts of pathogenesis".

Ethics approval

The authors state that ethics committee approval was not required, since data from analytical studies were analyzed.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Подгорнова Валерия Александровна — ведущий инженер лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: podgornova_va@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-9497-035X>

Valeriya A. Podgornova — Leading Engineer of the Laboratory for Standardization and Quality Control of Medicines, Department of Quality and Technology of Medicines Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: podgornova_va@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-9497-035X>

Сергеева Мария Сергеевна — к. фарм. н., заведующий лабораторией стандартизации и контроля качества лекарственных средств отдела качества и технологии лекарственных средств, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: sergeeva_ms@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7155-6714>
РИНЦ SPIN-код: 5017-2424

Mariya S. Sergeeva — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Head of the Laboratory for Standardization and Quality Control of Medicines, Department of Quality and Technology of Medicines Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: sergeeva_ms@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7155-6714>
RSCI SPIN code: 5017-2424

Грушевская Любовь Николаева — д. фарм. н., г. н. с. лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: grushevskaya_ln@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3794-9661>
РИНЦ SPIN-код: 5599-6685

Lyubov N. Grushevskaya — PhD, Dr. Sci. (Pharm.), Chief Researcher of the Laboratory for Standardization and Quality Control of Medicines, Department of Quality and Technology of Medicines Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: grushevskaya_ln@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3794-9661>
RSCI SPIN code: 5599-6685

Кузнецов Дмитрий Николаевич — к. х. н., с. н. с. лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: kuznecov_dn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0056-4303>
РИНЦ SPIN-код: 6154-6935

Dmitry N. Kuznetsov — PhD, Cand. Sci. (Chemical), Senior Research Scientist of the Laboratory of Standardization and Quality Control of Medicines of the Department of Quality and Technology of Medicines Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
Corresponding author
e-mail: kuznecov_dn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0056-4303>
RSCI SPIN code: 6154-6935

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и. о. генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
РИНЦ SPIN-код: 3237-7268

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
RSCI SPIN code: 3237-7268

Список литературы / References

1. Epilepsy: a public health imperative. Summary. Geneva: World Health Organization; 2019 (WHO/MSD/MER/19.2). Licence: CC BY–NC–SA 3.0 IGO.
2. GBD Epilepsy Collaborators. Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet Public Health*. 2025 Mar;10(3):e203–e227. doi: 10.1016/S2468-2667(24)00302-5.
3. Дурнев А.Д., Воронина Т.А., Литвинова С.А. и др. Производные оксимов 4–бензоилпиридина, обладающие противосудорожной активностью, как средства для лечения эпилепсии и пароксизмальных состояний. Патент РФ № 2643091; 2018. [Durnev AD, Voronina TA, Litvinova SA, et al. Derivatives of 4–benzoylpyridine oximes with anticonvulsant activity as agents for the treatment of epilepsy and paroxysmal states. Patent RF № 2643091; 2018. (In Russ.)].
4. Ушкалова Е.А. Побочные эффекты противоэпилептических средств. *Фарматека*. 2001;(9–10):11. [Ushkalova EA. Side effects of antiepileptic drugs. *Farmateka*. 2001;51(9–10):11. (In Russ.)].
5. Литвинова С.А., Наркевич В.Б., Гайдуков И.О. и др. Изучение влияния производного оксимов пиридина (ГИЖ–298) на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс на фоне судорог, вызванных максимальным электрошоком. *Нейрохимия*. 2019;36(3):239–245. [Litvinova SA, Narkevich VB, Gaidukov IO, et al. Analysis of the effect of derivative of pyridine oximes (GIZH–298) on the content of monoamines and their metabolites in the structures of rat brain structures during seizures caused by maximum electric shock. *Neyrokimiya = Neurochemical Journal*. 2019;36(3):239–245. (In Russ.)]. doi: 10.1134/S1027813319020055.
6. Жмуренко Л.А., Мокров Г.В., Неробкова Л.Н. и др. Новое производное оксимов 4–бензоилпиридинов ГИЖ–298, обладающее противосудорожной активностью. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2017;(1):22–26. [Zhmorenko LA, Mokrov GV, Nerobkova LN, et al. Novel 4–benzoylpyridine oxime derivative GIZH–298 with aticonvulsant activity. *Farmakokinetika i farmakodinamik = Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;(1):22–26. (In Russ.)].
7. Гайдуков И.О., Литвинова С.А., Воронина Т.А. и др. Влияние нового производного оксима 4–бензоилпиридина — ГИЖ–298 и вальпроевой кислоты на тревожное и депрессивноподобное состояния, когнитивные функции в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(7):8–12. [Gaydukov IO, Litvinova SA, Voronina TA, et al. Effect of a new 4–benzoylpyridine oxime derivative GIZH–298 and valproic acid on anxiety and depressive–like states, cognitive functions in experiment. *Ekspperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2022;85(7):8–12. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2022-85-7-8-12.
8. ОФС.1.1.0023. Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15–е изд. [OFS.1.1.0023. Related impurities in pharmaceutical substances and medicinal products. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. (In Russ.)].
9. Требования к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей. Решение Коллегии ЕЭК от 04.10.2022 № 138. [Requirements for conducting research (testing) of medicinal products regarding the assessment and control of impurities. Decision of the EEC Board of October 4, 2022, № 138. (In Russ.)].
10. ICH Harmonised Tripartite Guideline: Impurities in new drug substances Q3A(R2). In: Quality guidelines [Internet]. Geneva: ICH; 2006 [cited 2026 May 12]. Available from: <https://ich.org/page/quality-guidelines>.
11. ОФС.1.1.0012. Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15–е изд. [OFS.1.1.0012. Validation of analytical procedures. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. (In Russ.)].
12. ОФС.1.1.0029. Определение фотостабильности лекарственных средств. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15–е изд. [OFS.1.1.0029. Determination of photostability of medicinal products. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. (In Russ.)].
13. Требования к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций. Решение Коллегии ЕЭК от 10.05.2018 № 69 (в ред. от 30.06.2020 № 86). [Requirements for the stability study of medicinal products and pharmaceutical substances. Decision of the EEC Board of May 10, 2018, № 69 (as amended on June 30, 2020, № 86). (In Russ.)].
14. ОФС.1.1.0013. Статистическая обработка результатов физических, физико–химических и химических испытаний. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15–е изд. [OFS.1.1.0013. Statistical processing of the results of physical, physicochemical and chemical tests. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. (In Russ.)].
15. ОФС 2.3.13.0. Статистическая обработка результатов физических, физико–химических и химических испытаний. Фармакопея ЕАЭС, т. 2. [OFS 2.3.13.0. Statistical processing of the results of physical, physicochemical and chemical tests. Pharmacopoeia of the EAEU, vol. 2. (In Russ.)].

УДК: 615.281.8:578.825.1:578.085.23
DOI: 10.37489/2587-7836-2026-2-30-36
EDN: MQAWNPN

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
EXPERIMENTAL STUDY



Противовирусная активность новых фосфорорганических соединений *in vitro*

Зимин М. С., Лилеева Е. Г.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Поиск новых противовирусных соединений остаётся приоритетной задачей в связи с ростом резистентности патогенов. Фосфонаты, характеризующиеся стабильной связью углерод–фосфор, представляют собой перспективный класс фосфорорганических производных. Однако данные о противовирусной активности новых синтетических фосфонатов в отношении альфагерпесвирусов ограничены.

Цель исследования. Оценка цитотоксичности и противовирусной активности пяти новых фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) в отношении вируса псевдобешенства (SuHV-1) на культуре клеток Vero.

Методы. Инфекционный титр вируса определяли по методу Риди и Менча. Цитотоксичность оценивали с помощью визуальной микроскопии и количественного МТТ-теста через 72 ч инкубации. Противовирусную активность изучали по снижению вирус-индуцированного цитопатического действия (ЦПД) и уменьшению титра вируса ($\lg$ ТЦД₅₀/мл) с расчётом по методу Спирмена–Кербера. Все соединения тестировали в диапазоне концентраций 100–0,0001 мкг/мл.

Результаты. Титр вируса SuHV-1 составил $7,08 \pm 0,17 \lg$ ТЦД₅₀/мл, что подтвердило пригодность вирусной суспензии для скрининга. Ни один из тестируемых фосфонатов не проявил цитотоксичности в концентрациях до 100 мкг/мл; жизнеспособность клеток варьировала от 92 до 96 % по сравнению с интактным контролем. Четыре соединения (SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) показали выраженную противовирусную активность, обеспечивая защиту клеточного монослоя на уровне 72–82,5 % и снижение титра вируса на 2,25–2,63 $\lg$. Соединение SAN-1 продемонстрировало слабую активность (защита клеток 20 %). Наилучший эффект зафиксирован для DII-C2 (82,5 % защиты).

Заключение. Фосфонаты SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2 обладают низкой цитотоксичностью и значимой противогерпесвирусной активностью *in vitro*. Данные соединения являются перспективными кандидатами для дальнейшего доклинического изучения в качестве потенциальных противовирусных средств.

Ключевые слова: фосфонаты; цитотоксическая активность; противовирусное действие; вирус псевдобешенства (болезнь Аujeszky); клетки Vero

Для цитирования:

Зимин М. С., Лилеева Е. Г. Противовирусная активность новых фосфорорганических соединений *in vitro*. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2): 30–36. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-30-36>. EDN: MQAWNPN

Поступила: 09.06.2026. **В доработанном виде:** 25.06.2026. **Принята к печати:** 28.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Antiviral activity of new organophosphorus compounds *in vitro*

Maxim S. Zimin, Elena G. Lileeva

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Abstract

Background. The search for new antiviral compounds is a priority due to growing pathogen resistance. Phosphonates, characterized by a stable carbon–phosphorus bond, represent a promising class of organophosphorus derivatives. However, data on the antiviral activity of newly synthesized phosphonates against alphaherpesviruses remain limited.

Objective. To evaluate the cytotoxicity and antiviral activity of five novel phosphonates (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4, and DII-C2) against pseudorabies virus (SuHV-1) in Vero cell culture.

Methods. The infectious virus titer was determined using the Reed–Muench method. Cytotoxicity was assessed by visual microscopy and quantitative MTT assay after 72 h of incubation. Antiviral activity was evaluated by measuring the reduction of virus-induced cytopathic effect (CPE) and calculating virus titer reduction ($\log_{10}$ TCID₅₀/mL) using the Spearman–Kärber method. All compounds were tested at a concentration range of 100–0.0001 $\mu\text{g/mL}$.

Results. The SuHV-1 virus titer was $7.08 \pm 0.17 \lg$ TCID₅₀/mL, confirming its suitability for screening. None of the tested phosphonates exhibited cytotoxicity at concentrations up to 100 $\mu\text{g/mL}$, with cell viability ranging from 92 to 96 % relative to untreated controls. Four compounds (SAN 2, SAN 3, SAN 4, and DII C2) showed pronounced antiviral activity, providing 72–82.5 % cell protection and reducing virus titers by 2.25–2.63 $\log_{10}$. SAN 1 demonstrated weak activity (20 % protection). The highest efficacy was observed for DII C2 (82.5 % protection).

Conclusion. SAN 2, SAN 3, SAN 4, and DII C2 exhibit low cytotoxicity and significant anti SuHV 1 activity *in vitro*. These compounds are promising candidates for further preclinical studies as potential antiviral agents.

Keywords: phosphonates; cytotoxicity; antiviral activity; pseudorabies virus (Aujeszky's disease); Vero cells

For citations:

Zimin MS, Lileeva EG. Antiviral Activity of New Organophosphorus Compounds *in vitro*. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = Pharmacokinetics and pharmacodynamics. 2026;(2):30–36. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-30-36>. EDN: MQAWNPN

Received: 09.06.2026. **Revision received:** 25.06.2026. **Accepted:** 28.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Несмотря на успехи современной фармакологии, поиск новых противовирусных препаратов остаётся одной из приоритетных задач, особенно на фоне роста резистентности патогенов к существующим лекарственным средствам. Среди перспективных классов соединений особое место занимают фосфорорганические производные. Фосфонаты представляют собой класс соединений, содержащих стабильную связь углерод–фосфор (C–P), что обуславливает их высокую устойчивость к химическому и ферментативному гидролизу по сравнению с природными фосфатами. Благодаря структурному сходству с метаболитами клетки они способны выступать в качестве ингибиторов различных ферментов, участвующих в синтезе нуклеиновых кислот [1–3]. Ряд соединений фосфонатов уже нашёл применение в клинической практике в качестве противовирусных (например, цидофовир, тенофовир) и антибактериальных средств. В связи с этим синтез и изучение новых фосфонатов с целью поиска соединений, обладающих выраженной противовирусной активностью и низкой токсичностью, является актуальным направлением [4, 5].

Цель исследования — изучение цитотоксичности и противовирусной активности пяти новых фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) в отношении вируса псевдобешенства. В работе определяли инфекционный титр вируса, оценивали цитотоксическое действие соединений визуальным методом и с помощью МТТ-теста, а также анализировали их способность защищать клеточный монослой от цитопатогенного эффекта. Полученные данные позволяют выявить наиболее перспективные соединения для дальнейших исследований.

Материалы и методы / Materials and methods

Для проведения исследований были использованы:

- Пять соединений фосфонатов, синтезированные сотрудниками Химического института имени А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета: О-диэтил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-1), О-диизопропил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-2), О-калий, О-бутил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-3), О-калий, О-изобутил(гидроксиметил)фосфонат (SAN-4), йодид N,N,N-триэтил-(О,О-диизопропилфосфорилметил) аммония (DII-C2). Растворение всех исследуемых соединений производилось в среде DMEM с содержанием глюкозы 1 г/л. Для веществ, находящихся в твёрдой форме (SAN-3, SAN-4, DII-C2), навеску добавляли в указанную среду, доводя концентрацию исходного раствора до 100 мкг/мл. Жидкие вещества (SAN-1, SAN-2) отбирали по объёму с последующим разбавлением в среде DMEM. Приготовленные таким образом исходные растворы

подвергали стерилизации методом фильтрации с использованием мембранных фильтров, диаметр пор которых составлял 0,22 мкм, после чего применяли свежеприготовленными [6].

- Культура клеток Vero (почка африканской зелёной мартышки), получена из коллекционного фонда лаборатории иммунобиологических препаратов Ярославского филиала ФГБУ «Информационно-методический центр по экспертизе, учёту и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора (сокращенно — ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора) [6, 7].

- Вирус псевдобешенства (Ауески) SuHV-1, полученный из государственной коллекции штаммов микроорганизмов, принадлежащей ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (сокращенно — ФГБУ «ВНИИЗЖ»), наработку вирусной суспензии проводили на перевиваемой линии клеток Vero [7].

Проведение испытания. Определение инфекционной активности вируса проводили на сформированном монослое перевиваемых клеток Vero, выращенных в 96-луночных планшетах. Для посева в каждую лунку добавляли 100 мкл клеточной суспензии в концентрации 10^5 клеток/мл. Культивирование проводили в течение 24–72 часов при температуре 37 °C в атмосфере 5 % углекислого газа и влажности более 80 %. В работе использовали вирус 5-го пассажа. Из размороженной вирусной суспензии готовили последовательные десятикратные разведения от 10^{-1} до 10^{-10} . Из планшетов с сформированным монослоем удаляли питательную среду и вносили по 100 мкл каждого разведения вируса, используя по 4 лунки на одно разведение. Контроль — 16 лунок с поддерживающей средой. Через 48 ч инкубации оценивали ЦПД (цитопатическое действие) под микроскопом. Титр рассчитывали по Риду и Менчу и выражали в $\lg \text{TCID}_{50}/\text{мл}$ (десятичный логарифм 50 % тканевой цитопатогенной дозы в 1 мл суспензии вируса). Титрование вируса выполняли два оператора, каждый в двух повторах, на одном пассаже и одной серии питательной среды. Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения MS Excel [7–9].

Для последующей оценки противовирусной активности фосфонатов предварительно определяли их цитотоксичность. Испытание проводили на монослое культуры клеток Vero, выращенном в 96-луночном планшете. В первый вертикальный ряд лунок вносили 180 мкл ростовой среды и 20 мкл исследуемых соединений в концентрации 100 мкг/мл. Далее методом последовательных разведений готовили растворы фосфонатов с конечными концентрациями 100, 10, 0,1, 0,01, 0,001 и 0,0001 мкг/мл. Из планшета с монослоем удаляли среду, промывали фосфатно-солевым буфером (PBS), вносили по 180 мкл разведений веществ. Контроль — 8 лунок со средой. Инкубировали 72 ч, затем исследовали под инвертированным микроскопом. Испытание проводили в трёх повторах [6].

Для количественного подтверждения провели МТТ-тест. Клетки обрабатывали фосфонатами в концентрации 100 мкг/мл, инкубировали 72 ч. В лунки с монослоем вносили по 100 мкл раствора фосфонатов (100 мкг/мл, три повтора). Контроль клеток (КК+) — 6–8 лунок с клетками и средой без фосфонатов (приняты за 100% жизнеспособности). Контроль растворителя — фосфонаты 100 мкг/мл (три повтора). Бланк — 4 лунки только со средой, без клеток. После внесения образцов планшет инкубировали 72 ч при 37 °С.

Затем готовили маточный раствор МТТ 5 мг/мл в PBS, стерилизовали через фильтр 0,22 мкм, защищали от света. Из лунок (кроме бланка) удаляли среду, вносили 100 мкл свежей среды без сыворотки и 10 мкл МТТ (конечная концентрация красителя 0,5 мг/мл). Инкубировали 4 ч при 37 °С. Надосадочную жидкость удаляли, кристаллы формазана растворяли в 150 мкл ДМСО на шейкере 10–15 мин. Оптическую плотность (ОП) измеряли при 540–570 нм (референс 620–650 нм). Из значений ОП опытных и контрольных лунок вычитали среднее значение ОП бланка. Жизнеспособность = (ОП опыта / ОП контроля клеток) × 100 % [10].

Противовирусные свойства фосфонатов изучали на модели вируса псевдобешенства (Ауески) в культуре клеток Vero, с дополнительным проведением МТТ-теста. В первый ряд лунок вносили 160 мкл поддерживающей среды, 20 мкл фосфонатов (100 мкг/мл) и 20 мкл вируса Ауески, после чего проводили титрование. Для теста использовали монослой Vero в 96-луночном планшете. После удаления культуральной жидкости из планшета с монослоем клетки отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS), после чего вносили по 200 мкл приготовленных разведений соединений, смешанных с вирусом. В качестве контроля клеточного роста использовали лунки, содержащие 200 мкл поддерживающей среды без добавления веществ и вируса. Контролем репликации вируса служили лунки, в которые вносили 180 мкл питательной среды и 20 мкл вирусной суспензии. Планшеты инкубировали 72 ч, затем просматривали под микроскопом для оценки снижения титра вируса. Титр рассчитывали по методу Спирмена–Кербера в $\lg \text{ТЦД}_{50}/0,1 \text{ мл}$ [11–13].

Для количественного подтверждения провели МТТ-тест. За 3–4 дня до эксперимента клетки Vero посеяли в 96-луночный планшет. Приготовили десятикратные разведения вируса (от 10^{-1} до 10^{-8}) в среде с 2 % FBS, внесли по 100 мкл на лунку (4–6 лунок на разведение). Контроль — лунки без вируса. Через 72 ч провели МТТ-тест, определили рабочее разведение вируса, вызывающее гибель 90–100 % клеток.

Для оценки противовирусной активности использовали фосфонаты в концентрации 100 мкг/мл. Из планшета с монослоем Vero удалили среду, внесли по 50 мкл препарата (три повтора) и по 50 мкл рабочего разведения вируса. Контроли (по три повтора):

контроль клеток (КК) — 100 мкл среды с клетками; контроль вируса (КВ) — 50 мкл среды + 50 мкл вируса; контроль токсичности препарата — 100 мкл фосфонатов 100 мкг/мл без вируса. Планшет инкубировали 72 ч в CO_2 -инкубаторе. Затем провели МТТ-тест: удалили среду, добавили свежую среду без сыворотки с МТТ, через 4 часа кристаллы формазана растворили в ДМСО и измерили оптическую плотность при 540–570 нм (референс 620–650 нм).

Результаты и обсуждения / Results and discussions

Определение значения титра вируса псевдобешенства (Ауески). На первом этапе определили титр вируса SuHV-1 на культуре Vero и проверили пригодность вирусных суспензий для дальнейших исследований по оценке активности новых фосфонатов.

Через 48 часов после инкубации вирус SuHV-1 вызывал в культуре клеток Vero характерные цитопатические изменения: интактный монослой, представленный клетками с типичной фибробластоподобной морфологией (веретеновидная форма, чёткие границы), полностью разрушался, клетки утрачивали вытянутую форму, приобретали округлые очертания, слипались между собой, а монослой дезинтегрировался с образованием множественных разрывов [7].

При титровании вирусной суспензии установлено, что в разведениях от 10^{-1} до 10^{-5} включительно цитопатический эффект регистрировался во всех лунках (100%) в каждой из четырёх повторностей (два оператора, два повтора). В разведении 10^{-6} доля поражённых лунок варьировала от 50 до 75 % в зависимости от повтора, тогда как в разведениях 10^{-7} и выше признаки цитопатического действия отсутствовали.

На основании полученных данных по методу Рид-Менча индивидуальные значения титра для каждого повтора составили 7,0; 7,33; 7,0 и 7,0 $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$.

Средний титр вирусной суспензии достиг $7,08 \pm 0,17 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ (95 % доверительный интервал: $\pm 0,26$), что подтвердило пригодность вирусного материала для проведения дальнейших испытаний противовирусной активности исследуемых фосфонатов.

Переработано авторами на основе данных, ранее опубликованных работ в [7].

Определение цитотоксичности новых фосфонатов. На следующем этапе оценивали цитотоксическое действие пяти новых фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) на культуре клеток Vero в диапазоне концентраций от 100 до 0,0001 мкг/мл. Через 72 часа инкубации при микроскопическом исследовании во всех лунках с фосфонатами клеточный монослой сохранял плотную структуру, а клетки имели типичную для линии Vero угловатую и вытянутую форму с чёткими границами. Визуальная картина полностью соответствовала интактному контролю: клетки формировали равномерный покров, отсутствовали признаки

дегенерации, межклеточные контакты сохранялись, а цитоплазма оставалась прозрачной без включений или грануляций.

Признаков цитотоксичности — округления клеток, их отслоения от субстрата, вакуолизации цитоплазмы, истончения или разрывов моно-слоя не наблюдалось ни в одной из исследованных концентраций. На основании визуальной оценки максимальная переносимая концентрация (МПК) для всех пяти соединений была установлена как >100 мкг/мл. В трёх независимых повторностях значения $ЦТД_{50}$ также превышали 100 мкг/мл для каждого из фосфонатов, что свидетельствует о широком диапазоне безопасных концентраций и низкой общей токсичности данных соединений в условиях *in vitro*.

Переработано авторами на основе данных, ранее опубликованных работ в [6].

Для количественного подтверждения результатов визуального наблюдения был проведён МТТ-тест, позволяющий оценить метаболическую активность клеток. В ходе МТТ-теста были получены значения оптической плотности, зарегистрированные на длине волны 570 нм, а также рассчитанные показатели жизнеспособности клеток представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, все исследуемые фосфонаты в концентрации 100 мкг/мл продемонстрировали низкую цитотоксичность в отношении клеток Vero, что полностью согласуется с результатами микроскопического контроля.

Определение противовирусного действия новых фосфонатов в отношении вируса псевдобешенства. На заключительном этапе оценивали способность пяти фосфонатов (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) подавлять репликацию вируса SuHV-1 в культуре клеток Vero при концентрации 100 мкг/мл.

Через 72 часа инкубации в контрольных лунках, инфицированных вирусом в отсутствие соединений, наблюдалась характерная картина цитопатического действия: монослой подвергался тотальной деструк-

ции, клетки утрачивали типичную эпителиоподобную морфологию, округлялись, отслаивались от субстрата и формировали агрегаты, а на месте бывшего моно-слоя визуализировались множественные разрывы и участки полной дегенерации. Напротив, в лунках, обработанных соединениями SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2, монослой сохранял свою целостность: клетки оставались прикреплёнными к субстрату, имели характерную вытянутую форму с чёткими границами, а степень деструкции была значительно ниже по сравнению с вирусным контролем. Соединение SAN-1 не обеспечивало выраженной защиты монослоя — визуальная картина приближалась к контрольным лункам с вирусом, хотя отдельные участки сохраняли частичную целостность.

Для количественной оценки противовирусного эффекта титр вируса в присутствии фосфонатов рассчитывали по методу Спирмена—Кербера. В контрольных образцах без соединений титр SuHV-1 составлял от 4,95 до 5,95 $\lg TCD_{50}/0,1$ мл в зависимости от серии эксперимента. Добавление фосфонатов приводило к снижению инфекционной активности вируса. Наименьший эффект зафиксирован для SAN-1 — снижение титра составило лишь 1,13 $\lg$. Соединения SAN-2 и SAN-3 обеспечили сопоставимое снижение титра на 2,38 $\lg$ каждое. SAN-4 снижал титр на 2,25 $\lg$, тогда как DII-C2 продемонстрировал максимальное снижение — на 2,63 $\lg$ по сравнению с вирусным контролем.

Переработано авторами на основе данных, ранее опубликованных работ в [11].

В ходе проведения МТТ-теста были получены первичные данные, зарегистрированные на длине волны 570 нм, а также рассчитанные показатели противовирусной активности представлены в табл. 2.

Результаты МТТ-теста, отражающие долю сохранивших жизнеспособность клеток в инфицированной культуре, подтвердили данные титрования. Показатели защиты клеток, рассчитанные относительно интактного контроля (100 %), составили: для SAN-1 — 20,0 %, SAN-2 — 75,0 %, SAN-3 — 75,5 %, SAN-4 — 72,0 %, DII-C2 — 82,5 % (табл. 3). Таким образом, четыре

Цитотоксичность фосфонатов концентрации 100 мкг/мл в отношении клеток Vero

Таблица 1

Table 1

Cytotoxicity of phosphonates at a concentration of 100 μ g/ml against Vero cells

Образец	Оптическая плотность (570 нм)			Средняя ОП	Жизнеспособность, %
	Повтор 1	Повтор 2	Повтор 3		
Контроль клеток (КК+)	0,935	0,921	0,947	0,874	100,0
Контроль растворителя	0,902	0,891	0,915	0,843	96,5
SAN-1 (100 мкг/мл)	0,872	0,858	0,881	0,810	92,7
SAN-2 (100 мкг/мл)	0,891	0,877	0,898	0,829	94,9
SAN-3 (100 мкг/мл)	0,868	0,853	0,876	0,806	92,2
SAN-4 (100 мкг/мл)	0,882	0,867	0,891	0,822	94,1
DII-C2 (100 мкг/мл)	0,895	0,882	0,904	0,834	95,4
Бланк (фон)	0,079	0,082	0,078	—	—

Таблица 2

Противовирусная активность фосфонатов (100 мкг/мл) в отношении вируса псевдобешенства

Table 2

Antiviral activity of phosphonates (100 µg/ml) against the pseudorabies virus

Образец	Оптическая плотность (570 нм)			Средняя ОП	Защита клеток, %
	Повтор 1	Повтор 2	Повтор 3		
Контроль клеток (КК+)	0,921	0,947	0,934	0,874	100
Контроль вируса (КВ)	0,152	0,138	0,145	0,075	0
SAN-1 (100 мкг/мл)	0,312	0,298	0,305	0,235	20,0
SAN-2 (100 мкг/мл)	0,742	0,758	0,736	0,675	75,0
SAN-3 (100 мкг/мл)	0,748	0,735	0,762	0,678	75,5
SAN-4 (100 мкг/мл)	0,712	0,728	0,721	0,650	72,0
DII-C2 (100 мкг/мл)	0,812	0,798	0,807	0,735	82,5
Контроль токсичности препарата (100 мкг/мл)	0,903	0,915	0,891	0,853	97,6
Бланк (фон)	0,078	0,082	0,080	—	—

соединения — SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2 — продемонстрировали выраженную противовирусную активность, обеспечивая высокий уровень защиты клеточного монослоя и значительное снижение титра вируса. Наибольшая эффективность отмечена для DII-C2, который как по визуальной оценке сохранности монослоя, так и по количественным показателям (максимальная защита клеток и наибольшее снижение титра) превосходил остальные исследованные фосфонаты. Для наглядного сопоставления всех количественных параметров цитотоксичности и противовирусной активности исследованных фосфонатов данные сведены в табл. 3.

Таблица 3

Сводные показатели цитотоксичности и противовирусной активности фосфонатов в концентрации 100 мкг/мл

Table 3

Summary of cytotoxicity and antiviral activity of phosphonates at a concentration of 100 µg/ml

Соединение	Жизнеспособность клеток, %*	Защита клеток от ЦПД, %**	Снижение титра вируса, lg***
SAN-1	92,7	20,0	1,13
SAN-2	94,9	75,0	2,38
SAN-3	92,2	75,5	2,38
SAN-4	94,1	72,0	2,25
DII-C2	95,4	82,5	2,63

Примечания: * — жизнеспособность клеток рассчитана относительно интактного контроля (100 %) по данным МТТ-теста; ** — защита клеток от ЦПД — процент жизнеспособных клеток в инфицированной культуре в присутствии соединения; *** — снижение титра вируса — разница между вирусным контролем и образцом с фосфонатом, рассчитанная по методу Спирмена—Кербера.

Notes: * — cell viability calculated relative to the intact control (100 %) according to the MTT test; ** — cell protection from CPE — percentage of viable cells in the infected culture in the presence of the compound; *** — reduction in virus titer — difference between the virus control and the sample with phosphonate, calculated using the Spearman-Kaerber method.

Выводы / Conclusions

В ходе исследования определили титр вируса псевдобешенства (SuHV-1) на культуре клеток Vero, который составил $7,08 \pm 0,17 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$, что подтверждает пригодность вирусной суспензии для испытаний. Все изученные фосфонаты (SAN-1, SAN-2, SAN-3, SAN-4, DII-C2) не проявили цитотоксичности: жизнеспособность клеток при 100 мкг/мл составила 92–96 %. При оценке противовирусной активности четыре соединения (SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2) в концентрации 100 мкг/мл обеспечили защиту клеток на уровне 72–82,5 % и снижение титра вируса на $2,25\text{--}2,63 \lg_{10}$, тогда как SAN-1 показал низкую эффективность (20,0 %). Таким образом, SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2 являются перспективными для дальнейшего изучения в качестве противовирусных средств.

Ограничения исследования / Study limitations

При интерпретации полученных результатов необходимо учитывать следующие ограничения проведённого исследования:

1. Тестирование только одной концентрации. Противовирусная активность фосфонатов оценивалась только в концентрации 100 мкг/мл. Не изучалась зависимость «концентрация—эффект», что не позволяет определить минимальную эффективную концентрацию (МЭК) и вычислить индекс селективности ($SI = \text{ЦТД}_{50} / \text{ИК}_{50}$) для каждого соединения.

2. Отсутствие позитивного контроля. В работе не использовался референс-препарат с известной противогерпесвирусной активностью (например, ацикловир или цидофовир), что ограничивает возможность прямого сравнения эффективности исследуемых фосфонатов с клинически применяемыми средствами.

3. Ограниченный набор клеточных линий и вирусов. Исследование выполнено только на одной линии клеток (Vero) и только на одной модели вируса (SuHV-1). Полученные данные не позволяют экстраполировать противовирусную активность на другие клеточные линии (например, Hep-2, MDCK) или другие виды вирусов (включая клинически значимые HSV-1, HSV-2, CMV).

4. Отсутствие изучения механизма действия. В работе не проводилось исследований молекулярных механизмов противовирусного эффекта (например, ингибирование вирусной ДНК-полимеразы, блокирование входа вируса в клетку или нарушение сборки

вирионов). Это не позволяет отнести соединения к определённому классу противовирусных агентов.

5. Ограниченный временной диапазон наблюдения. Учёт результатов проводился только через 72 часа инкубации. Возможные отсроченные эффекты (например, рецидив вирусной репликации после удаления соединений) не оценивались.

6. Статистические ограничения. В работе не проводилось формального межгруппового статистического сравнения противовирусной активности между соединениями (например, ANOVA с post-hoc тестами), что не позволяет сделать вывод о статистически значимых различиях между SAN-2, SAN-3, SAN-4 и DII-C2.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Финансирование

Исследование выполнено без спонсорской поддержки.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Authors' participation

All authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication.

Funding

The study was conducted without sponsorship.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Зимин Максим Сергеевич — аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация

e-mail: maxim.simin2000@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-7041-8194>

РИНЦ SPIN-код: 6130-1730

Maxim S. Zimin — postgraduate student, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

e-mail: maxim.simin2000@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-7041-8194>

RSCI SPIN code: 6130-1730

Лилеева Елена Георгиевна — к. м. н., доцент, зав. базовой кафедрой инновационной фармации ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: elileeva2006@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6048-8974>

РИНЦ SPIN-код: 4287-6652

Elena G. Lileeva — PhD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Innovative Pharmacy Department at the Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: elileeva2006@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6048-8974>

RSCI SPIN code: 4287-6652

Список литературы / References

1. Никитина А.В. Соединения на основе фосфорильного фрагмента с четырехкоординированным атомом фосфора — оптимальная платформа для создания лекарственных препаратов с различным спектром психотропной активности: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва; 2024. 116 с. [Nikitina AV. Compounds based on a phosphoryl fragment with a tetracoordinated phosphorus atom — creating an optimal platform for drugs with a diverse spectrum of psychotropic activity: dissertation for the degree of candidate of medical sciences. Moscow; 2024. (In Russ.)].
2. Михайлова А.К., Симакова О.И. Фосфорорганические соединения и их основные свойства, перспективы их применения. В: Горюхов АА, (ред.) Проблемы и перспективы развития России: Молодежный взгляд в будущее: сборник научных статей Всероссийской научной конференции. Курск, 17–18 октября 2018 г. Том 4. Курск: Университетская книга; 2018. С. 109–111 [Mikhailova AK, Simakova OI. Organophosphorus compounds and their main properties, prospects for their application. In: Gorokhov AA, (ed.) Problems and Prospects of Development of Russia: A Youth Look into the Future: Collection of scientific articles from the All-Russian Scientific Conference. Kursk, October 17–18, 2018. Vol. 4. Kursk: University Book; 2018. Pp. 109–111. (In Russ.)]. EDN: VLOEE
3. Нифантьев Э.Е. Химия фосфорорганических соединений. Москва: Изд-во Моск. ун-та; 1971. 350 с. [Nifantiev EE. Chemistry of organophosphorus compounds. Moscow: Publishing house Mosk. university; 1971. 350 p. (In Russ.)].
4. Кравченко А.В., Куимова У.А., Ефремова О.С. и др. Сравнение эффективности и безопасности схем антиретровирусной терапии первой линии, включавших фосфазид или тенофовир. *Журнал инфектологии*. 2018;10(4):37–41. [Kravchenko AV, Kuimova UA, Efremova OS, et al. Comparison of efficacy and safety of antiretroviral first-line therapy with phosphazide or tdf. *Journal Infectology*. 2018;10(4):37–41. (In Russ.)]. doi: 10.22625/2072-6732-2018-10-4-37-41.
5. Демин М.В., Тихомиров Д.С., Туполева Т.А., Филатов Ф.П. Устойчивость к противовирусным препаратам у вирусов человека из подсемейства *Betaherpesvirinae*. *Вопросы вирусологии*. 2022;67(5):385–394. [Demin MV, Tikhomirov DS, Tupoleva TA, Filatov FP. Resistance to antiviral drugs in human viruses from the subfamily *Betaherpesvirinae*. *Problems of Virology*. 2022;67(5):385–394. (In Russ.)]. doi: 10.36233/0507-4088-136.
6. Лилеева Е.Г., Давлетшин Р.Р., Лысенко А.С. и др. Определение цитотоксичности новых фосфонатов на культуре клеток Vero. *Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования*. 2025(6):358–359. [Lileeva EG, Davletshin RR, Lysenko AS, et al. Determination of cytotoxicity of new phosphonates on Vero cell culture. *Medicine. Sociology. Philosophy. Applied Research*. 2025(6):358–359. (In Russ.)]. EDN MLRXEX
7. Галеев Р.Р., Лилеева Е.Г., Пузина О.А. и др. Валидация методики определения титра вируса болезни Ауески на культуре клеток Vero B. *Вестник Росздравнадзора*. 2024;(6):83–87. [Galeev RR, Lileeva EG, Puzina OA, et al. Validation of the methodology for determining the titer of the Aujeszky disease virus on Vero B cell culture. *Vestnik Roszdravnadzora*. 2024;(6):83–87. (In Russ.)]. EDN: OOHCTT
8. Каа К.В., Игнатьев Г.М., Синюгина А.А., Ишмухаметов А.А. Чувствительность клеточных линий к вирусу Чикунгунья и подбор метода наработки вирусного материала в промышленных объемах. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(1):111–120. [Kaa KV, Ignatyev GM, Sinyugina AA, Ishmukhametov AA. Susceptibility of various cell lines to the Chikungunya virus and method selection for commercial-scale production of viral material. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(1):111–120. (In Russ.)]. doi: 10.30895/2221-996X-2023-23-1-111-120.
9. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / А. Н. Миронов [и др.]. М. : Гриф и К, 2012. — 944 с. [Mironov AN. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. / AN. Mironov [et al.]. M.: Grif i K, 2012. (In Russ.)].
10. Шишацкая Е.И., Николаева Е.Д., Шумилова А.А. и др. Культивирование мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга на носителях из резорбируемого Биопластотана. *Гены и Клетки*. 2013;8(1):57–65. [Shishatskaya EI, Nikolaeva ED, Shumilova AA, et al. Cultivation of multipotent mesenchymal bone marrow cells on matrixes made of resorbable Bioplastotan. *Genes & Cells*. 2013;8(1):57–65. (In Russ.)]. doi: 10.23868/gc121612. EDN: QAKUPN
11. Лилеева Е.Г., Давлетшин Р.Р., Зимин М.С. и др. Определение противовирусного действия новых фосфонатов с концентрацией 100 мкг/мл на модели герпетической инфекции, с использованием вируса псевдобешенства (Ауески) на культуре клеток Vero. *Международный журнал медицины и психологии*. 2026;9(2):65–70. [Lileeva EG, Davletshin RR, Zimin MS, et al. Determination of the antiviral activity of new phosphonates at a concentration of 100 µg/ml in a herpes infection model using the Aujeszky's virus in Vero cell culture. *International Journal of Medicine and Psychology*. (In Russ.)]. doi: 10.58224/2658-3313-2026-9-2-65-70.
12. Абрамова Е.Г., Гаврилова Ю.К., Генералов С.В. и др. Разработка стандартного образца предприятия активности антирабического иммуноглобулина для применения в реакции нейтрализации вируса на культуре клеток Vero. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(1):38–48. [Abramova EG, GavriloVA YuK, Generalov SV, et al. Development of an in-house reference standard for anti-rabies immunoglobulin potency, to be used in the virus neutralisation test in a Vero cell culture. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2022;22(1):38–48. (In Russ.)]. doi: 10.30895/2221-996X-2022-22-1-38-48.
13. ОФС.1.7.2.0002.15. Общая фармакопейная статья. Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток: утверждена Приказом Минздрава России № 771 от 29.10.2015: введена в действие с 01.01.2016 // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. [OFS.1.7.2.0002.15. General Pharmacopoeia Article. Biological Testing Methods for Interferon Preparations Using Cell Cultures: approved by Order of the Ministry of Health of Russia No. 771 dated October 29, 2015: entered into force on January 1, 2016. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. (In Russ.)]. Режим доступа: URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia-projects/izdanie-13/1/1-7/1-7-2/1-7-2-2/?vers=959>.



Влияние соединения 1-({4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновой кислоты (ГГМ-27) на рост опухоли и продолжительность жизни мышей BALB/c с аденокарциномой толстой кишки АКАТОЛ в сравнении с доксорубицином

Коваленко Л. П., Журиков Р. В., Григорьевич О. С., Иванова Е. А., Васильчук А. Г.,
Мокров Г. В., Жанатаев А. К., Гудашева Т. А., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Введение. Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать основные компоненты белков внеклеточного матрикса соединительной ткани, они также участвуют во многих патологических процессах в организме. ММП-2 активно экспрессируется в тканях рака лёгкого, ММП-2 и ММП-9 играют значительную роль в развитии колоректального рака.

Цель. Оценка действия соединения 1-({4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновой кислоты (ГГМ-27) на рост опухоли и продолжительность жизни мышей BALB/c на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ.

Материалы и методы. Аденокарциному толстой кишки АКАТОЛ имплантировали самцам мышей линии BALB/c подкожно в область подмышечной впадины по 1×10^6 клеток. С 2-го по 15-й день развития опухоли ГГМ-27 вводили внутривенно (в/в) в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, в качестве препарата сравнения использовали доксорубин, который вводили в дозе 5 мг/кг в/в на 2-й и 4-й день развития опухоли. Противоопухолевую активность ГГМ-27 определяли по торможению роста опухоли (ТРО) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ).

Результаты. При 14-дневном в/в введении ГГМ-27 в дозе 1 мг/кг на 21-й день опыта ТРО составило 72,8 %, на 28-е сутки ТРО составило 71 %. При введении ГГМ-27 в/в в дозе 10 мг/кг на 21-й день опыта ТРО составило 63 %, на 28-е сутки — 56 %. УПЖ при курсовом введении ГГМ-27 в дозе 10 мг/кг составило 24 %. При двукратном введении доксорубина в/в в дозе 5 мг/кг на 21-й день опыта ТРО составило 82 %, на 28-е сутки — 69 %, однако 2 животных из 12 в связи с токсичностью препарата погибли.

Выводы. Введение соединения 1-({4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновой кислоты в дозе 1 мг/кг вызывало выраженное торможение роста опухоли. На 21-й день опыта при введении ГГМ-27 ТРО составило 73 %, на 28-е сутки ТРО — 71 %.

Ключевые слова: аденокарцинома толстой кишки АКАТОЛ; ГГМ-27; противоопухолевая активность

Для цитирования:

Коваленко Л. П., Журиков Р. В., Григорьевич О. С., Иванова Е. А., Васильчук А. Г., Мокров Г. В., Жанатаев А. К., Гудашева Т. А., Дорофеев В. Л. Влияние соединения 1-({4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновой кислоты (ГГМ-27) на рост опухоли и продолжительность жизни мышей BALB/c с аденокарциномой толстой кишки АКАТОЛ в сравнении с доксорубицином. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2026;(2):37–44. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-37-44>. EDN: NWBWJB

Поступила: 12.05.2026. В доработанном виде: 12.06.2026. Принята к печати: 24.06.2026. Опубликовано: 30.06.2026.

Study of the effect of 1-({4-[(2,4-dichlorobenzoyl)amino]phenyl}sulfonyl-(2S,4R)-4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid (GGM-27) on tumor growth and survival in BALB/c mice bearing ACATOL colon adenocarcinoma in comparison with doxorubicin

Larisa P. Kovalenko, Ruslan V. Zhurikov, Oksana S. Grigorovich, Elena A. Ivanova, Anastasia G. Vasilchuk, Grigory V. Mokrov, Aliy K. Zhanataev,
Tatiana A. Gudashcheva, Vladimir L. Dorofeev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Matrix metalloproteinases (MMPs) belong to the family of zinc-dependent endopeptidases capable of degrading the main components of extracellular matrix proteins that form the basis of connective tissue; they are also involved in many pathological processes in the body. MMP-2 is actively expressed in lung cancer tissues, while MMP-2 and MMP-9 play a significant role in the development of colorectal cancer.

Objective. To evaluate the effect of 1-({4-[(2,4-dichlorobenzoyl)amino]phenyl}sulfonyl-(2S,4R)-4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid (GGM-27) on tumor growth and survival in BALB/c mice using the ACATOL colon adenocarcinoma model.

Materials and methods. ACATOL colon adenocarcinoma was implanted subcutaneously into the axillary region of male BALB/c mice at a dose of 1×10^6 cells. From day 2 to day 15 of tumor development, GGM-27 was administered intraperitoneally (i.p.) at doses of 1 mg/kg and 10 mg/kg. Doxorubicin was used as a reference drug, administered at a dose of 5 mg/kg i.p. on days 2 and 4 of tumor development. The antitumor activity of GGM-27 was assessed by tumor growth inhibition (TGI) and lifespan extension (LSE).

Results. After a 14-day course of i.p. administration of GGM-27 at a dose of 1 mg/kg, TGI was 72.8 % on day 21 of the experiment and 71 % on day 28. After i.p. administration of GGM-27 at a dose of 10 mg/kg, TGI was 63 % on day 21 and 56% on day 28. LSE after a course of GGM-27 at a dose of 10 mg/kg was 24 %. After two i.p. administrations of doxorubicin at a dose of 5 mg/kg, TGI was 82 % on day 21 and 69 % on day 28; however, two of the 12 animals died due to drug toxicity.

Conclusions. Administration of 1-({4-[(2,4-dichlorobenzoyl)amino]phenyl}sulfonyl-(2S,4R)-4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid at a dose of 1 mg/kg caused TGI. On day 21 of the experiment, with GGM-27 administration, TGI was 73 %, and on day 28, TGI was 71 %.

Keywords: colon adenocarcinoma AKATOL; GGM-27; antitumor activity

For citations:

Kovalenko LP, Zhurikov RV, Grigorkevich OS, Ivanova EA, Vasilchuk AG, Mokrov GV, Zhanatayev AK, Gudasheva TA, Dorofeev VL. Study of the effect of 1-({4-[(2,4-dichlorobenzoyl)amino]phenyl}sulfonyl-(2S,4R)-4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid (GGM-27) on tumor growth and survival in BALB/c mice bearing ACATOL colon adenocarcinoma in comparison with doxorubicin. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):37–44. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-37-44>. EDN: NNBWJB

Received: 12.05.2026. **Revision received:** 12.06.2026. **Accepted:** 24.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать основные компоненты белков внеклеточного матрикса, который составляет основу соединительной ткани, обеспечивает механическую поддержку клеток и транспорт химических веществ [1]. Основываясь на субстратной специфичности и доменной организации, ММП можно условно разделить на четыре основные группы: интерстициальные коллагеназы, желатиназы, стромелизины и ММП мембранного типа. Согласно данным литературы, ММП-2, ММП-7, ММП-9, TIMP-1 и TIMP-2 играют важную роль в развитии онкологического процесса, концентрация антигенов ММП-7, ММП-9, TIMP-1 и TIMP-2 в сыворотках крови у пациентов с колоректальным раком и аденомой была значительно выше, чем у пациентов контрольной группы. Полученные данные свидетельствуют о том, что матриксные металлопротеиназы, а также их ингибиторы TIMP-1 и TIMP-2 играют значительную роль в развитии колоректального рака [2–4].

Исследования показали, что ММП участвуют в опухолевом иммунитете, регулируя врождённый иммунитет путём воздействия на провоспалительные цитокины, хемокины, другие связанные с иммунитетом белки, на микроокружение опухоли (ТМЕ), НК-клетки и опухоль-ассоциированные макрофаги (ТАМ). Было показано, что ММП усиливают миграцию и инвазию опухолевых клеток, усиливают ангиогенез, участвуют в формировании и прорастании сосудов, что приводит к прогрессированию рака. Ингибирование ММП эффективно для стимуляции противоопухолевого иммунитета и ингибирования роста опухоли [3–7].

В проведённых ранее исследованиях ингибиторов ММП, синтезированных в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», соединение 1-({4-[(4-хлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-L-пролин, (АЛ-828), обладающее ингибиторной активностью по отношению к ММП-2 [8], вызывало значимое подавление метастатической

активности на модели карциномы лёгкого Льюис у самцов мышей линии C57BL/6, соответствующее критерию эффективности по этому показателю [9]. При изучении противоопухолевой активности ГГМ-27 на модели аденокарциномы молочной железы Ca755, после 14-дневного введения ГГМ-27 в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг было определено, что ГГМ-27 на 45–47 % увеличивал продолжительность жизни самкам мышей C57BL/6 по сравнению с активным контролем. При курсовом ведении в дозе 1 мг/кг вызывал одинаковое торможение роста опухоли (ТРО) на 63 %, в дозе 10 мг/кг — на 62 % через 7 дней после окончания введения препарата [10].

Цель исследования / Objective

Целью настоящей работы является оценка действия соединения 1-({4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновой кислоты (ГГМ-27) на рост опухоли и продолжительность жизни мышей BALB/c на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ.

Материалы и методы / Materials and methods

Работа выполнена на 48 мышах-самцах линии BALB/c, массой 18–20 г, в возрасте 2 месяцев, полученных из филиала «Столбовая» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животных содержали в виварии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» при 12-часовом световом режиме, на стандартном сбалансированном брикетированном корме, со свободным доступом к пище и воде, при естественном освещении и температуре воздуха 20–21 °С.

Организацию и проведение работ осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации

процедур», Рекомендацией Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» и принципами работы с экспериментальными животными, принятыми независимым этическим комитетом ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Дизайн исследования / Study design

Для исследования противоопухолевой активности соединения ГГМ-27 использована экспериментальная модель аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ. Штамм АКАТОЛ получен из Биоресурсной коллекции клеточных линий и первичных опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. Исследование проводили на самцах мышей линии BALB/c. Взвесь опухолевых клеток аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ имплантировали всем мышам подкожно в область подмышечной впадины по 10 мг в 0,1 мл раствора Хэнкса на мышь. Прививочная доза составляла 1×10^6 клеток на мышь, что проверялось на счетчике клеток (BIO-RAD TC-10. Automated Cell Counter, США). День подкожной прививки клеток опухолевого штамма считали нулевым днём развития опухоли. С 2-го по 15-й день развития опухоли ГГМ-27 вводили внутривенно (в/б) в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, в качестве препарата сравнения использовали доксорубицин, который вводили в дозе 5 мг/кг в/б на 2-й и 4-й день развития опухоли. Противоопухолевую активность ГГМ-27 определяли по торможению роста опухоли (ТРО %) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ).

Препараты и соединения / Drugs and compounds

В качестве препарата сравнения использовали доксорубицина гидрохлорид (ЭБЕВЕ ФАРМА Гес. м. б. Х. Нфг. КГ, Австрия), который растворяли в воде для инъекций и вводили двукратно внутривенно (в/б) в дозе 5 мг/кг на 2-й день (через 48 ч после прививки опухоли) и 4-й день развития опухоли. Субстанция ГГМ-27, (№ серии 120525) синтезирована в отделе химии лекарственных средств Федерального исследовательского центра оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий.

Малорастворимое в воде соединение ГГМ-27 вводили в/б в 1 % растворе крахмала в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг в течение 14 дней со 2-го по 15-й дни развития опухоли.

При изучении противоопухолевой активности ГГМ-27 на модели аденокарциномы толстой кишки АКАТОЛ были выбраны дозы, а также пути и режимы

введения исходя из полученных ранее данных. День подкожной прививки клеток опухолевого штамма считали нулевым днём развития опухоли.

48 самцов мышей линии BALB/c были распределены на 4 группы:

1) контрольная группа животных-опухоленосителей — 12 голов;

2) группа препарата сравнения, доксорубицин вводили дважды на 2-й и 4-й день опыта в дозе 5 мг/кг — 12 голов;

3) группа, которой ГГМ-27 вводили перорально 14 дней с 1-го по 15-й день опыта в дозе 1 мг/кг — 12 голов;

4) группа, которой ГГМ-27 вводили перорально в дозе 10 мг/кг с 1-го по 15-й день опыта — 12 голов.

Согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств [11], у животных-опухоленосителей исследуемых групп были оценены следующие параметры: ингибирование роста опухоли по объёму и средняя продолжительность жизни (СПЖ) по сравнению с активным контролем. Торможение роста опухоли (ТРО) регистрировали на 9-й, 15-й, а также 21-е и 28-е сутки развития опухоли (7-е и 14-е сутки после окончания 2-недельного введения исследуемых соединений). Торможение роста (ТРО %) опухоли вычисляли по формуле:

$$\text{ТРО\%} = (\text{V}_{\text{контроля}} - \text{V}_{\text{опыта}}) / \text{V}_{\text{контроля}} \times 100 \%,$$

где V — объём опухоли на 9-й, 15-й, 21-й, 28-й дни опыта.

Увеличение продолжительности жизни вычисляли по формуле:

$$\text{УПЖ\%} = [(\text{СПЖ}_{\text{опыта}} - \text{СПЖ}_{\text{контроля}}) / \text{СПЖ}_{\text{контроля}}] \times 100 \%,$$

где СПЖ — средняя продолжительность жизни, дни.

Анализ выживаемости проводился также с использованием метода Каплана—Мейера.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы STATISTICA 13. Результат выражали в виде среднего арифметического и его стандартной ошибки, проверку данных на нормальность распределения выборок осуществляли по критерию Шапиро—Уилка, статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью критерия Манна—Уитни, анализ статистических различий между кривыми выживаемости проводили с помощью F-теста Кокса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

При двукратном введении доксорубицина мышам 2-й опытной группы на 2-е и 4-е сутки опыта в дозе 5 мг/кг выраженное ТРО было определено на всех сроках развития опухоли, на 21-й день опыта ТРО составило 82 %, на 28-е сутки — 69 %, однако

2 животных из 12 погибли в связи с токсичностью препарата. Согласно данным литературы [12], ЛД₅₀ доксорубина для самцов мышей составляет 5,9 мг/кг, ЛД₅₀ доксорубина — 10,8±1,0 мг/кг, что совпадает с данными наших исследований при изучении ЛД₅₀ доксорубина (фирма ЭБЕВЕ ФАРМА Гес. м. б. Х. Нфг. КГ, Австрия), который мы использовали в данной работе. Вероятной причиной гибели от доксорубина является токсическая кардиомиопатия, вызывающая острую сердечную недостаточность. Двукратное введение доксорубина в дозе 5 мг/кг с интервалом 2 дня оказалось токсичным.

При двухнедельном введении ГГМ-27 мышам 3-й опытной группы в/б введение ГГМ-27 в дозе 1 мг/кг вызывало торможение роста опухоли на 15-е, 21-е сутки и 28-е сутки развития опухоли, на 21-й день опыта ТРО составило 73 %, а на 28-е сутки — 71 % (табл. 1), что соответствует критерию эффективности по этому показателю [11].

Введение ГГМ-27 в/б в дозе 10 мг/кг животным 4-й опытной группы вызывало торможение роста опухоли на 15-е, 21-е и 28-е сутки развития опухоли, на 21-й день опыта ТРО составило 63 %, на 28-е сутки — 56 %. Таким образом, увеличение дозы ГГМ-27 до 10 мг/кг не усиливало торможение роста опухоли.

Значимое увеличение средней продолжительности жизни (УПЖ) по сравнению с активным контро-

лем при курсовом введении ГГМ-27 в дозе 10 мг/кг составило 24 %, курсовое введение ГГМ-27 в дозе 1 мг/кг и двукратное введение доксорубина в дозе 5 мг/кг не вызывало увеличения продолжительности жизни (УПЖ) по сравнению с контрольной группой животных-опухоленосителей (табл. 2).

Медиана выживаемости по методу Каплан—Майера (рис. 1) у животных контрольной группы составила 60 дней. При введении доксорубина и ГГМ-27 в дозе 1 мг/кг медиана выживаемости составила 60 дней, а при введении ГГМ-27 в дозе 10 мг/кг в/б — 75 дней.

Ограничения исследования / Study limitations

Двукратное введение доксорубина в дозе 5 мг/кг с интервалом в 2 дня индуцировало развитие побочного эффекта в виде токсической кардиомиопатии, с риском возникновения острой сердечной недостаточности, что обусловлено близостью суммарной дозы введения к полуживотной (ЛД₅₀ = 10,8 мг/кг). Во избежание смертности животных в будущих тестах планируется снизить дозу до 4 мг/кг с интервалом в 2 дня.

Заключение / Conclusion

Курсовое введение ГГМ-27 в/б в дозе 10 мг/кг мышам линии BALB/c с аденокарциномой толстой

Таблица 1

Влияние введения ГГМ-27 и доксорубина на рост аденокарциномы толстой кишки AKATOL у самцов мышей линии BALB/c

Table 1

The effect of GGM-27 and doxorubicin administration on the growth of ACATOL colon adenocarcinoma in male BALB/c mice

Группы n = 12	Средний объём опухоли, мм							
	9-е сутки	ТРО%	15-е сутки	ТРО%	21-е сутки	ТРО %	28-е сутки	ТРО%
Контроль	201,2±36,3		1916,4±380,4		3252,0±804,5		6015,4±1201,0	
Доксорубин 5 мг/кг дважды	2,5±1,8*	98,8	108,5±41,8*	94,3	595,2±194,2*	81,7	1848,6±689,4*	69,3
ГГМ-27 1 мг/кг	138,4±45,8	31,2	524,4±106,1*	72,6	886,5±102,9*	72,8	1759,9±346,7*	70,7
ГГМ-27 10 мг/кг	158,4±41,0	14,1	514,7±135,2*	73,1	1198,6±290,7*	62,7	2633,5±485,9*	55,5

Примечание: p < 0,05 по сравнению с контрольной группой по F-тесту Кокса.

Note: p < 0.05 compared to the control group by Cox's F-test.

Таблица 2

Изучение влияния ГГМ-27 на увеличение продолжительности жизни на модели аденокарциномы толстой кишки AKATOL мышей линии BALB/c

Table 2

Study of the effect of GGM-27 on increasing lifespan in the AKATOL colon adenocarcinoma model in BALB/c mice

Группа, n = 12	Средняя продолжительность жизни, (дней)	УПЖ, %
Активный контроль	58,1	
Доксорубин 5 мг/кг	57,5	–1 %
ГГМ-27 1 мг/кг	57,0	–1 %
ГГМ-27 10 мг/кг	72,2*	24 %

Примечания: n — число животных в группе; * — p < 0,05 по F-тесту Кокса.

Notes: n — number of animals in a group; * — p < 0.05 by Cox's F-test.

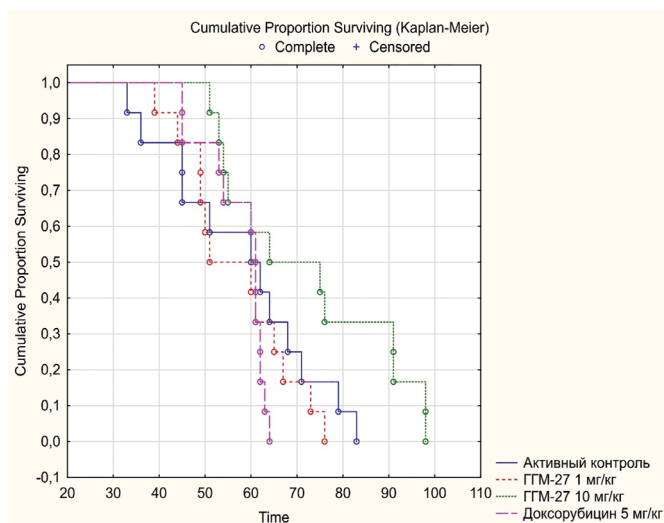


Рис. 1. Влияние ГГМ-27 и доксорубина на выживаемость мышей линии BALB/c с аденокарциномой толстой кишки АКАТОЛ

Fig. 1. The effect of GGM-27 and doxorubicin on the survival of BALB/c mice with colon adenocarcinoma ACATOL

кишки АКАТОЛ вызывало значимое УПЖ, а также ТРО на 15-е, 21-е и 28-е сутки развития опухоли. На 21-й день опыта ТРО составило 63 %, на 28-е сутки — 56 %. 14-дневное в/б введение ГГМ-27 мышам-опухоленосителям в дозе 1 мг/кг вызывало выраженное торможение роста опухоли на 15-е, 21-е сутки и 28-е сутки развития опухоли, на 15-й день опыта ТРО составило 72,6 %, на 21-й день опыта — 72,8 %, а на 28-е сутки — 71 %, что соответствует критерию эффективности по этому показателю [10]. При двукратном в/б введении доксорубина на 2-й и 4-й день опыта в дозе 5 мг/кг ТРО на 21-й день опыта составило 82 %, на 28 суток — 69 %, однако 2 животных из 12 в связи с токсичностью препарата погибли.

Таким образом, курсовое введение соединения 1-([4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]фенил]сульфонил-(2S,4R)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновой кислоты (ГГМ-27) в дозе 1 мг/кг вызывало выраженное торможение роста опухоли более чем на 70 %, с сохранением значимого эффекта более 7 суток. Полученные результаты согласуются с данными о противоопухолевой активности ГГМ-27, полученными ранее на модели аденокарциномы молочной железы Ca755 [8].

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Коваленко Л. П. — дизайн эксперимента, выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов, написание текста; Журиков Р. В., Иванова Е. А., Васильчук А. Г. — выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов; Григоркевич О. С. — синтез соединения ГГМ-27, анализ и интерпретация результатов, редактирование текста; Мокров Г. В., Жанатаев А. К. — обсуждение результатов, редактирование текста; Гудашева Т. А. — постановка задачи, координация работы исследователей, редактирование текста; Дорофеев В. Л. — постановка задачи, координация работы исследователей, обсуждение результатов, редактирование текста.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках темы FGFG-2025-0005 при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Authors' participation

Kovalenko LP — experimental design, execution of experimental work, analysis and interpretation of results, manuscript writing; Zhurikov RV, Ivanova EA, Vasilchuk AG — execution of experimental work, analysis and interpretation of results; Grigorkevich OS — synthesis of the compound GGM-27, analysis and interpretation of results, manuscript editing; Mokrov GV, Zhanatayev AK — discussion of results, manuscript editing; Gudasheva TA — task formulation, coordination of researchers' work, manuscript editing; Dorofeev VL — task formulation, coordination of researchers' work, discussion of results, manuscript editing.

Funding

The study was carried out as part of the FGFG-2025-0005 with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Коваленко Лариса Петровна — д. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: kovalenko_lp@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2083-0832>

РИНЦ SPIN-код: 5185-4250

Larisa P. Kovalenko — PhD, Dr. Sci. (Biology), Leading Research Scientist of Laboratory Drug Toxicology Department of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: kovalenko_lp@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2083-0832>

RSCI SPIN code: 5185-4250

Журиков Руслан Владимирович — ведущий инженер отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: zhurikov_rv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1084-690X>

РИНЦ SPIN-код: 6648-1794

Ruslan V. Zhurikov — Leading Engineer of the Department of Drug Toxicology, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: zhurikov_rv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1084-690X>

RSCI SPIN code: 6648-1794

Григоркевич Оксана Сергеевна — к. б. н., н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: grigorkevich_os@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7702-0569>

РИНЦ SPIN-код: 9149-3541

Oksana S. Grigorkevich — PhD, Cand. Sci. (Biology), Research Scientist of the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: grigorkevich_os@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7702-0569>

RSCI SPIN code: 9149-3541

Иванова Елена Анатольевна — к. фарм. н., в. н. с. лаборатории экспериментальной фармакологии боли ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: ivanova_ea@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4961-2051>

РИНЦ SPIN-код: 5005-0337

Elena A. Ivanova — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Leading Research Scientist of Laboratory of Experimental Pain Pharmacology of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: ivanova_ea@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4961-2051>

RSCI SPIN code: 5005-0337

Васильчук Анастасия Геннадьевна — н. с. лаборатории экспериментальной фармакологии боли ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: vasilchuk_ag@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9079-1322>

РИНЦ SPIN-код: 5646-4635

Anastasia G. Vasilchuk — Research Scientist of Laboratory of Experimental Pain Pharmacology of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: vasilchuk_ag@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9079-1322>

RSCI SPIN code: 5646-4635

Мокров Григорий Владимирович — к. х. н., гл. н. с., руководитель отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>
РИНЦ SPIN-код: 8755-7666

Grigory V. Mokrov — PhD, Cand. Sci. (Chemical), Chief Researcher, Head of Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>
RSCI SPIN code: 8755-7666

Жанатаев Алий Курманович — к. б. н., руководитель отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: zhanataev_ak@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>
РИНЦ SPIN-код: 7070-0510

Aliy K. Zhanataev — PhD, Cand. Sci. (Biology), Head of the Department of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: zhanataev_ak@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>
RSCI SPIN code: 7070-0510

Гудашева Татьяна Александровна — д. б. н., профессор, член-корреспондент РАН, гл. н. с., заведующий лабораторией пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: gudasheva_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
РИНЦ SPIN-код: 4970-0006

Tatiana A. Gudasheva — PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor, RAS Corresponding Member, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: gudasheva_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
RSCI SPIN code: 4970-0006

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и. о. генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
РИНЦ SPIN-код: 3237-7268

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
RSCI SPIN code: 3237-7268

Список литературы / References

1. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017;147:1-73. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
2. Cui W. The multifaceted roles of matrix metalloproteinases in lung cancer. *Frontiers in Oncology*. 2023;13. DOI: 10.3389/fonc.2023.1195426.
3. Mustafa S, Koran S, AlOmair L. Insights Into the Role of Matrix Metalloproteinases in Cancer and its Various Therapeutic Aspects: A Review. *Front Mol Biosci*. 2022 Sep 29;9:896099. doi: 10.3389/fmolb.2022.896099.
4. Han JC, Li XD, Du J, et al. Elevated matrix metalloproteinase-7 expression promotes metastasis in human lung carcinoma. *World J Surg Oncol*. 2015 Jan 14;13:5. doi: 10.1186/1477-7819-13-5.
5. Zhang L, Li N, Yan HC, et al. Expression of Novel CD44st and MMP2 in NSCLC Tissues and Their Clinical Significance. *Oncol Res Treat*. 2017;40(4):192-196. doi: 10.1159/000456669.

6. Ding M, Wang C, Hu J, et al. PLOD3 facilitated T cell activation in the colorectal tumor microenvironment and liver metastasis by the TNF- α /NF- κ B pathway. *J Transl Med*. 2024 Jan 6;22(1):30. doi: 10.1186/s12967-023-04809-w.
7. Baek JH, Yun HS, Kwon GT, et al. PLOD3 promotes lung metastasis via regulation of STAT3. *Cell Death Dis*. 2018 Nov 15;9(12):1138. doi: 10.1038/s41419-018-1186-5.
8. Григорьев О. С., Коваленко Л. П., Мокров Г. В. и др. Анти-метастатическая активность ингибитора матричной металлопротеиназы 2-го типа, производного фенилсульфонил-L-пролина АЛ-828, на модели карциномы лёгкого Льюис у самцов мышей линии C57BL/6. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(2):9-17. [Grigorkevich OS, Kovalenko LP, Mokrov GV, et al. Antimetastatic activity of the phenylsulfonyl-L-proline derivative AL-828, a matrix metalloproteinase-2 inhibitor, in a male C57BL/6 mouse model of Lewis lung carcinoma. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(2):9-17. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2025-2-9-17.

9. Зуева Е.П., Козлов А.М., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей. Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. У. Хабриева. М.: Медицина; 2005. С. 674-682. [Zueva EP, Kozlov AM, Gerasimova GK. Metodicheskie ukazaniya po doklonicheskomu izucheniyu sredstv, obladayushih sposobnostyu ingibirovat process metastazirovaniya i povishat effektivnost citostaticheskoy terapii zlokachestvennih opuholey. Rukovodstvo po eksperimentalnomu doklinicheskomu izucheniyu novih pharmacologicheskikh veschestv / ed by RU Khabriev. M.: Medicina; 2005. P. 674-682. (In Russ.)].

10. Григорьевич О.С., Коваленко Л.П., Журиков Р.В. и др. Получение нового ингибитора матриксных металлопротеиназ 2-го и 9-го типов 1-({4-[(2,4-дихлорбензоил)амино]фенил}сульфонил-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновой кислоты и выявление его противоопухолевой активности на модели аденокарциномы молочной железы. *Химико-фармацевтический журнал*. 2025;59(2):10-19. [Grigorkevich OS, Kovalenko LP, Zhurikov RV, et al. Production of a new inhibitor of matrix metalloproteinases types 2 and 9 1-({4-[(2,4-dichlo-

robenzoyl)amino]phenyl)sulfonyl-(2S,4R)-4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylic acid and detection of its antitumor activity in a model of breast adenocarcinoma. *Chemical and pharmaceutical journal*. 2025;59(2):10-19 = *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2025;59(2):168-177 (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2025-59-2-10-19.

11. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К; 2012. С. 642-657. [Treschalina EM, Zhukova OS, Gerasimova GK, et al. Methodical recommendations for the pre-clinical study of the antitumor activity of drugs. In the book: Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. / ed by AN Mironov. Moscow: Grif i K; 2012. P. 642-657. (In Russ.)].

12. Базилов ИА, Бейер ЭВ, Лукинов ВВ, Мальцев АН. Сравнительная оценка острой токсичности доксорубина и его ниосомальной формы. *Медицинский Вестник Северного Кавказа*. 2015;10(3):403-406. [Bazikov IA, Beyer EV, Lukinov VV, Maltsev AN. Comparative evaluation of acute toxicity doxorubicin and its in niosomes. *Medical news of north caucasus*. 2015;10(3):403-406. (In Russ.)]. doi: 10.14300/mnnc.2015.10098.



Конструирование и синтез нового димерного дипептидного миметика 4-й петли нейротрофина-3 гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) и его D,D-стереоизомера

Сазонова Н. М., Филиппова М. Ю., Мельникова М. В., Ребеко А. Г., Кузнецов Д. Н., Поварнина П. Ю., Гудашева Т. А.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Введение. Нейротрофин-3 (NT-3), как и другие белки семейства нейротрофинов, играет важную роль в поддержании гомеостаза нервной системы, а нарушения его сигналинга ассоциированы с широким спектром неврологических и психических заболеваний. Преодолеть ограничения клинического применения NT-3 (низкая биодоступность, риск развития побочных эффектов) возможно созданием фармакологически пригодных низкомолекулярных миметиков.

Цель. Сконструировать и синтезировать новый потенциальный дипептидный миметик 4-й петли NT-3 гексаметилендиамид бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), а также синтезировать его энантиомер для изучения их биологической активности и выявления её стереоспецифичности.

Материалы и методы. Соединения получали классическими методами пептидного синтеза в растворе с использованием Boc-стратегии защитных групп и метода активированных пентафторфениловых эфиров. Строение и диастереомерную чистоту целевых пептидов и промежуточных соединений устанавливали методами одномерной ^1H , ^{13}C и двумерной ЯМР-спектроскопии. Хроматографическую гомогенность определяли с помощью ТСХ и ОФ ВЭЖХ. Целевые дипептиды были охарактеризованы удельным углом оптического вращения $[\alpha]_D$.

Результаты. Предложена семистадийная схема синтеза L,L- и D,D-энантиомеров гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-304LL, ГТС-304DD). Целевые дипептиды по этой схеме получены с общим выходом 37–38 % и хроматографической чистотой 97–99 %.

Выводы. Получены новые замещённые аспарагин-содержащие дипептиды, потенциальные миметики нейротрофина-3. Соединения охарактеризованы для дальнейшего изучения их биологической активности.

Ключевые слова: нейротрофин-3; миметик; дипептид; ГТС-304LL; ГТС-304DD; пептидный синтез

Для цитирования:

Сазонова Н. М., Филиппова М. Ю., Мельникова М. В., Ребеко А. Г., Кузнецов Д. Н., Поварнина П. Ю., Гудашева Т. А. Конструирование и синтез нового димерного дипептидного миметика 4-й петли нейротрофина-3 гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) и его D,D-стереоизомера. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):45–58. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-45-58>. EDN: FUYWTI

Поступила: 15.05.2026. **В доработанном виде:** 15.06.2026. **Принята к печати:** 25.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Designing and synthesis of a new dimeric dipeptide mimetic of the 4th loop of neurotrophin-3 bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) hexamethylenediamide and its D,D-stereoisomer

Nellya M. Sazonova, Maria Yu. Filippova, Marina V. Melnikova, Alexey G. Rebeko, Dmitry N. Kuznetsov, Polina Yu. Povarnina, Tatiana A. Gudasheva
Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Neurotrophin-3 (NT-3), like other proteins of the neurotrophin family, plays an important role in maintaining the homeostasis of the nervous system, and disorders of its signaling are associated with a wide range of neurological and psychiatric diseases. It is possible to overcome the limitations of the clinical use of NT-3 (low bioavailability, risk of side effects) by creating pharmacologically suitable low molecular weight mimetics.

Purpose. To design and synthesize a new potential dipeptide mimetic of the 4th loop of NT-3 hexamethylenediamide bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine), and to synthesize its enantiomer, in order to study their biological activity and identify its specificity.

Materials and methods. The compounds were obtained by classical peptide synthesis methods in solution using the Boc strategy of protective groups and the method of activated pentafluorophenyl esters. The structure and diastereomeric purity of the target peptides and intermediates were established using one-dimensional ^1H , ^{13}C and two-dimensional NMR spectroscopy. Chromatographic homogeneity was determined using TLC and RP HPLC. The target dipeptides were characterized by the specific optical rotation angle $[\alpha]_D$.

Results. A seven-step synthesis scheme for the L,L- and D,D-enantiomers of hexamethylenediamide bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) (GTS-304LL, GTS-304DD) was proposed. The target dipeptides were obtained using this scheme with an overall yield of 37–38 % and a chromatographic purity of 97–99 %.

Conclusions. New substituted asparagine-containing dipeptides, potential neurotrophin-3 mimetics, were obtained. The compounds were characterized for further study of their biological activity.

Keywords: neurotrophin-3; mimetic; dipeptide; GTS-304LL; GTS-304DD; peptide synthesis

For citations:

Sazonova NM, Filippova MYu, Melnikova MV, Rebeko AG, Kuznetsov DN, Povarnina PYu, Gudasheva TA. Designing and synthesis of a new dimeric dipeptide mimetic of the 4th loop of neurotrophin-3 bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) hexamethylenediamide and its D,D-stereoisomer. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):45–58. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-45-58>. EDN: FUYWTI

Received: 15.05.2026. **Revision received:** 15.06.2026. **Accepted:** 25.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Белки семейства нейротрофинов, которые у млекопитающих включают фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF), мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), нейротрофин-3 (NT-3) и нейротрофин-4 (NT-4), играют центральную роль в развитии нервной системы и поддержании её гомеостаза [1]. Для большинства неврологических и психических заболеваний выявлена ассоциация с нарушениями нейротрофинового сигналинга [2–4]. В связи с этим нейротрофины привлекают большой интерес как потенциальные терапевтические средства. Однако клиническое применение полноразмерных нейротрофинов осложняется их низкой биодоступностью, а также риском развития побочных эффектов таких как гипералгезия [5]. Для преодоления этих ограничений рядом научных групп разрабатываются низкомолекулярные миметики нейротрофинов [6–8]. По сравнению с NGF и BDNF, для которых в литературе описаны десятки миметиков, единичные из которых находятся на разных стадиях доклинических и клинических исследований, миметикам NT-3 посвящено сравнительно небольшое количество работ, при этом отсутствуют данные об их эффектах *in vivo*.

На основе β -поворотных участков NT-3 группой учёных под руководством Кевина Бургесса и Х. Ури Сарагови (Burgess K and Saragovi UH) был создан ряд

макроциклических моно- и бивалентных миметиков, которые содержали дипептидные фрагменты полноразмерного нейротрофина (рис. 1) [9–11]. Для соединения 1Aa (рис. 1) были выявлены нейтропротекторная и нейрорегенеративная активности на модели нейросенсорной тугоухости *in vitro* [11], характерные для полноразмерного NT-3 [12].

Научной группой под руководством Энрико Ризцарелли (Enrico Rizzarelli) был создан пептид, содержащий 13 аминокислотных остатков (1–13) N-концевого участка NT-3, который в экспериментах *in vitro* на клетках нейробластомы человека стимулировал дифференцировку нейронов и рост нейритов, и эти эффекты были опосредованы активацией Trk рецепторов [13].

Ранее в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был предложен и разработан оригинальный подход к созданию низкомолекулярных димерных дипептидных миметиков нейротрофинов, основанный на воспроизведении пространственной структуры β -изгибов их петель, предположительно играющих ключевую роль во взаимодействии с рецептором [8, 14]. При этом сохраняли наиболее экспонированный центральный дипептидный фрагмент β -изгиба, предшествующий ему аминокислотный остаток заменяли на соответствующий биоизомер, и для воспроизведения димерной структуры нейротрофина N-ацилдипептид димеризовали с использованием олигометилendiаминового спейсера. Стабилизация нужной конформации может обеспечиваться внутримолекулярной водородной связью между карбонилем N-ацильного радикала и амидной связью C-концевого аминокислотного остатка. На основе этого принципа был создан ряд миметиков NGF и BDNF, обладающих выраженной нейтропротекторной активностью *in vitro* и *in vivo*, и другими видами биологической активности, характерными для полноразмерного белка (антидепрессантоподобная, анксиолитическая, мнотропная, антидиабетическая и др.) [8, 15]. В 2022 г. нами был получен димерный дипептидный миметик 4-й петли NT-3, гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-аспарагинил-L-аспарагина (ГТС-301), который, подобно полноразмерному белку, активировал TrkC и TrkB рецепторы, проявлял нейтропротекторную активность в экспериментах *in vitro* в наномолярных-пикомолярных концентрациях и антидепрессантоподобной активностью в дозах 10–40 мг/кг, внутрибрюшинно [16].

Целью настоящего исследования было получение нового потенциального дипептидного миметика 4-й петли NT-3, а также его энантиомера для сравнительного изучения их биологической активности.

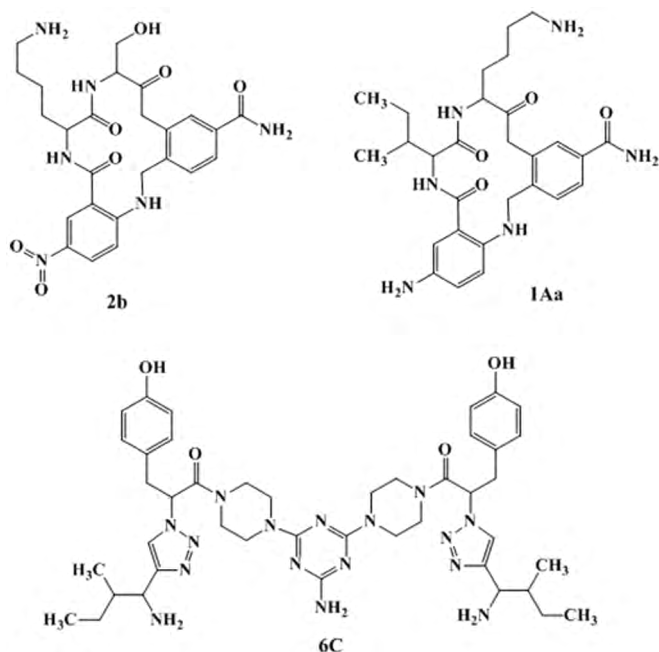


Рис. 1. Моновалентные (2b [9], 1Aa [10]) и бивалентный (6C [11]) миметики NT-3

Fig. 1. Monovalent (2b [9], 1Aa [10]) and bivalent (6C [11]) NT-3 mimetics

Материалы и методы / Materials and methods

Список сокращений

Asn — аспарагинил; Вос — *трет*-бутилоксикарбонил; CDCl_3 — дейтерированный хлороформ; DMSO-d_6 — дейтерированный диметилсульфоксид; Glt — моноглутарил; OPfp — пентафторфенил; Pd/C — катализатор: наночастицы палладия на поверхности активированного угля; ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; ДИПЭА — диизопропиламин; ДМФА — диметилформамид; ДЦГК — дициклогексилкарбодиимид; ДЦГМ — дициклогексилмочевина; т.пл. — температура плавления; ТФУ — трифторуксусная кислота; ЯМР — ядерный магнитный резонанс.

Исходные вещества и вспомогательные реагенты

В работе использовали коммерческие исходные вещества и вспомогательные реагенты: L-аспарагин моногидрат (ООО «Диаэм», производство КНР); D-аспарагин моногидрат, пентафторфенол и трифторуксусная кислота (AlfaAesar, США); дициклогексилкарбодиимид (ДЦГК) (Sigma-Aldrich, Германия); ди-*трет*-бутилпирикарбонат (ООО «Кемикал лайн», Россия).

Растворители: этилацетат, диметилформамид, диэтиловый эфир, дихлорметан, гексан, метанол были получены от ООО ТД «Химмед» (Россия). Диметилформамид очищали перегонкой в вакууме над нингидрином. Диэтиловый эфир выдерживали над NaOH, затем фильтровали через бумажный фильтр. Дихлорметан пропускали через колонку с Al_2O_3 . Этилацетат и спирты использовали без дополнительной очистки.

Аналитические методы

Температуру плавления определяли на приборе Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, Великобритания) в открытых капиллярах без корректировки. Удельное оптическое вращение регистрировали на автоматическом поляриметре ADP 440 Polarimeter (Bellingham+Stanley Ltd., Великобритания). Строе и диастереомерную чистоту целевых пептидов и промежуточных соединений устанавливали методами ЯМР-спектроскопии одномерной ^1H -, ^{13}C - и двумерной (COSY — гомоядерная корреляция, HSQC — гетероядерная одноквантовая корреляция, HMBC — гетероядерная многосвязная корреляция). Спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР регистрировали в шкале δ , м. д. на спектрометре Bruker Fourier 300 HD (Bruker Corporation, Leipzig, Germany, 300 и 75 МГц для ядер ^1H - и ^{13}C соответственно) в растворах DMSO-d_6 и CDCl_3 , внутренний стандарт тетраметилсилан (0 м.д.). Константа спин-спинового взаимодействия J , Гц. Для обозначения резонансных сигналов использовали следующие сокращения: с — синглет, д — дублет, т — триплет, м — мультиплет.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) выполняли на стеклянных силикагелевых пластинах DC Kieselgel 60 G/F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах растворителей, представленных в табл. 1. Аминосодержащие соединения обнаруживали нингидрином, соединения с амидными группами — с помощью хлор-толидиновой пробы.

Таблица 1

Системы растворителей, использованных в качестве элюентов для ТСХ

Table 1

Solvent systems used as eluents for TLC

Шифр	Состав системы	Объемное соотношение
А	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода	15:10:2:3
Б	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода	8:10:2:3
В	Бутанол–Уксусная кислота–Вода	3:1:1
Г	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота	8:1:0,1
Д	Этилацетат	—
Е	Гексан–Этилацетат	1:5
Ж	Гексан–Этилацетат	1:1
З	Хлороформ–Метанол	9:1

Аналитическую ОФ ВЭЖХ проводили на жидкостном хроматографе Infinity II 1260 (Agilent Technologies, США) с градиентным насосом и спектрофотометрическим детектором с диодной матрицей; программное обеспечение — Agilent OpenLAB CDS ChemStation. Хроматографическая колонка BDS Hypersil C18 250×4,6 мм, 5 мкм (Thermo Scientific, США). Анализ выполняли в условиях линейного градиента с применением двух подвижных фаз (ПФ): смесь 0,02М фосфатного буферного раствора с pH 7,6 и метанола в объемном соотношении 95:5 (ПФ А) и смесь 0,02М фосфатного буферного раствора с pH 7,6, метанола и ацетонитрила в объемном соотношении 60:100:40 (ПФ Б). Режим градиента: ПФ А/ПФ Б от 100/0 до 85/15 за 15 минут, затем от 85/15 до 30/70 за 10 минут, выдержка 30/70 в течение 10 минут, затем от 30/70 до 100/0 за 2 минуты, выдержка 100/0 в течение 8 минут. Скорость потока ПФ 1 мл/мин; температура термостата колонки 20 °С; аналитическая длина волны детектирования 210 нм, объем вводимой пробы 20 мкл.

Синтез гексаметилендиамида бис-(N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), ГТС-304LL

N-*трет*-бутилоксикарбонил-L-аспарагина, Вос-L-Asn-OH (1L). К раствору 56,8 г (0,378 моль) моногидрата H-Asn-OH в 378 мл 1М NaOH при перемешивании последовательно приливали раствор 18,9 г (0,225 моль) NaHCO_3 в 189 мл воды и 378 мл

изопропилового спирта. Далее при комнатной температуре к реакционной массе порционно по ~20–30 мл прибавляли 113 мл 98 % ($p = 0,95$; 0,491 моль, 30 % изб.) ди-*трет*-бутилпирокарбоната в течение 30 мин и перемешивали 24 ч. Реакционную массу упаривали на ротормном испарителе при температуре 35–40 °C до объёма ~ 600–500 мл (удаляли т. о. изопропанол и *трет*-бутанол) и к остатку приливали 300 мл воды. Непрореагировавший ди-*трет*-бутилпирокарбонат экстрагировали гексаном 3×200 мл. Водно-щелочной раствор охлаждали до –2 °C и подкисляли 10 % р-ром HCl до pH 3–3,5 так, чтобы температура не поднималась выше 0 °C. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали 150 мл холодной воды, хорошо отжимали и затем промывали гексаном 2×100 мл. Сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса в течение 1,5 ч, затем на воздухе в фарфоровой чаше в течение 12 ч. Получали 82,8 г (94 %) продукта **1L** в виде белого порошка. R_f 0,51 (A), R_f 0,84 (B), R_f 0,71 (B), R_f 0,17 (Г); Т.пл. 176–176,4 °C с разлож.; $[\alpha]_D^{21} -9,56^\circ$ (с 2; ДМФА), $[\alpha]_D^{21,5} -11,2^\circ$ (с 1; ДМФА). Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.д.: 1,38 (с, 9H, –OC(CH₃)₃ Boc), 2,37–2,53 (м, 2H, C ^{β} H₂ Asn), 4,14 (м, минорн. конформер 1H, C ^{α} H Asn), 4,22 (м, 1H, C ^{α} H Asn), 6,60 (д, 1H, минорный конформер $^3J = 7,74$ Гц, NH Asn), 6,88 (д, 1H, мажорный конформер, $^3J = 8,5$ Гц, NH Asn), 6,91 and 7,32 (два с, 2H, –C(O)NH₂ Asn), 12,52 (с, 1H, COOH).

Лит. [17]: Т.пл. 176 °C (decomp); $[\alpha]_D^{20} -7,2^\circ$ (с 2, ДМФА). Лит. [18]: Т.пл. 177–179 °C (Этанол); $[\alpha]_D^{20} -7,8^\circ$ (с 1, ДМФА).

Пентафторфениловый эфир *N*-трет-бутил-оксикарбонил-L-аспарагина, Boc-L-Asn-OPfp (2L). К суспензии 40,00 г (0,172 ммоль) Boc-L-Asn-OH в 700 мл этилацетата (ЭА) в четырёхгорлой круглодонной колбе ёмкостью 2 л, снабжённой механической мешалкой, воздушным холодильником и термометром при комнатной температуре и перемешивании приливали раствор 37,71 г 98 % (36,95 г 100 %, 0,2 моль, 20 % изб.) пентафторфенола в 90 мл ЭА, далее при температуре 10 °C последовательно порциями приливали раствор 43,13 г 99 % (42,7 100 %, 0,207 моль, 20,2 % изб.) ДЦГК в 100 мл ЭА, остатки ДЦГК смывали 40 мл ЭА. Реакционную массу в виде суспензии перемешивали 22 ч при 9–10 °C, далее прибавляли 3,31 г щавелевой кислоты (на избыток ДЦГК), выдерживали при перемешивании 1 ч. ДЦГМ отфильтровывали, промывали 200 мл ЭА (+10 °C), фильтрат упаривали на ротормном испарителе при температуре 30–35 °C (12 мм рт. ст.). К подвижному остатку приливали 350 мл петролейного эфира (фракция 40–60 °C) и оставляли в холодильнике (+4 °C) на 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали петролевым эфиром (150 мл), высушивали на фильтре в вакууме водоструйного насоса. Получали 61,8 г (90 %) **2L** в виде белого кристаллического продукта. R_f осн. пятна 0,73 (Д), R_f осн. пятна 0,66 (Е), R_f осн.

пятна 0,71 (З). Т.пл. 120–122,7 °C (из петролейного эфира); $[\alpha]_D^{23} -17,9^\circ$ (с 1; Этилацетат). Спектр ^1H -ЯМР (CDCl₃), δ , м.д.: 1,47 (с, 9H, –OC(CH₃)₃ Boc), 2,90 (дд, 1H, $^2J = 16,5$ Гц, $^3J = 4,1$ Гц, C ^{β} H₂ Asn), 3,15 (дд, 1H, $^2J = 16,5$ Гц, $^3J = 4,7$ Гц, C ^{β} H₂ Asn), 4,90 (м, 1H, C ^{α} H Asn), 5,90 (д, 1H, 3J 8,7 Гц, NH Asn), 5,75 и 6,03 (два уш.с, 2H, –C(O)NH₂ Asn).

Лит. [19]: Т.пл. 124–126 °C (диэтиловый эфир/гексан); $[\alpha]_D^{25} -16,7^\circ$ (с 1, Этилацетат).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутил-оксикарбонил-L-аспарагина), (Boc-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (3L). К раствору 20,56 г (0,0516 моль) Boc-L-Asn-OPfp в 500 мл ацетонитрила при перемешивании прибавляли 2,55 г 98 % (0,0215 моль) гексаметилендиамина, остатки смывали 150 мл ацетонитрила. Реакционную смесь перемешивали в течение 7 ч при комнатной температуре (ТСХ — контроль). Для полного прохождения реакции прибавляли ещё 1,5 г (0,0037 моль) Boc-L-Asn-OPfp и перемешивали в течение 5 ч. Гелеобразный осадок отфильтровывали, промывали 2×100 мл ацетонитрила, 100 мл этилацетата, 2×80 мл диэтилового эфира, хорошо отжимали. Сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса, переносили в фарфоровую чашу и досушивали на воздухе. Получали хроматографически гомогенный продукт **3L** с выходом 11,4 г (97 %) в виде белого кристаллического порошка. R_f 0,91 (Б), R_f 0,75 (В); Т.пл. 206–211,2 °C с разлож.; $[\alpha]_D^{21} -2,04^\circ$ (с 1; ДМСО). Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.д.: 1,20 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ спейсер), 1,37 (м, 22H, 2 C ^{β} H₂ спейсер, 2 –OC(CH₃)₃), 2,36 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ Asn), 3,02 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ спейсер), 4,16 (м, 2H, C ^{α} H Asn), 6,82 (д, 2H, $^3J = 8,1$ Гц, NH Asn), 6,87 и 7,26 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 7,67 (т, 2H, $^3J = 5,3$ Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(L-аспарагина), (CF₃COOH*H-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (4L). Раствор 5 г (9,18 ммоль) (Boc-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в смеси 25 мл хлористого метилена и 25 мл 100 % ТФУ перемешивали при комнатной температуре 2,5 ч, реакционную массу упаривали, переупаривали с хлористым метиленом (2×25 мл), остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×25 мл), далее оставляли под диэтиловым эфиром (25 мл) на 4 ч. Осадок отфильтровывали на насадке для гигроскопических веществ, дополнительно промывали 25 мл диэтилового эфира и высушивали в вакууме диафрагменного насоса (9 мм рт. ст.). Получали хроматографически гомогенный продукт **4L** в виде белого кристаллического вещества с количественным выходом 5,02 г (95 %). R_f 0,36 (Б), R_f 0,17 (В); Т.пл. 160,2–178,5 °C с разлож.; $[\alpha]_D^{25} +4,66^\circ$ (с 1; Метанол). Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6), δ , м.д.: 1,26 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ спейсер), 1,40 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ спейсер), 2,62 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ Asn), 3,09 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ спейсер), 3,98 (м, 2H, 2 C ^{α} H Asn), 7,23 и 7,66 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 8,09 (уш с, 6H, 2 N ^{β} H₃ Asn), 8,33 (т, 2H, $^3J = 5,5$ Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутилоксикарбонил-L-аспарагинил-L-аспарагина), (Вос-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (5LL). К 4,54 г (1,14 ммоль) Вос-L-Asn-OPfr в 200 мл ацетонитрила приливали порционно при перемешивании раствор 2,342 г (4,1 ммоль) (CF₃COOH*H-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 35 мл диметилформамида с 1,57 мл (9,02 ммоль) ДИПЭА. Реакционную смесь перемешивали 12 ч при комнатной температуре. Для полного прохождения реакции добавляли 0,5 г Вос-L-Asn-OPfr и перемешивали в течение 2 ч (ТСХ-контроль). Гелевый осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом (2×35 мл), диэтиловым эфиром (3×20 мл), сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса, одновременно растирая его. Далее белый кристаллический осадок переносили в фарфоровую чашу и сушили на воздухе в течение ночи при комнатной температуре. Получали 2,75 г (87 %) хроматографически гомогенного **5LL** в виде белого кристаллического порошка. R_f 0,89 (Б), R_f 0,36 (В); Т.пл. 200–227 °С с разлож.; [α]_D²⁴ –13,4° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,19 (м, 4Н, 2 С³H₂ спейсер), 1,38 (м, 22Н, 2 С²H₂ спейсер, 2 –OC(CH₃)₃ Вос), 2,39–2,55 (м, 8Н, 4 С^βH₂ ¹Asn и ²Asn), 3,00 (м, 4 Н, 2 С¹H₂ спейсер), 4,17 (м, 2Н, С^αH ²Asn), 4,41 (м, 2Н, С^αH ¹Asn), 6,88 и 7,33, 6,96 и 7,38 (четыре с, 8Н, 4 –C(O)NH₂ ¹Asn и ²Asn), 7,00 (д, 2Н, ³J = 7,3 Гц, 2 NH ²Asn), 7,61 (т, 2Н, ³J = 4,8 Гц, –NH(CH₂)₆NH–), 8,11 (д, 2Н, ³J = 7,9 Гц, 2 NH ¹Asn).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(L-аспарагинил-L-аспарагина), (CF₃COOH*H-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (6LL). Раствор 4,4 г (5,7 ммоль) (Вос-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в смеси 20 мл хлористого метилена и 20 мл ТФУ, перемешивали 2,5 ч, затем реакционную массу упаривали в вакууме водоструйного насоса, переупаривали (2×20 мл) с хлористым метиленом, остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×20 мл) и оставляли под диэтиловым эфиром (20 мл) на 4 ч, далее осадок отфильтровывали на насадке для гигроскопичных веществ и высушивали в вакууме диафрагменного насоса (9 мм рт. ст.). Получали 4,15 г (91 %) **6LL** в виде хроматографически гомогенного белого кристаллического осадка. R_f 0,25 (А), R_f 0,08 (В); т.пл. 197–211 °С (с разложением); [α]_D²⁴ – 5,0° (с 1; ДМСО), [α]_D²⁴ – 7,5° (с 0,66; Метанол : Вода (2:1)). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,20 (м, 4Н, –NH(CH₂)₂–(CH₂)₂–(CH₂)₂–NH–), 1,36 (м, 4Н, –NH-CH₂–CH₂–(CH₂)₂–CH₂–CH₂–NH–), 2,41 и 2,52 (два дд, 4Н, ²J = 15,7 Гц, ³J = 8,0 Гц и ³J = 5,3 Гц, 2 С^βH₂, ²Asn), 2,63 и 2,74 (два дд, 4Н, ²J = 17 Гц, ³J = 7,5 Гц и ³J = 5,0 Гц, 2 С^βH₂, ¹Asn), 3,01 (м, 4 Н, –NH-CH₂–(CH₂)₄–CH₂–NH–), 4,05 (уш. с, 2Н, 2 –N⁺H₃–С^αH ²Asn), 4,53 (м, 2Н, 2 –NH–С^αH ¹Asn), 6,91 и 7,37; 7,29 и 7,75 (четыре с, 8Н, 4 –C(O)–NH₂бок, ¹Asn и ²Asn), 7,84 (т, 2Н, ³J = 5,6 Гц, –NH(CH₂)₆NH–), 8,15 (уш.с, 6Н, 2N⁺H₃, ²Asn), 8,61 (д, 2Н, ³J = 7,7 Гц, 2 NH–С^αH ¹Asn).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), (HOOC-(CH₂)₃-CO-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (ГТС-304LL) (7LL). К раствору 1,6 г (1,99 ммоль) (CF₃COOH*H-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 100 мл диметилформамида приливали 0,811 мл (4,66 ммоль) ДИПЭА, затем при перемешивании присыпали 0,558 г (4,66 ммоль) глутарового ангидрида. Реакционную смесь перемешивали в течение 7 ч при комнатной температуре, контролируя значение pH (7,5–8) с помощью ДИПЭА. Оставляли на ночь без перемешивания. По окончании реакции (ТСХ контроль) к густой гелеобразной реакционной массе приливали 50 мл ацетонитрила и перемешивали до однородной массы в течение 5 мин, после чего гелеобразный осадок отфильтровывали, последовательно промывали 1×50 мл ацетонитрила, 1×10 мл этилацетата, 1×10 мл ацетона. Получали 0,966 г (62 %) технического продукта **7LL** в виде белого порошка. После очистки из смеси 75 мл воды и 50 мл метанола и высушивания в вакуум-эксикаторе над CaCl₂ при 15 мм рт. ст. получали 0,49 г (51 %) хроматографически гомогенного белого кристаллического осадка. Хроматографическая чистота соединения ГТС-304LL (метод внутр. нормализации) 98,93 %, время удерживания основного пика 9,802 мин. R_f 0,32 (А), R_f 0,76 (Б), R_f 0,28 (В); Т.пл. 197,8–223,7 °С с разлож.; [α]_D²² – 17,9° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,20 (с, 4Н, 2 С³H₂ спейсер), 1,36 (м, 4Н, 2 С²H₂ спейсер), 1,70 (м, 4Н, 2 С^βH₂ Glt), 2,13–2,23 (м, 8Н, 2 С^αH₂ и 2 С^γH₂ Glt), 2,37–2,60 (м, 8Н, 2 С^βH₂ ¹Asn и 2 С^βH₂ ²Asn), 3,00 (м, 4 Н, 2 С¹H₂ спейсер), 4,42 (м, 4Н, 4 С^αH ¹Asn и ²Asn), 6,86 и 7,30 (два с, 4Н, 2 –C(O)NH₂ ¹Asn), 6,96 и 7,43 (два с, 4Н, 2 –C(O)NH₂ ²Asn), 7,69 (т, 2Н, ³J = 5,5 Гц, –NH(CH₂)₆NH–), 8,13 и 8,17 (два м, 4Н, 2 NH ²Asn, 2 NH ¹Asn), 11,99 (уш с, 2 Н, 2 COOH Glt). Спектр ¹³C -ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 174,72 (2С, 2 CO, COOH Glt), 172,55 (2С, 2 CONH₂ ²Asn), 172,37 (4С, 2 CONH Glt и 2 CONH₂ ²Asn), 171,20 (2С, 2 CONH ¹Asn), 170,92 (2С, 2 CONH ²Asn), 50,43 (4С, 4С^α ¹Asn и ²Asn), 39,16 (2С, 2 С¹ спейсер), 37,53 (2С, 2 С^β ²Asn), 37,09 (2С, 2 С^β ¹Asn), 34,67 (2С, 2 С³ Glt), 33,55 (2С, 2 С¹ Glt), 29,35 (2С, 2 С² спейсер), 26,41 (2С, 2 С³ спейсер), 21,04 (2С, 2 С¹ Glt).

Синтез гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-D-аспарагинил-D-аспарагина), ГТС-304DD

***N*-трет-бутилоксикарбонил-D-аспарагин, Вос-D-Asn-OH (1D).** К раствору 17,04 г (0,1135 моль) моногидрата H-D-Asn-OH в 113 мл 1М NaOH при перемешивании последовательно приливали раствор 5,67 г (0,068 моль) NaHCO₃ в 56,75 мл воды и 113,5 мл изопропилового спирта. Далее при комнатной температуре к реакционной массе порционно прибавляли 35 мл 98 % (0,148 моль, 30 % изб.) ди-трет-бутилпирокарбоната в течение 40 мин и переме-

шивали 20 ч. Реакционную массу упаривали на ротаторном испарителе при температуре 35–40 °C до 1/3 объёма и к остатку приливали 200 мл воды. Непрореагировавший ди-*трет*-бутилпироксикарбонат экстрагировали гексаном (2×100 мл). Водно-щелочной раствор охлаждали до 0 °C и подкисляли 10 % HCl до pH=3–3,5 так, чтобы температура не поднималась выше 0 °C. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали 100 мл холодной воды (+10 °C), изопропиловым спиртом 100 мл (0 °C), гексаном (50 мл), высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl₂. Получали 22,79 г (87 %) **1D** в виде белого кристаллического порошка. *R_f* 0,51 (А), *R_f* 0,84 (Б), *R_f* 0,71 (В); Т.пл. 172,4–173,1 °C; [α]_D²² + 7,5° (с 1; ДМФА), [α]_D²² + 7,0° (с 2; ДМФА). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,37 (с, 9H, -OC(CH₃)₃ Вос), 2,42 и 2,52 (два дд, 2H, ²J = 15,27 Гц, ³J = 5,59 Гц и ³J = 7,36 Гц, C^βH₂ Asn), 4,23 (м, 1H, C^αH Asn), 6,87 (д, 1H, ³J = 8,5 Гц, NH Asn), 6,91 и 7,32 (два с, 2H, -C(O)NH₂ Asn), 12,51 (с, 1H, COOH).

Пентафторфениловый эфир *N*-трет-бутил-оксикарбонил-D-аспарагина, Вос-D-Asn-OPfr (2D). К суспензии 20,0 г (0,0861 моль) Вос-D-Asn-OH в 400 мл этилацетата при комнатной температуре и перемешивании приливали раствор 19,41 г 98 % (19,02 г 100 %, 0,1033 моль, 20 % изб.) пентафторфенола в 75 мл этилацетата. Раствор охлаждали до 10 °C и порционно приливали раствор 21,5 г 99 % (21,33 г 100 %, 0,1033 моль, 20 % изб.) ДЦГК в 100 мл этилацетата, остатки смывали 50 мл этилацетата. Реакционную массу в виде суспензии перемешивали 22 ч при +9–+10 °C, далее прибавляли 1,26 г щавелевой кислоты (на избыток ДЦГК), выдерживали при перемешивании 1 ч. ДЦГМ отфильтровывали, фильтрат упаривали на ротаторном испарителе при температуре 30–35 °C (12 мм рт. ст.). К остатку приливали 75 мл петролейного эфира и оставляли в холодильнике (+4 °C) на 12 ч. Осадок отфильтровывали и промывали петролевым эфиром (150 мл), сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса, одновременно растирая его на фильтре. Получали 31,23 г (91%) **2D** в виде белого кристаллического продукта. *R_f* 0,63 (Г), *R_f* 0,74 (Д), *R_f* 0,67 (Е); Т.пл. 116,5–119,4 °C; [α]_D²³ + 17,7° (с 1; Этилацетат). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃), δ, м.д.: 1,47 (с, 9H, -OC(CH₃)₃ Вос), 2,91 (дд, 1H, ²J = 16,5 Гц, ³J = 4,0 Гц, C^βH₂ Asn), 3,15 (дд, 1H, ²J = 16,5 Гц, ³J = 4,7 Гц, C^βH₂ Asn), 4,91 (м, 1H, C^αH Asn), 5,89 (д, 1H, ³J = 8,6 Гц, NH Asn), 5,74 и 5,95 (два уш с, 2H, -C(O)NH₂ Asn).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутил-оксикарбонил-D-аспарагина), (Вос-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (3D). К раствору 8,78 г (22 ммоль) Вос-D-Asn-OPfr в 235 мл ацетонитрила, при перемешивании приливали раствор 1,1 г 98 % (1,078 г 100 %, 9,27 ммоль) гексаметилендиамина в 30 мл ацетонитрила. Реакционную массу перемешивали

18 ч при комнатной температуре, осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом (2×25 мл), диэтиловым эфиром (3×20 мл). Осадок сушили в вакууме водоструйного насоса одновременно растирая его на фильтре. Далее белый кристаллический осадок переносили в фарфоровую чашу и сушили на воздухе в течение ночи при комнатной температуре. Получали 5 г (выход количественный) хроматографически гомогенного **3D** в виде белого кристаллического порошка. *R_f* 0,95 (Б), *R_f* 0,75 (В), *R_f* 0,28 (Г); Т.пл. 210–219 °C с разлож.; [α]_D^{27,2} + 0,51° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,21 (м, 4H, 2 C³H₂ спейсер), 1,37 (м, 22H, 2 C²H₂ спейсер, 2 –OC(CH₃)₃), 2,36 (м, 4H, 2 C^βH₂ Asn), 3,02 (м, 4H, 2 C¹H₂ спейсер), 4,16 (м, 2H, C^αH Asn), 6,81 (д, 2H, ³J = 8,2 Гц, NH Asn) 6,86 и 7,24 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 7,65 (т, 2H, ³J = 4,7 Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(D-аспарагина), (CF₃COOH*H-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (4D). Раствор 1,50 г (2,75 ммоль) (Вос-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 30 мл смеси хлористого метилена и ТФУ (1:1) перемешивали при комнатной температуре 2,5 ч, затем упаривали, переупаривали с хлористым метиленом (2×15 мл), остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×20 мл) и оставляли под диэтиловым эфиром (20 мл) на 2 ч для формирования осадка. Осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме (9 мм рт. ст.) диафрагменного насоса. Получали 1,43 г (91 %) хроматографически гомогенного **4D** в виде белого кристаллического порошка. *R_f* 0,33 (Б), *R_f* 0,17 (В); Т.пл. 171,1–180,2 °C с разлож.; [α]_D^{24,3} – 3,66° (с 1; Метанол), [α]_D^{22,7} – 1,4° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,26 (м, 4H, 2 C³H₂ спейсер), 1,40 (м, 4H, 2 C²H₂ спейсер), 2,58 и 2,66 (два дд, 4H ²J = 17,0 Гц, ³J = 5,22 и ³J = 7,82 Гц, 2 C^βH₂ Asn), 2,99–3,19 (м, 4 H, 2 C¹H₂ спейсер), 3,98 (уш с, 2H, 2 C^αH Asn), 7,24 и 7,66 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 8,09 (уш с, 6H, 2 N⁺H₃ Asn), 8,34 (т, 2H, ³J = 5,5 Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутил-оксикарбонил-D-аспарагинил-D-аспарагина), (Вос-D-Asn-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (5DD). К раствору 1,24 г (2,17 ммоль) (CF₃COOH*H-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 20 мл диметилформамида приливали 0,84 мл (4,80 ммоль) ДИПЭА и при перемешивании присыпали 1,90 г (4,77 ммоль) Вос-D-Asn-OPfr. Реакционную массу перемешивали 4 ч при комнатной температуре, оставляли на ночь без перемешивания. Диметилформамид упаривали (53 °C), переупаривали с водой (3×20 мл), к остатку приливали 50 мл дистиллированной воды (45 °C) и оставляли до формирования осадка. Осадок отфильтровывали, промывали водой, ацетоном (20 мл), гексаном (20 мл), высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl₂. Получали 1,54 г (92 %) хроматографически гомогенного **5DD** в виде белого порошка. *R_f* 0,75 (А), *R_f* 0,87 (Б), *R_f* 0,47 (В); Т.пл. 223,5–227,4 °C с разлож.; [α]_D¹⁹ + 13,2° (с 1;

ДМСО). Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 1,19 (м, 4H, 2 C^3H_2 спейсер), 1,38 (м, 22H, 2 C^2H_2 спейсер, 2 $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ Вос), 2,35–2,55 (м, 8H, 4 C^βH_2 ^1Asn и ^2Asn), 3,00 (м, 4 H, 2 C^1H_2 спейсер), 4,14–4,20 и 4,38–4,44 (два м, 4H, 2 C^αH ^1Asn и ^2Asn), 6,89 и 7,34, 6,97 и 7,40 (четыре с, 8H, 4 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn и ^2Asn), 7,62 (т, 2H, $^3J = 5,5$ Гц, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$), 7,02 и 8,13 (два д, 4H, $^3J = 7,3$ и $^3J = 7,9$ Гц, 4 NH ^1Asn и ^2Asn).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(D-аспарагинил-D-аспарагина), ($\text{CF}_3\text{COOH} \cdot \text{H-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ (6DD). Раствор 0,675 г (0,873 ммоль) ($\text{Вос-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ в 16 мл смеси хлористого метилена и ТФУ (1:1) перемешивали 2,5 ч, затем реакционную массу упаривали, переупаривали с хлористым метиленом (2×15 мл), остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×15 мл) и оставляли под диэтиловым эфиром (25 мл) на 2 ч для формирования осадка. Осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl_2 . Получали 0,692 г (выход количественный) хроматографически гомогенного **6DD** в виде белого порошка. R_f 0,08 (А), R_f 0,13 (Б); Т.пл. 195–207 °С (с разложением); $[\alpha]_D^{20} + 21,1^\circ$ (с 0,58; Вода); $[\alpha]_D^{20} + 13,3^\circ$ (с 0,92; Вода), $[\alpha]_D^{20} + 16,76^\circ$ (с 0,73; Вода). Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 1,20 (м, 4H, 2 C^3H_2 спейсер), 1,35 (м, 4H, 2 C^2H_2 спейсер), 2,41 и 2,52 (два дд, 4H, $^2J = 15,7$ Гц, $^3J = 8,0$ Гц и $^3J = 5,3$ Гц, 2 C^βH_2 ^2Asn), 2,62 и 2,77 (два дд, 4H, $^2J = 17$ Гц, $^3J = 7,5$ Гц и $^3J = 5,0$ Гц, 2 C^βH_2 ^1Asn), 3,02 (м, 4 H, 2 C^1H_2 спейсер), 4,05 (м, 2H, 2 C^αH ^2Asn), 4,54 (м, 2H, 2 C^αH ^1Asn), 6,91 и 7,37; 7,29 и 7,75 (четыре с, 8H, 4 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn и ^2Asn), 7,84 (т, 2H, $^3J = 5,6$ Гц, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$), 8,15 (уш с, 6H, 2 N^+H_3 ^2Asn), 8,62 (д, 2H, $^3J = 7,7$ Гц, 2 NH ^1Asn).

Гексаметилендиамид бис-(N-моноглутарил-D-аспарагинил-D-аспарагина), ($\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-\text{CO-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ (ГТС-304DD) (7DD). К раствору 0,692 г (0,864 ммоль) ($\text{CF}_3\text{COOH} \cdot \text{H-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ в 30 мл диметилформамида приливали 0,361 мл (2,074 ммоль) ДИПЭА, затем при перемешивании прибавляли 0,237 г (2,074 ммоль) глутарового ангидрида. Реакционную массу перемешивали при комнатной температуре 4 ч, далее оставляли на ночь без перемешивания. К реакционной массе приливали 30 мл ацетонитрила и оставляли на 2 ч при перемешивании, сформировавшийся осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом 3×15 мл, этилацетатом 3×15 мл, дистиллированной водой (35 °С) 3×10 мл, снова ацетонитрилом 10 мл, диэтиловым эфиром 2×15 мл. Высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl_2 . Получали 0,428 г (62 %) хроматографически гомогенного **7DD** в виде белого порошка. Хроматографическая чистота соединения ГТС-304DD (метод внутр. нормализации) 96,67 %, время удерживания основного пика 9,852 мин. R_f 0,35 (А); R_f 0,76 (Б); R_f 0,28 (В); Т.пл. 207,7–227,4 °С с разлож.; $[\alpha]_D^{23,5} + 23,48^\circ$ (с 1; ДМСО). Спектр

^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 1,19 (с, 4H, 2 C^3H_2 спейсер), 1,36 (м, 4H, 2 C^2H_2 спейсер), 1,70 (м, 4H, 2 C^βH_2 Glt), 2,13–2,22 (м, 8H, 2 $\text{C}^\alpha\text{H}_2$ и 2 $\text{C}^\gamma\text{H}_2$ Glt), 2,37–2,59 (м, 16H, 4 C^βH_2 ^1Asn и ^2Asn), 3,00 (м, 4 H, 2 C^1H_2 спейсер), 4,38–4,49 (м, 4H, 4 C^αH ^1Asn и ^2Asn), 6,87 и 7,32; 6,98 и 7,44 (четыре с, 8H, 4 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn и ^2Asn), 7,69 (т, 2H, $^3J = 5,3$ Гц, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$), 8,14 (д, 2H, $^3J = 7,9$ Гц, 2 NH ^2Asn), 8,18 (д, 2H, $^3J = 7,0$ Гц, 2 NH ^1Asn), 12,01 (уш с, 2 H, 2 COOH Glt). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 174,79 (2C, 2 COOH Glt), 172,57 (2C, 2 CONH_2 ^2Asn), 172,34 (4C, 2 CONH Glt и 2 CONH_2 ^2Asn), 171,21 (2C, 2 CONH ^1Asn), 170,92 (2C, 2 CONH ^2Asn), 50,44 (4C, 4 C^α ^1Asn и ^2Asn), 39,20 (2C, 2 C^1 спейсер), 37,51 (2C, 2 C^β ^2Asn), 37,07 (2C, 2 C^β ^1Asn), 34,64 (2C, 2 C^3 Glt), 33,62 (2C, 2 C^1 Glt), 29,32 (2C, 2 C^2 спейсер), 26,40 (2C, 2 C^3 спейсер), 21,03 (2C, 2 C^1 Glt).

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Конструирование миметика

Дизайн миметика был основан на кристаллической структуре нейротрофина-3, представленной в кристаллической форме (PDB ID: 1NT3) [20]. Как и другие нейротрофины, NT-3 является симметричным гомодимером; каждый мономер содержит восемь β -тяжей, формирующих четыре антипараллельных β -листа. Эти тяжи соединены четырьмя петлями, обозначаемыми номерами 1-я (остатки 29–33), 2-я (42–47), 3-я (58–75) и 4-я (91–97).

Для дизайна миметика был выбран наиболее экспонированный и предположительно вовлечённый во взаимодействие с рецептором участок нейротрофина — β -изгиб четвёртой петли NT-3 с последовательностью $-\text{Glu}^{92}-\text{Asn}^{93}-\text{Asn}^{94}-\text{Lys}^{95}-$. При конструировании миметика сохранили его центральный дипептидный фрагмент $-\text{Asn}^{93}-\text{Asn}^{94}-$, а предшествующий $-\text{Glu}^{92}-$ ($-\text{NH}-\text{CH}(-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH})-\text{CO}-$) был заменён на его биоизомер — остаток моноглутаровой кислоты ($\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-\text{CO}-$). Димеризация сконструированного N-ацилдипептида N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина осуществлялась по C-концу с помощью гексаметилендиаминового спейсера. Таким образом был получен (рис. 2) димерный дипептидный миметик 4-ой петли NT-3 — гексаметилендиамид бис-(N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), получивший рабочий шифр ГТС-304.

Синтез ГТС-304LL и ГТС-304DD

Пептид ГТС-304LL и его энантиомер ГТС-304DD синтезировали методами классического пептидного синтеза в растворе, исходя из коммерчески доступных энантиомерно чистых H-L-Asn-OH и H-D-Asn-OH. Пептидную цепь наращивали с C-конца с использованием Вос-стратегии защитных групп и метода активированных пентафторфеноловых

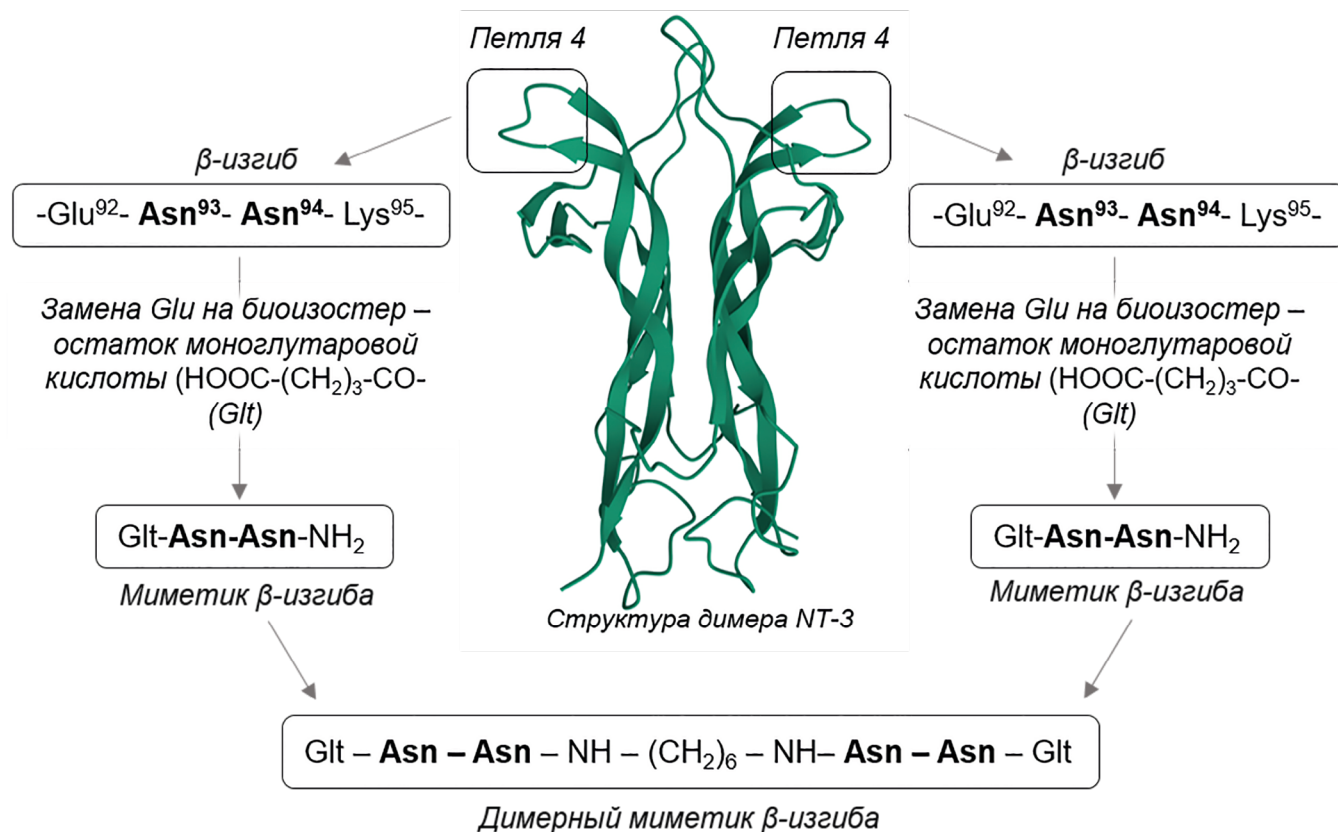


Рис. 2. Конструирование димерного дипептидного миметика 4-й петли NT-3 — гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-304LL).

Fig. 2. Designing of a dimeric dipeptide mimetic of the NT-3 loop 4— bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) hexamethylenediamide (GTS-304LL).

эфиров по общей схеме, представленной на рис. 3. Строение промежуточных и конечных соединений подтверждено методами одномерной ¹H, ¹³C и двумерной (COSY — гомоядерная корреляция, HSQC — гетероядерная одноквантовая корреляция) ЯМР-спектроскопии. Отнесение сигналов карбонильных атомов углерода амидных групп проводили с помощью HMBC (гетероядерной многосвязной корреляции).

Вос-защищённые-аспарагины (1L и 1D) получали из моногидратов L- и D-аспарагина (H₂O·H-Asn-OH) при комнатной температуре по методу Позднева В.Ф. [21] с выходом целевых продуктов 94 % и 87 % соответственно. Активированные пентафторфениловые эфиры Вос-аспарагинов (2L и 2D) синтезировали с использованием пентафторфенола в присутствии ДЦГК в этилацетате при температуре 9–10 °C с выходом 90 % и 91 % соответственно. Конденсация активированных эфиров (2L и 2D) с гексаметилендиамин в ацетонитриле при комнатной температуре приводила к образованию бис-пептидов (3L и 3D) с количественным выходом, которые далее подвергали ацидолизу в смеси трифторуксусной кислоты и хлористого метилена (1:1), получая дитрифторацетаты (4L и 4D). Подтвержде-

нием удаления Вос-группы в ¹H ЯМР-спектре служило исчезновение синглета Вос-группы в области 1,36 м.д. и появление уширенного синглета NH₃⁺ в области 8,09 м.д. с интегральной интенсивностью равной трём протонам.

Растворы соответствующих дитрифторацетатов (4L и 4D) в присутствии диизопропилэтиламина (ДИПЭА) в диметилформамиде порционно прибавляли к растворам активированных эфиров аспарагина (2L и 2D) в ацетонитриле, получая таким образом бис-дипептиды 5LL и 5DD с выходом 87 % и 92 %. Дальнейший кислотный ацидолиз соединений (5LL и 5DD) с последующим ацилированием глутаровым ангидридом в диметилформамиде в присутствии ДИПЭА приводил к целевым дипептидным миметикам ГТС-304LL и ГТС-304DD с выходом 62 %, и общим выходом семистадийного синтеза 38 % и 37 % соответственно в расчёте на незащищённый аспарагин.

Хроматографическая чистота, по данным ОФ ВЭЖХ, соединения ГТС-304LL (метод внутр. нормализации) составила 98,93 %, время удерживания основного пика 9,802 мин, а соединения ГТС-304DD (метод внутр. нормализации) — 96,67 %, время удерживания основного пика 9,852 мин.

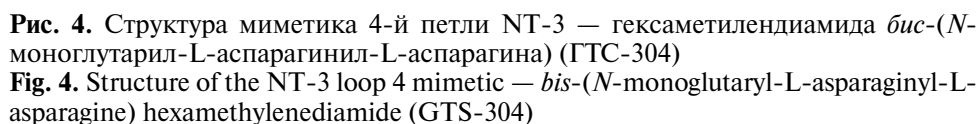
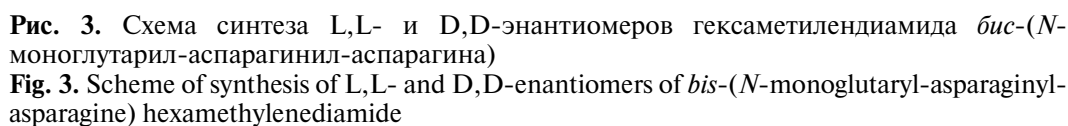


Таблица 2

Данные спектров ^1H -ЯМР для GTC-304LL и GTC-304DD

Table 2

^1H -NMR spectral data for GTS-304LL and GTS-304DD

Группы	Количество протонов	Химические сдвиги, δ , м.д.	
		GTC-304LL	GTC-304DD
2 C^3H_2 спейсер	4H	1,20 с	1,19 с
2 C^2H_2 спейсер	4H	1,36 м	1,36 м
2 C^2H_2 Glt**	4H	1,70 м	1,70 м
2 C^1H_2 Glt и 2 C^3H_2 Glt	8H	2,13-2,23 м	2,13-2,22 м
2 C^βH_2 ^1Asn и 2 C^βH_2 ^2Asn	8H	2,37-2,60 м	2,37-2,59 м
2 C^1H_2 спейсер	4H	3,00 м	3,00 м
4 C^αH ^1Asn и ^2Asn	4H	4,42 м	4,38-4,49 м
2 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn	4H	6,86 с и 7,30 с	6,87 с и 7,32 с
2 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^2Asn	4H	6,96 с и 7,43 с	6,98 с и 7,44 с
$\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$	2H	7,69 т	7,69 т
2NH^α ^2Asn , 2NH^α ^1Asn	4H	8,13 м и 8,17 м	8,14 м и 8,18 м
COOH Glt	2H	11,99 уш.с	12,01 уш.с
Всего протонов	52H		

Примечания: * — растворитель — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — остаток моноглутаровой кислоты.
Notes: * — solvent — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — monoglutaric acid residue.

В связи с симметрией молекулы, количество сигналов в спектрах вдвое меньше количества протонов и углеродов в соединении. Химические сдвиги сигналов в спектрах ^1H , ^{13}C для LL- и DD-энантиомеров идентичны (табл. 2 и 3). Об энантиомерной чистоте синтезированных стереоизомеров судили по значению удельного угла оптического вращения ($[\alpha]_D$) (табл. 4).

В спектре ^1H -ЯМР сигналы протонов расположены в характерной для них области химических сдвигов. Сигналы протонов C^αH ^1Asn и C^αH ^2Asn (4,42 м.д.) практически совпадают по химическому сдвигу, что наблюдается также для сигналов от групп C^βH_2 (м 2,37–2,60 м.д.) и NH^α (м 8,13–8,17 м.д.). Поэтому наличие обоих аминокислотных остатков в структуре подтверждается удвоенной интегральной интенсивностью сигналов этих групп, а также присутствием 2 пар сигналов амидных протонов $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn (4H) и $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^2Asn (4H) в области слабого поля.

Спектр ^{13}C подтверждает наличие всех атомов углерода в структуре. Обнаруживаются 4 сигнала от 5 карбонильных атомов амидных групп, 1 атом углерода карбоксильной группы. Сигналы углеродов от 2 метиновых (2C^α — ^1Asn и ^2Asn) и 8 сигналов метиленовых групп (2C^β — ^1Asn и ^2Asn ; C^1 , C^2 , C^3 — остатка моноглутарила и C^1 , C^2 , C^3 — спейсера) были отнесены с помощью DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) — эксперимента, который позволяет различить сигналы четвертичных, метиновых, метиленовых и метильных

Таблица 3

Данные спектров ^{13}C -ЯМР для GTC-304LL и GTC-304DD

Table 3

^{13}C -NMR spectral data for GTS-304LL and GTS-304DD

Группы	Количество атомов углерода	Химические сдвиги*, δ , м.д.	
		GTC-304LL	GTC-304DD
C^2 Glt**	2C	21,04	21,03
C^3 спейсер	2C	26,41	26,40
C^2 спейсер	2C	29,35	29,32
C^1 Glt	2C	33,55	33,62
C^3 Glt	2C	34,67	34,64
C^β ^2Asn	2C	37,09	37,07
C^β ^1Asn	2C	37,53	37,51
C^1 спейсер	2C	39,16	39,20
C^α ^2Asn	2C	50,43	50,44
C^α ^1Asn	2C		
CONH ^2Asn	2C	170,92	170,92
CONH ^1Asn	2C	171,20	171,21
CONH_2 ^2Asn	2C	172,37	172,34
CONH_2 ^1Asn	2C		
CONH Glt	2C	172,55	172,57
COOH Glt	2C	174,72	174,79
Всего атомов углерода	32C		

Примечания: * — растворитель — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — остаток моноглутаровой кислоты.
Notes: * — solvent — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — monoglutaric acid residue.

Таблица 4

Физико-химические характеристики ГТС-304LL и ГТС-304DD

Table 4

Physicochemical characteristics of GTS-304LL and GTS-304DD

Соединение		Температура плавления, °C	Удельный угол оптического вращения, $[\alpha]_D$	Хроматографическая подвижность (Rf) в системах ТСХ			Чистота (метод ВЭЖХ), %
Структура	Шифр			Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода (15:10:2:3)	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода (8:10:2:3)	Бутанол–Уксусная кислота–Вода (3:1:1)	
(Glt-L-Asn-L-Asn-NH-) ₂ (CH ₂) ₆	ГТС-304LL	210,7-242,6 [#]	$[\alpha]_D^{18} -22,0^\circ$ (c = 1, DMSO)	0,35	0,76	0,28	98,93
(Glt-D-Asn-D-Asn-NH-) ₂ (CH ₂) ₆	ГТС-304DD	207,7-227,4 [#]	$[\alpha]_D^{24} +23,5^\circ$ (c = 1, DMSO)	0,35	0,76	0,28	96,67

Примечания: [#] — плавление соединения с разложением; Glt — остаток моноглутаровой кислоты.
Notes: [#] — melting of the compound with decomposition; Glt — monoglutaric acid residue.

атомов углерода в спектре ¹³C, а также на основании анализа двумерного гетероядерного спектра ¹H - ¹³C (HSQC-Heteronuclear Single Quantum Coherence). Структурная формула синтезированного соединения ГТС-304 представлена на рис. 4.

Ограничения исследования / Study limitations

Биологическая активность полученных соединений в настоящей работе не изучалась.

Заключение / Conclusion

Новый потенциальный димерный дипептидный миметик 4-й петли NT-3 гексаметилендиамид бис-(N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-304LL) и его D,D-энантиомер были получены классическими методами пептидного синтеза в растворе с использованием Вос-стратегии защитных групп и активированных пентафторфениловых эфиров для образования пептидной связи с общим выходом 37–38 % и хроматографической чистотой (ВЭЖХ) 97–99 %.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

ADDITIONAL INFORMATION

Конфликт интересов

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Conflict of interests

The authors of this article have confirmed that they have no conflicts of interest to disclose.

Участие авторов

Сазонова Н. М. — синтез соединений, выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов, написание текста; Филиппова М. Ю. — синтез соединений, выполнение экспериментальной работы, написание текста; Мельникова М. В. — синтез соединений, выполнение экспериментальной работы; Ребеко А. Г. — анализ и интерпретация результатов ЯМР; Кузнецов Д. Н. — анализ и интерпретация результатов ВЭЖХ; Поварнина П. Ю. — обсуждение результатов, написание текста; Гудашева Т. А. — постановка задачи, координация работы исследователей, редактирование текста.

Authors' participation

Sazonova NM — synthesis of compounds, performing experimental work, analysis and interpretation of results, writing of the text; Filippova MYu — synthesis of compounds, performing experimental work, writing of the text; Melnikova MV — synthesis of compounds, performing experimental work; Rebeke AG — analysis and interpretation of NMR results; Kuznetsov DN — analysis and interpretation of HPLC results; Povarnina PYu — discussion of results, writing of the text; Gudasheva TA — task setting, coordination of researchers' work, and text editing.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FGFG-2025-0008).

Funding

This work was conducted under the government contract of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (FGFG-2025-0008).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Сазонова Нелля Михайловна — к. х. н., в. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: sazonova_nm@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-7419>

РИНЦ SPIN-код: 8835-7887

Филиппова Мария Юрьевна — ведущий инженер лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: filippova_myu@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-0929-2358>

Мельникова Марина Валерьевна — м. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: melnikova_mv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0009-1144-1200>

Ребеко Алексей Геннадьевич — н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: rebeko_ag@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-1868-8667>

РИНЦ SPIN-код: 1049-3528

Nellya M. Sazonova — PhD, Cand. Sci. (Chemical), leading research scientist of laboratory of peptide bioregulators of the medicinal chemistry department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: sazonova_nm@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-7419>

RSCI SPIN code: 8835-7887

Maria Yu. Filippova — Lead Engineer of Laboratory of Peptide Bioregulators of Medicinal Chemistry Department, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: filippova_myu@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-0929-2358>

Marina V. Melnikova — Junior Researcher of Laboratory of Peptide Bioregulators of Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: melnikova_mv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0009-1144-1200>

Alexey G. Rebeko — Research Scientist of the Fine Organic Synthesis Laboratory of the Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: rebeko_ag@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-1868-8667>

RSCI SPIN code: 1049-3528

Кузнецов Дмитрий Николаевич — к. х. н., с. н. с. лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: kuznecov_dn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0056-4303>
РИНЦ SPIN-код: 6154-6935

Поварнина Полина Юрьевна — к. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейropsychopharmacology ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: povarnina-pyu@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
РИНЦ SPIN-код: 5498-6724

Гудашева Татьяна Александровна — д. б. н., профессор, член-корреспондент РАН, гл. н. с., заведующий лабораторией пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: gudasheva_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
РИНЦ SPIN-код: 4970-0006

Dmitry N. Kuznetsov — PhD, Cand. Sci. (Chemical), Senior Research Scientist of the Laboratory of Standardization and Quality Control of Medicines of the Department of Quality and Technology of Medicines Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: kuznecov_dn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0056-4303>
RSCI SPIN code: 6154-6935

Polina Yu. Povarnina — PhD, Cand. Sci. (Biol.), Leading Research Scientist of the Laboratory of Pharmacology of Mental Diseases of Department of Neuropsychopharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: povarnina-pyu@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
RSCI SPIN code: 5498-6724

Tatiana A. Gudasheva — PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor, RAS Corresponding Member, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: gudasheva_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
RSCI SPIN code: 4970-0006

Список литературы / References

- Skaper SD. Neurotrophic Factors: An Overview. *Methods Mol Biol.* 2018;1727:1-17. doi: 10.1007/978-1-4939-7571-6_1.
- Castrén E. Neurotrophins and psychiatric disorders. *Handb Exp Pharmacol.* 2014;220:461-79. doi: 10.1007/978-3-642-45106-5_17.
- Фурса Г.А., Андреева С.С., Шишкина В.С. и др. Применение нейротрофических факторов как перспективная стратегия терапии нейродегенеративных заболеваний (обзор). *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2024;(2)71-83. [Fursa GA, Andretsova SS, Shishkina VS, et al. The use of neurotrophic factors as a promising strategy for the treatment of neurodegenerative diseases (review). *Bull Exp Biol Med.* 2024;177(4):517-527. (In Russ.).] doi: 10.47056/1814-3490-2024-2-71-83. EDN: OVCSWN
- Panvino F, Paparella R, Tarani F, et al. Neurotrophins in Neurodevelopmental Disorders: A Narrative Review of the Literature. *Int J Mol Sci.* 2025 Aug 28;26(17):8335. doi: 10.3390/ijms26178335. EDN: MZVYBF
- Obata K, Noguchi K. MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity. *Life Sci.* 2004 Apr 9;74(21):2643-53. doi: 10.1016/j.lfs.2004.01.007.
- Forsell P, Parrado Fernández C, Nilsson B, et al. Positive Allosteric Modulators of Trk Receptors for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals (Basel).* 2024 Jul 28;17(8):997. doi: 10.3390/ph17080997. EDN: KEHXTU
- Thompson TS, Sefiani A, Burgess K. Small-Molecule Trk Agonists: Where Do We Go from Here? *J Med Chem.* 2025 Aug 14;68(15):15233-15259. doi: 10.1021/acs.jmedchem.4c02365. EDN: GCGKEU
- Gudasheva TA, Povarnina PY, Tarasiuk AV, Seredenin SB. Low-molecular mimetics of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor: Design and pharmacological properties. *Med Res Rev.* 2021 Sep;41(5):2746-2774. doi: 10.1002/med.21721. EDN: IMKWFA
- Pattarawarapan M, Zaccaro MC, Saragovi UH, Burgess K. New templates for syntheses of ring-fused, C(10) beta-turn peptidomimetics leading to the first reported small-molecule mimic of neurotrophin-3. *J Med Chem.* 2002 Sep 26;45(20):4387-90. doi: 10.1021/jm0255421
- Zaccaro MC, Lee HB, Pattarawarapan M, et al. Selective small molecule peptidomimetic ligands of TrkC and TrkA receptors afford discrete or complete neurotrophic activities. *Chem Biol.* 2005 Sep;12(9):1015-28. doi: 10.1016/j.chembiol.2005.06.015.
- Chen D, Brahimi F, Angell Y, et al. Bivalent peptidomimetic ligands of TrkC are biased agonists and selectively induce neurite outgrowth or potentiate neurotrophin-3 trophic signals. *ACS Chem Biol.* 2009 Sep 18;4(9):769-81. doi: 10.1021/cb9001415.
- Wan G, Gómez-Casati ME, Gigliello AR, et al. Neurotrophin-3 regulates ribbon synapse density in the cochlea and induces synapse regeneration after acoustic trauma. *ELife.* 2014 Oct 20;3:e03564. doi: 10.7554/eLife.03564.
- Naletova I, Grasso GI, Satriano C, et al. Copper complexes of synthetic peptides mimicking neurotrophin-3 enhance neurite outgrowth and CREB

phosphorylation. *Metallomics*. 2019 Sep 1;11(9):1567-1578. doi: 10.1039/c9mt00045c.

14. Gudasheva TA, Ostrovskaya RU, Seredenin SB. Novel Technologies for Dipeptide Drugs Design and their Implantation. *Curr Pharm Des*. 2018;24(26):3020-3027. doi: 10.2174/1381612824666181008105641. EDN: ZZYZKH

15. Gudasheva T, Povarnina P, Dorofeev V. Dimeric dipeptide mimetics of neurotrophins as molecular tools and potential neuroprotective drugs. *Explor Drug Sci*. 2025;3:1008100. doi: 10.37349/eds.2025.1008100.

16. Гудашева Т.А., Сазонова Н.М., Тарасюк А.В. и др. Первый дипептидный миметик нейротрофина-3: дизайн и фармакологические свойства. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2022;505:303-309. [Gudasheva TA, Sazonova NM, Tarasiuk AV, et al. The first dipeptide mimetic of neurotrophin-3: design and pharmacological properties. *Dokl Biochem Biophys*. 2022;505:303-309. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S2686738922040059. EDN: HYVEYB

17. Keller O, Keller WE, Van Look G, Wersin G. tert-Butoxycarbonylation of Amino Acids and their Derivatives: N-tert-Butoxycarbonyl-L-phenylalanine. *Organic Syntheses*. 2003;160. doi: 10.1002/0471264180.os063.19.

18. Munegumi T, Akao K, Kawatu Y, et al. Heating reactions of N-T-Butyloxycarbonyl-Asparagine and related compounds. *Asian Journal of Chemistry*. 2014;26(19):6541-6548. doi: 10.14233/ajchem.2014.16493.

19. Kisfaludy L, Löw M, Nyéki O, et al. Die Verwendung von Pentafluorphenylestern bei Peptidsynthesen. *Justus Liebig S Annalen Der Chemie*. 1973;1973(9):1421-1429. doi: 10.1002/jlac.197319730902.

20. Butte MJ, Hwang PK, Mobley WC, Fletterick RJ. Crystal structure of neurotrophin-3 homodimer shows distinct regions are used to bind its receptors. *Biochemistry*. 1998 Dec 1;37(48):16846-52. doi: 10.1021/bi981254o.

21. Позднев В.Ф. Применение Ди-трет-бутилпирокарбоната для получения N-трет-бутилоксикарбонильных производных аминокислот. *Химия природных соединений*. 1974;6:764-767. [Pozdnev VF. Primenenie Di-tret-butilpirokarbonata dlya polucheniya N-tret-butiloksikarbonil'nyh proizvodnyh aminokislot. *Himiya prirodnyh soedinenij*. 1974;6:764-767. (In Russ.)].

УДК: 616.896
DOI: 10.37489/2587-7836-2026-2-59-66
EDN: PHUQGL

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH



Коррекция поведенческих нарушений фабомотизолом при постнатальной пропионовой модели расстройств аутистического спектра у крыс

Бояркин В. С., Капица И. Г., Воронина Т. А.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Постнатальное введение пропионовой кислоты (ППК) крысам в период активного созревания нейронных сетей моделирует устойчивые поведенческие нарушения, характерные для расстройств аутистического спектра (РАС). Фабомотизол, обладающий мультифакторным механизмом действия (активация сигма-1 рецептора, модуляция ГАМК- и глутаматергической передачи), может оказывать корригирующее влияние на данные нарушения.

Цель работы. Изучить влияние фабомотизола на поведенческие нарушения у крыс линии Вистар с моделью РАС, индуцированной постнатальным введением ППК.

Методы. Моделирование РАС проводили самцам крыс Вистар путём подкожных инъекций ППК в дозе 500 мг/кг на 21–25-й постнатальные дни (P21–P25). Фабомотизол (10 мг/кг) вводили перорально ежедневно с P26 до окончания эксперимента. В период P52–P85 оценивали социальное поведение («Парный тест»), стереотипию («Автогруминг»), тревожность («Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт»), ориентировочно-исследовательскую активность («Норковый тест»), когнитивные функции («У-лабиринт») и реакцию на аверсивный запах.

Результаты. Постнатальное введение ППК вызывало стойкие нарушения: дефицит социального взаимодействия (снижение коммуникативных актов в 4,3 раза, повышение агрессии в 26 раз), стереотипию (увеличение длительности груминга в 6,4 раза), тревожность (снижение времени в открытых рукавах лабиринта в 4,4 раза), когнитивный дефицит (снижение эффективности патрулирования У-лабиринта в 2,2 раза) и нарушение видового поведения. Фабомотизол корректировал вызванные нарушения: нормализовал социальное поведение (увеличение коммуникативных актов в 4,6 раза, снижение агрессии в 10,5 раза), уменьшал стереотипию (сокращение длительности груминга в 5,5 раза), оказывал анксиолитическое действие (увеличение времени нахождения в открытых рукавах в 8,5 раза) и улучшал когнитивные функции (повышение эффективности патрулирования в 2,7 раза).

Заключение. Фабомотизол в дозе 10 мг/кг при длительном пероральном введении ослабляет основные поведенческие нарушения у крыс с постнатальной ППК-моделью РАС, что подтверждает его терапевтический потенциал при устойчивых симптомах аутистического спектра.

Ключевые слова: расстройство аутистического спектра; РАС; пропионовая кислота; фабомотизол; поведенческие нарушения; крысы Вистар

Для цитирования:

Бояркин В. С., Капица И. Г., Воронина Т. А. Коррекция поведенческих нарушений фабомотизолом при постнатальной пропионовой модели расстройств аутистического спектра у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):59–66. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-59-66>. EDN: PHUQGL

Поступила: 02.04.2026. В доработанном виде: 03.05.2026. Принята к печати: 17.06.2026. Опубликовано: 30.06.2026.

Fabomotizole corrects behavioral impairments in a postnatal propionic acid model of autism spectrum disorders in rats

Valentin S. Boyarkin, Inga G. Kapitsa, Tatiana A. Voronina

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Background. Postnatal administration of propionic acid (PPA) to rats during the period of active neural network maturation models persistent behavioral disorders characteristic of autism spectrum disorders (ASD). Fabomotizole, which has a multifactorial mechanism of action (sigma-1 receptor activation, modulation of GABAergic and glutamatergic transmission), may have a corrective effect on these disorders.

Objective. To study the effect of fabomotizole on behavioral disorders in Wistar rats with an ASD model induced by postnatal PPA administration.

Methods. ASD was modeled in male Wistar rats by subcutaneous injections of PPA at a dose of 500 mg/kg on postnatal days 21–25 (P21–P25). Fabomotizole (10 mg/kg) was administered orally daily from P26 until the end of the experiment. Between P52 and P85, social behavior (Pair Test), stereotypy (Autogrooming), anxiety (Open Field Test, Elevated Plus Maze), exploratory activity (Hole Board Test), cognitive functions (Y-maze), and response to aversive odor were assessed.

Results. Postnatal PPA administration caused persistent impairments: social deficit (4.3-fold decrease in communicative acts, 26-fold increase in aggression), stereotypy (6.4-fold increase in grooming duration), anxiety (4.4-fold decrease in time spent in open arms), cognitive deficit (2.2-fold decrease in Y-maze patrolling efficiency), and disrupted species-specific behavior. Fabomotizole corrected the PPA-induced impairments: normalized social behavior (4.6-fold increase in communicative acts, 10.5-fold decrease in aggression), reduced stereotypy (5.5-fold decrease in grooming duration), exerted an anxiolytic effect (8.5-fold increase in time spent in open arms), and improved cognitive functions (2.7-fold increase in patrolling efficiency).

Conclusion. Fabomotizole at a dose of 10 mg/kg with long-term oral administration attenuates the main behavioral disorders in rats with the postnatal PPA-induced ASD model, confirming its therapeutic potential against persistent symptoms of autism spectrum disorder.

Keywords: autism spectrum disorder; ASD; propionic acid; fabomotizole; behavioral impairments; Wistar rats

For citations:

Boyarkin VS, Kapitsa IG, Voronina TA. Fabomotizole corrects behavioral impairments in a postnatal propionic acid model of autism spectrum disorders in rats. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):59–66. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-59-66>. EDN: PHUQGL

Received: 02.04.2026. Revision received: 03.05.2026. Accepted: 17.06.2026. Published: 30.06.2026.

Введение / Introduction

Среди экспериментальных моделей расстройства аутистического спектра (РАС) значительное место занимает модель, индуцированная пропионовой кислотой (ППК) — бактериальным метаболитом, избыток которого ассоциирован с симптомами РАС у человека [1]. В настоящее время в доклинических исследованиях используются два протокола эксперимента: пренатальное и постнатальное введение ППК, что моделирует различные проявления РАС.

Пренатальное введение ППК в критические периоды эмбриогенеза используется для моделирования нарушений нейроразвития. В эти периоды ППК нарушает процессы нейрогенеза, миграции нейронов, синаптогенеза и формирования иммунной системы, что приводит к развитию стойких структурных и функциональных аномалий мозга, аналогичных таковым при идиопатическом аутизме [2, 3]. В наших предыдущих исследованиях [4] на модели РАС, индуцированной пренатальным введением ППК крысам на 12,5-й день гестации, было показано изменение показателей физического развития потомства в перинатальном периоде, а также стойкое нарушение социального поведения, повышение тревожности и когнитивный дефицит в пубертатный и взрослый периоды.

Постнатальное введение ППК приходится на период, когда основные структуры мозга крыс уже сформированы, но активно протекают процессы синаптического прунинга, миелинизации и созревания нейронных сетей, особенно в лимбической системе и коре [5, 6]. Воздействие ППК в этот период приводит к системному сдвигу метаболических и нейровоспалительных процессов, развитию окислительного стресса, митохондриальной дисфункции, что сопровождается нарушениями социального, эмоционального, когнитивного, моторного статуса, характерного для РАС [7].

Ранее в исследованиях на модели РАС, индуцированной пренатальным введением ППК, было установлено, что длительное курсовое введение фабомотизола способствует частичной коррекции вызванных нарушений, и данный эффект наблюдается как в пубертатный период, так и у взрослых животных [8]. Выбор модели с постнатальным введением ППК позволяет сфокусироваться на оценке потенциальных терапевтических эффектов фабомотизола на устойчивые поведенческие нарушения, опосредованные нейровоспалением и дисфункцией нейрональных сетей, что представляет отдельную и актуальную задачу.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния фабомотизола на поведенческие нарушения у крыс линии Вистар с моделью РАС индуцированной постнатальным введением ППК.

Материалы и методы / Materials and methods

Исследование проведено на крысах линии Вистар, родительское поколение которых было получено из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России». Крыс содержали в стандартных условиях вивария ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными» при регулируемом световом режиме 12 ч/12 ч (свет/темнота) и постоянной температуре (21–23 °С) со свободным доступом к воде и гранулированному корму в полипропиленовых клетках с решёткой из цинкохромовой стали, с обеспыленной подстилкой из деревянной стружки. Проведение экспериментов осуществлялось согласно рекомендациям «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» (ПРИЛОЖЕНИЕ к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 05 марта 2024 года № 5) и было одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Распределение потомства крыс по экспериментальным группам (контроль, ППК, ППК+фабомотизол) проводили с использованием метода рандомизации, которая была выполнена на этапе распределения животных из разных помётов. Ввиду особенностей экспериментального дизайна (длительное пероральное введение препарата) ослепление исследователя при оценке поведения не применялось. Для минимизации субъективной составляющей тесты регистрировали с помощью видеозаписи, а оценку поведенческих реакций проводили на основе объективных количественных критериев.

Моделирование РАС проводили у самцов крыс линии Вистар, которым с 21-го по 25-й день жизни (P21–P25) подкожно вводили ППК в дозе 500 мг/кг [9]. Контрольной группе крыс вводили эквивалентный объём фосфатно-солевого буфера (PBS, 0,01M). Фабомотизол в дозе 10 мг/кг (субстанция, серия 0804001p) или дистиллированную воду вводили крысам перорально, начиная с 26-го постнатального дня и до завершения эксперимента.

Поведенческое тестирование крыс с моделью РАС проводили с P52 по P85.

Оценку социального поведения проводили на P52 в условиях «Парного теста» [7]. Двух незнакомых крыс из одной группы помещали на прямоугольную арену (75×41×30 см) и в течение 10 мин регистрировали коммуникативное (подходы, обнюхивание, аллогрумминг)

и агрессивное поведение (преследование, покусывание, оборонительная стойка, поза доминирования).

Изучение уровня стереотипии проводили на Р60 в тесте «Автогруминг» [10]. Крысу помещали в центр чистой «домашней» клетки и в течение 10 минут фиксировали число и продолжительность эпизодов груминга.

Оценку двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, а также тревожности, проводили на Р63 в установке «Открытое поле» (TS0501-R, ООО «НПК «Открытая Наука», Россия), представляющей собой круглую арену диаметром 90 см с бортиками высотой 38 см, пол которой для удобства регистрации перемещений разделён на сектора — периферические, срединные и центральный, и содержит 13 отверстий диаметром 4 см. Животное помещали в один из периферийных секторов установки и в течение 3 минут регистрировали число перемещений, вертикальных стоек, заглядываний в отверстия [11].

Оценку тревожности и стереотипии (по показателю «груминг») проводили на Р73 в установке приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ), состоящей из двух открытых и двух закрытых рукавов, соединённых центральной площадкой (TS0502-M3, ООО «НПК Открытая Наука», Россия). Крыс помещали в центр лабиринта и в течение 5 минут регистрировали время нахождения в его рукавах, количество заходов в них, длительность эпизодов груминга.

Ориентировочно-исследовательскую активность и тревожность крыс оценивали в «Норковом тесте» [12], установка для которого представляет собой квадратную камеру (50×50×35 см) с полом, разделённым на 13 квадратов и имеющим 13 отверстий (норок) диаметром 3 см, расположенных на периферии и в центре установки. Животное на Р76 помещали в один из углов установки и в течение 8 минут отмечали число посещённых квадратов, вертикальных стоек и заглядываний в отверстия.

Оценку исследовательской активности и рабочей (кратковременной) памяти у крыс с моделью РАС проводили на Р83 в тесте «У-лабиринт» [13]. Установка (TS1301-R, ООО «НПК Открытая Наука», Россия) представляет собой три непрозрачных рукава (40×8×15 см), расположенных под углом 120° друг к другу, обозначенных как А, Б и С и соединённых в центре. Крысу помещали в центр лабиринта и в течение 5 минут регистрировали общее количество заходов (визитов) в рукава и последовательность их посещения. На основе последовательности выделяли триплеты — три последовательных посещения трёх разных рукавов (например, АБС, САБ, БСА, БАС, СБА, АСБ). Эффективность патрулирования (ЭфП, %), отражающую функцию рабочей памяти, рассчитывали по формуле:

$$\text{ЭфП} = (\text{NTr} / (\text{Nобщ} - 2)) \times 100,$$

где NTr — число триплетов; Nобщ — общее число визитов в рукава.

Оценку видового поведения на основе сенсорно-эмоционального ответа в условиях предъявления негативного стимула проводили на Р85 в установке «У-лабиринт» [14]. В один из трёх рукавов лабиринта («опасный», С) помещали чашку Петри с фильтровальной бумагой, смоченной 0,1 мл 1 % раствора мочи лисы, тогда как рукава А и Б оставляли пустыми. В течение 5 минут регистрировали число заходов в каждый рукав, длительность пребывания в нём и количество подходов к источнику запаха.

Размер выборки ($n = 10-13$ на группу) был определён на основе стандартных параметров, используемых в аналогичных исследованиях на моделях РАС, и соответствует критерию достаточности ($E = 27 > 20$), что позволяет обеспечить статистическую мощность для выявления ожидаемых различий.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «GraphPad Prism 11.0.0» для Windows (GraphPad, США). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. Для данных, распределение которых не соответствовало нормальному (критерий Шапиро–Уилка, $p < 0,05$) или наблюдалась гетерогенность дисперсий (критерий Левена, $p < 0,05$), применяли непараметрический критерий Краскела–Уоллиса. Апостериорные множественные сравнения проводили с помощью критерия Данна с поправкой Бонферрони. Для дальнейшей статистической обработки использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с коррекцией на множественные сравнения по Бонферрони. Результаты представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего (Mean $\pm$ SEM). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты / Results

Постнатальное введение ППК самцам крыс Вистар вызывало нарушения социального поведения в «Парном тесте»: коммуникативная активность (число взаимных контактов, обнюхиваний, совместной активности) снижалась в 4,3 раза ($p < 0,001$), а число агрессивных проявлений возрастало в 26 раз ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Фабомотизол нивелировал отмеченные нарушения у крыс с моделью РАС (рис. 1).

В тесте «Автогруминг» у крыс с моделью РАС, вызванным постнатальным введением пропионовой кислоты, отмечалось усиление стереотипного поведения, что выразилось в увеличении в 3,8 раза ($p < 0,001$) числа эпизодов груминга и в 6,4 раза ($p < 0,001$) его длительности относительно контрольных значений (рис. 2).

Фабомотизол способствовал снижению в 2,0 раза ($p < 0,01$) числа эпизодов груминга и в 5,5 раза ($p < 0,001$) его длительности у крыс с моделью РАС относительно группы «ППК».

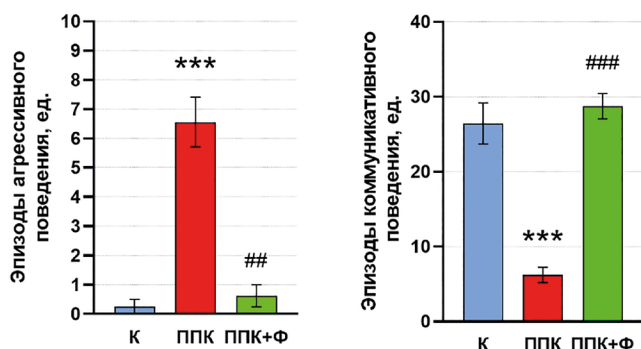


Рис. 1. Влияние фабомотизола на социальное поведение крыс с моделью РАС в «Парном тесте» на 52-й день постнатального развития. Данные представлены как Mean $\pm$ SEM
Fig. 1. Effect of fabomotizole on social behavior of rats with ASD model in the Pair Test on postnatal day 52. Data are presented as Mean $\pm$ SEM

Примечание: *** — $p < 0,001$ по сравнению с группой «Контроль»; ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ по сравнению с группой «ППК». К — контрольная группа; ППК — группа с моделью РАС, индуцированной пропионовой кислотой; ППК+Ф — группа с моделью РАС, получавшая фабомотизол.

Notes: *** — $p < 0,001$ compared to the "Control" group; ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ compared to the "PPA" group. K — Control group; PPA — group with ASD model induced by propionic acid; PPA+F — group with ASD model treated with fabomotizole.

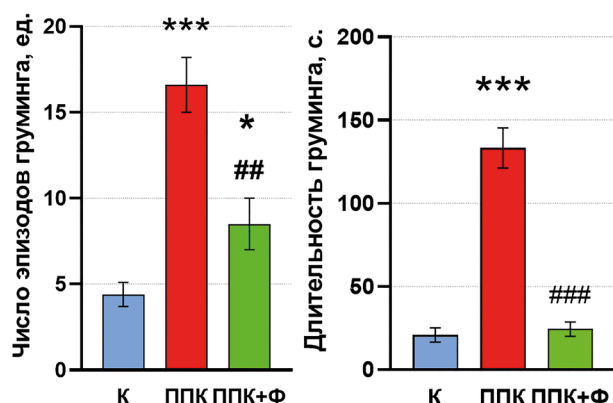


Рис. 2. Влияние фабомотизола на показатели автогруминга у крыс с моделью РАС на 60-й день постнатального развития. Данные представлены как Mean $\pm$ SEM
Fig. 2. Effect of fabomotizole on self-grooming parameters in rats with ASD model on postnatal day 60. Data are presented as Mean $\pm$ SEM

Примечание: *, *** — $p < 0,05$, $p < 0,001$ по сравнению с группой «Контроль»; ##, ### — $p < 0,01$, $p < 0,001$ по сравнению с группой «ППК». К — контрольная группа; ППК — группа с моделью РАС, индуцированной пропионовой кислотой; ППК+Ф — группа с моделью РАС, получавшая фабомотизол.

Notes: *, *** — $p < 0,05$, $p < 0,001$, respectively, compared to the "Control" group; ##, ### — $p < 0,01$, $p < 0,001$, respectively, compared to the "PPA" group. K — Control group; PPA — group with ASD model induced by propionic acid; PPA+F — group with ASD model treated with fabomotizole.

Постнатальное воздействие ППК приводило к снижению ориентировочно-исследовательской активности у крыс в тесте «Открытое поле» при отсутствии влияния на горизонтальную двигательную

активность, что проявлялось в уменьшении в 1,4 раза числа вертикальных стоек и в снижении в 2,6 раза (в виде тенденции) числа заглядываний в отверстия по сравнению с контрольной группой, что корректировалось фабомотизолом (табл. 1).

У крыс с моделью РАС отмечалось повышение тревожности в тесте «Открытое поле», что выразилось в уменьшении числа заходов в центральную и прецентральную зоны установки в 9,5 ($p < 0,001$) и 3,9 раз ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с показателями группы «Контроль». Фабомотизол ослаблял тревожноподобное поведение крыс с моделью РАС, что выразилось в достоверном увеличении числа заходов в прецентральную и центральную части установки по сравнению с группой «ППК».

Повышение тревожности у крыс, постнатально получавших ППК, отмечалось и в тесте «ПКЛ», что выразилось в снижении в 4,4 раза ($p < 0,01$) длительности нахождения в открытых рукавах лабиринта и в 1,7 раза числа визитов в них ($p < 0,05$) относительно показателей контрольной группы (табл. 2). Кроме того, у крыс группы «ППК» в 1,75 раза ($p < 0,01$) увеличилась длительность груминга по сравнению с группой «Контроль».

Противотревожное действие фабомотизола в тесте ПКЛ проявилось в увеличении в 8,5 раза ($p < 0,001$) длительности пребывания крыс с моделью РАС в открытых рукавах лабиринта и в 2,5 раза ($p < 0,01$) числа заходов в них относительно показателей группы «ППК», а также в 1,9 ($p < 0,05$) и в 1,4 раз ($p < 0,05$) относительно группы «Контроль» (табл. 2). Фабомотизол также уменьшал длительность груминга в 5,0 и 2,9 раз соответственно у крыс с моделью РАС по сравнению с показателями животных групп «ППК» и «Контроль», что указывает как на уменьшение уровня тревожности, так и стереотипии (см. табл. 2).

Снижение ориентировочно-исследовательской активности и повышенная тревожность отмечались у крыс, получавших ППК, и в условиях методики «Норковый тест» на Р76, что выразилось в уменьшении в 3,9 раза ($p < 0,001$) числа заглядываний в норки, в 1,5 раза ($p < 0,05$) — вертикальных стоек и в 1,74 раза ($p < 0,001$) — переходов по сравнению с показателями контрольной группы, а также в полном избегании центральных норок (табл. 3).

Фабомотизол восстанавливал вызванные ППК нарушения, что выражалось в достоверном увеличении в 1,6 раза числа переходов и числа заглядываний как только в центральные, так и во все норки установки относительно группы «ППК» (см. табл. 3).

Постнатальное введение ППК вызывало существенное снижение исследовательской и двигательной активности у крыс в тесте «Y-лабиринт». Так, у крыс группы «ППК» наблюдалось снижение в 2,2 раза ($p < 0,01$) эффективности патрулирования (показателя когнитивной организации маршрута) и в 1,9 раза ($p < 0,001$) общего числа переходов между рукавами по сравнению с показателями группы «Контроль» (табл. 4).

Таблица 1

Влияние фабомотизола на поведение крыс с моделью РАС в тесте «Открытое поле» на P63 (Mean $\pm$ SEM)

Table 1

Effect of fabomotizole on the behavior of rats with ASD model in the Open Field test on P63 (Mean $\pm$ SEM)

Параметры	Группа, число животных в группе (n)		
	Контроль (n = 10)	ППК (n = 11)	ППК+Фабомотизол (n = 10)
Перемещения на периферии, ед.	30,5 $\pm$ 2,9	34,5 $\pm$ 4,7	35,9 $\pm$ 4,9
Переходы в прецентральной зоне, ед.	15,6 $\pm$ 2,0	4,0 $\pm$ 0,9***	13,7 $\pm$ 1,1***
Заходы в центр, ед.	1,9 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,1***	1,8 $\pm$ 0,2***
Стойки, ед.	10,2 $\pm$ 1,6	7,4 $\pm$ 1,1	11,5 $\pm$ 1,9 [#]
Заглядывания в норки, ед.	2,6 $\pm$ 0,6	1,0 $\pm$ 0,5*	2,4 $\pm$ 0,6

Примечания: *, ***, * — $p < 0,06$, $p < 0,001$ соответственно по сравнению с группой «Контроль»; #, *** — $p < 0,07$, $p < 0,001$ соответственно по сравнению с группой «ППК»; n — число животных в группе.
Notes: *, ***, * — $p < 0,06$, $p < 0,001$, respectively, compared to the “Control” group; #, *** — $p < 0,07$, $p < 0,001$, respectively, compared to the “PPA” group; n — number of animals per group.

Таблица 2

Влияние фабомотизола на поведение крыс Вистар с моделью РАС в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» на P73 (Mean $\pm$ SEM)

Table 2

Effect of fabomotizole on the behavior of Wistar rats with ASD model in the Elevated Plus Maze test on P73 (Mean $\pm$ SEM)

Параметры	Контроль (n = 10)	ППК (n = 10)	ППК + Фабомотизол (n = 10)
Нахождение в открытых рукавах, с.	80,0 $\pm$ 15,1	18,3 $\pm$ 6,3**	155,2 $\pm$ 21,4*, ***
Визиты в открытые рукава, ед.	3,4 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,6*	4,9 $\pm$ 0,7*, **
Длительность груминга, с.	17,8 $\pm$ 3,2	31,0 $\pm$ 3,8**	6,2 $\pm$ 1,2**, ***

Примечания: *, ** — $p < 0,05$, $p < 0,01$ соответственно по сравнению с группой «Контроль»; #, *** — $p < 0,01$, $p < 0,001$ соответственно по сравнению с группой «ППК»; n — число животных в группе.
Notes: *, ** — $p < 0,05$, $p < 0,01$, respectively, compared to the “Control” group; #, *** — $p < 0,01$, $p < 0,001$, respectively, compared to the “PPA” group; n — number of animals per group.

Таблица 3

Влияние фабомотизола на поведение крыс с моделью РАС в «Норковом тесте» на P76 (Mean $\pm$ SEM)

Table 3

Effect of fabomotizole on the behavior of rats with ASD model in the Hole Board test on P76 (Mean $\pm$ SEM)

Параметры	Контроль (n = 10)	ППК (n = 11)	ППК+Фабомотизол (n = 10)
Заглядывания в норки, ед.	15,3 $\pm$ 1,7	3,9 $\pm$ 0,6***	14,5 $\pm$ 1,6***
Заглядывания в норки в центре установки, ед.	1,2 $\pm$ 0,4	0,0 $\pm$ 0,0**	2,3 $\pm$ 0,3*, ***
Стойки, ед.	11,5 $\pm$ 2,2	7,5 $\pm$ 0,8*	9,1 $\pm$ 2,9
Переходы, ед.	45,3 $\pm$ 3,6	26,0 $\pm$ 3,0***	40,9 $\pm$ 4,8 [#]

Примечания: *, **, *** — $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ соответственно по сравнению с группой «Контроль»; #, *** — $p < 0,05$, $p < 0,001$ соответственно по сравнению с группой «ППК»; n — число животных в группе.
Notes: *, **, *** — $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, respectively, compared to the “Control” group; #, *** — $p < 0,05$, $p < 0,001$, respectively, compared to the “PPA” group; n — number of animals per group.

Таблица 4

Влияние фабомотизола на поведение крыс с моделью РАС в тесте «Y-лабиринт» на P83 (Mean $\pm$ SEM)

Table 4

Effect of fabomotizole on the behavior of rats with ASD model in the Y-Maze test on P83 (Mean $\pm$ SEM)

Параметры	Контроль (n = 10)	ППК (n = 11)	ППК + Фабомотизол (n = 10)
Переходы, ед.	9,4 $\pm$ 1,0	5,0 $\pm$ 0,6***	9,4 $\pm$ 1,1 [#]
Эффективность патрулирования, %	65,3 $\pm$ 2,9	29,2 $\pm$ 10,7**	79,1 $\pm$ 4,1*, ***

Примечания: *, **, *** — $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ соответственно по сравнению с группой «Контроль»; #, *** — $p < 0,01$, $p < 0,001$ соответственно по сравнению с группой «ППК»; n — число животных в группе.
Notes: *, **, *** — $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, respectively, compared to the “Control” group; #, *** — $p < 0,01$, $p < 0,001$, respectively, compared to the “PPA” group; n — number of animals per group.

Таблица 5

Влияние фабомотизола на поведение крыс с РАС при предъявлении авersive запаха на P85 (Mean $\pm$ SEM)

Table 5

Effect of fabomotizole on the behavior of rats with ASD during aversive odor exposure in the Y-Maze test on P85 (Mean $\pm$ SEM)

Группа, число крыс (n)	Число визитов, ед.		Длительность нахождения, с	
	в рукав с источником запаха	в другие рукава	в рукаве с запахом	в других рукавах
Контроль, n = 8	3,00 $\pm$ 0,38	6,13 $\pm$ 0,99	46,19 $\pm$ 6,83	205,56 $\pm$ 21,62
ППК, n = 10	3,00 $\pm$ 0,47	5,50 $\pm$ 0,62	81,67$\pm$12,23*	195,49 $\pm$ 14,21
ППК + Фабомотизол, n = 10	1,90$\pm$0,38 p < 0,06*, #	4,50 $\pm$ 0,75	50,61$\pm$9,06#	229,55 $\pm$ 6,89

Примечания: * — $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль»; # — $p < 0,05$ по сравнению с группой «ППК»; n — число животных в группе.
Notes: * — $p < 0.05$ compared to the "Control" group; # — $p < 0.05$ compared to the "PPA" group; n — number of animals per group

Фабомотизол повысил в 2,7 раза ($p < 0,001$) эффективность патрулирования лабиринта у крыс с моделью РАС и увеличил в 1,9 раза число переходов ($p < 0,01$) относительно группы «ППК» (см. табл. 4).

У крыс группы «ППК» наблюдалось нарушение видового поведения, что выразилось в увеличении в 1,8 раза ($p < 0,05$) длительности пребывания в рукаве с источником авersive стимула (запах лисы) в установке «Y-лабиринт» по сравнению с группой «Контроль» (табл. 5).

Фабомотизол уменьшил в 1,6 раза длительность нахождения крыс с моделью РАС в «опасном» рукаве по сравнению с группой «ППК» ($p < 0,05$). Фабомотизол на уровне тенденции уменьшил число заходов в рукав с источником запаха крыс с моделью РАС как по сравнению с животными группы «Контроль», так и группы «ППК».

Обсуждение / Discussion

В настоящем исследовании продемонстрировано, что постнатальное введение ППК самцам крыс линии Вистар вызывает стойкие нарушения поведения, релевантные симптоматике РАС: дефицит социального взаимодействия, повышенную тревожность и стереотипию, когнитивные нарушения, а также нарушения исследовательской активности и сенсорно-эмоционального ответа. Фабомотизол (длительное пероральное введение в дозе 10 мг/кг) существенно корректировал проявления РАС, оказывая выраженный анксиолитический эффект, нормализуя социальное поведение, ослабляя стереотипию, улучшая когнитивные функции и восстанавливая видовые поведенческие паттерны.

Корректирующий эффект фабомотизола определяется его мультифакторным механизмом действия, где центральную роль играет агонистическая активность по отношению к шаперону $\sigma 1$ -рецептора (S1R) [15]. Активация S1R в нервных клетках мозга стабилизирует ГАМК/бензодиазепиновые рецепторы, восстанавливая их чувствительность к эндогенным тормозным ме-

диаторам, модулирует глутаматергическую передачу, снижая эксайтотоксичность, и повышает биоэнергетический потенциал нейронов за счёт стабилизации митохондриальной функции, что обеспечивает нейропротекцию [16, 17]. Другие мишени фабомотизола — хинонредуктаза 2 (NQO2) и моноаминоксидаза А (MAO-A) — усиливают антиоксидантную защиту и нормализуют оборот моноаминов [15]. В контексте ППК-модели РАС, где нарушения опосредованы нейровоспалением (усиление провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-17, IL-2, NF- κ B) и окислительным стрессом [18], особое значение приобретает способность фабомотизола модулировать функцию микроглии. Так, было показано, что фабомотизол подавляет активацию микроглии, стимулируя её переход в противовоспалительный фенотип M2 и снижая продукцию провоспалительных медиаторов [16, 17]. Аналогичные эффекты наблюдаются у других S1R-агонистов, таких как флувоксамин, который в модели вальпроат-индуцированного аутизма нормализовал микроглиальные фенотипы, уменьшал стереотипию и улучшал социальное поведение [19].

Заключение / Conclusion

Фабомотизол, обладая мультитаргетным действием, возможно, оказывает мультифакторное действие на ключевые звенья патогенеза ППК-модели РАС, в том числе микровоспаление, оксидативный стресс, нарушения ГАМК/глутаматной передачи, что способствует комплексному ослаблению симптомов заболевания.

Полученные данные подтверждают, что модель с постнатальным введением ППК адекватно отражает устойчивые поведенческие нарушения и служит обоснованной платформой для оценки терапевтического потенциала фабомотизола при РАС.

Ограничения исследования / Study limitations

В настоящей работе не проводилось определение концентраций фабомотизола в плазме и ткани мозга,

а также не оценивались его фармакокинетические параметры, поскольку основной целью исследования было изучение поведенческих эффектов длительно-го введения препарата в модели РАС. Кроме того, тестирование поведения не выполнялось в условиях ослепления исследователя, что следует учитывать при интерпретации результатов. Исследование было проведено только на самцах крыс. У самок крыс овариальный цикл вызывает значительные колебания гормонального фона, что может влиять на поведенче-

ские и нейрохимические показатели и потребовало бы кратного увеличения выборки; в ранее проведенных исследованиях гендерные особенности изучались, и для получения более цельной картины влияния фобомоноизола на поведение крыс с моделью РАС в данной работе мы сознательно остановились на самцах, не ставя прямой задачи анализа половых различий. Будущие исследования на самках являются важным направлением.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Бояркин В. С. — участие в разработке модели, выполнение эксперимента, анализ и интерпретация результатов, написание текста; *Капица И. Г.* — участие в разработке модели, написание текста, редактирование текста, финальное утверждение рукописи; *Воронина Т. А.* — постановка задачи, координация работы исследователей, написание текста, редактирование текста, финальное утверждение рукописи.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме НИР № FGFG-2025-0009.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Authors' participation

Boyarkin VS — participation in the model development, experiment performing, analysis and interpretation of results, writing the text; *Kapitsa IG* — participation in the model development, writing the text, editing the text, final approval of the manuscript; *Voronina TA* — formulation of the problem, coordination of the researchers' work, writing the text, editing the text, final approval of the manuscript.

Funding

This work was conducted under the government contract of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, R&D topic No. FGFG-2025-0009.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Бояркин Валентин Сергеевич — аспирант лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейропсихофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: valsboy709@mail.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8167-0406>

Valentin S. Boyarkin — Postgraduate student of the Laboratory of Pharmacology of Mental Disorders, Department of Neuropsychopharmacology, Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
Corresponding author
e-mail: valsboy709@mail.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8167-0406>

Капица Инга Геннадиевна — к. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейropsychopharmacологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: kapica_ig@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4487-0991>
РИНЦ SPIN-код: 7339-8634

Inga G. Kapitsa — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of the Laboratory of Pharmacology of Mental Disorders, Department of Neuropsychopharmacology, Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: kapica_ig@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4487-0991>
RSCI SPIN code: 7339-8634

Воронина Татьяна Александровна — д. м. н., профессор, г. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейropsychopharmacологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: voronina_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>
РИНЦ SPIN-код: 5766-3452

Tatiana A. Voronina — PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, Chief Scientific Officer of the Laboratory of Pharmacology of Mental Disorders of the Department of Neuropsychopharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: voronina_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>
RSCI SPIN code: 5766-3452

Список литературы / References

1. Frye RE, Rincon N, McCarty PJ, et al. Biomarkers of mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Dis.* 2024;197:106520. doi: 10.1016/j.nbd.2024.106520. EDN: PJRVKV
2. Foley KA, Ossenkopp KP, Kavaliers M, Macfabe DF. Pre- and neonatal exposure to lipopolysaccharide or the enteric metabolite, propionic acid, alters development and behavior in adolescent rats in a sexually dimorphic manner. *PLoS One.* 2014;9(1):e87072. doi: 10.1371/journal.pone.0087072.
3. Macfabe DF. Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: implications in autism spectrum disorders. *Microb Ecol Health Dis.* 2012;23:19260. doi: 10.3402/mehd.v23i0.19260.
4. Бояркин В. С., Капица И. Г., Воронина Т. А. Экспериментальная модель расстройств аутистического спектра, вызванная пренатальным введением пропионовой кислоты крысам Вистар. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2024;(2):50-56. [Boyarkin VS, Kapitsa IG, Voronina TA. Experimental model of autism spectrum disorder induced by prenatal administration of propionic acid to Wistar rats. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics.* 2024;(2):50-56. (In Russ.).] doi: 10.37489/2587-7836-2024-2-50-56. EDN: YJKWFL
5. Downes N, Mullins P. The development of myelin in the brain of the juvenile rat. *Toxicol Pathol.* 2014;42(5):913-922. doi: 10.1177/0192623313503518.
6. Semple BD, Blomgren K, Gimlin K, et al. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Prog Neurobiol.* 2013;106-107:1-16. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.04.001. EDN: RHKRXF
7. Shams S, Foley KA, Kavaliers M, et al. Systemic treatment with the enteric bacterial metabolic product propionic acid results in reduction of social behavior in juvenile rats: Contribution to a rodent model of autism spectrum disorder. *Dev Psychobiol.* 2019 Jul;61(5):688-699. doi: 10.1002/dev.21825
8. Бояркин В. С., Капица И. Г., Воронина Т. А. Влияние фабомоти-зола на показатели развития в перинатальном (гнездовом) периоде у крыс с расстройством аутистического спектра, вызванным пренатальным введением пропионовой кислоты. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2025;88(4):8-14. [Boyarkin VS, Kapitsa IG, Voronina TA. Effects of fabomotizole on developmental parameters in the perinatal (nesting) period of rats with prenatally induced autism spectrum disorder caused by propionic acid administration. *Exp Clin Pharmacol.* 2025;88(4):8-14. (In Russ.).] doi: 10.30906/0869-2092-2025-88-4-8-14. EDN: VPCRJG

9. Choi J, Lee S, Won J, et al. Pathophysiological and neurobehavioral characteristics of a propionic acid-mediated autism-like rat model. *PLoS One.* 2018 Feb 15;13(2):e0192925. doi: 10.1371/journal.pone.0192925.
10. Jahan MS, Ito T, Ichihashi S, et al. PlexinA1 deficiency in BALB/cAJ mice leads to excessive self-grooming and reduced prepulse inhibition. *IBRO Rep.* 2020 Oct 22;9:276-289. doi: 10.1016/j.ibror.2020.10.004.
11. Воронина Т.А., Середенин С.Б., Яркова М.А., Воронин М.В. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств. Под ред. Миронова А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012:264–275. [Voronina TA, Seredenin SB, Yarkova MA, Voronin MV. Metodicheskiye rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu trankviliziruyushchego (anksioliticheskogo) deystviya lekarstvennykh sredstv. In: Mironov AN, editors. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Part one. Moscow: Grif and K, 2012:264-275. (In Russ.).]
12. Meeking MM, MacFabe DF, Mephram JR, et al. Propionic acid induced behavioural effects of relevance to autism spectrum disorder evaluated in the hole board test with rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2020 Mar 8;97:109794. doi: 10.1016/j.pnpbp.2019.109794.
13. Lalonde R. The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neurosci Biobehav Rev.* 2002 Jan;26(1):91-104. doi: 10.1016/s0149-7634(01)00041-0.
14. Hacquemand R, Choffat N, Jacquot L, Brand G. Comparison between low doses of TMT and cat odor exposure in anxiety- and fear-related behaviors in mice. *Behav Brain Res.* 2013 Feb 1;238:227-31. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.014.
15. Voronin MV, Vakhitova YV, Tsypysheva IP, et al. Involvement of Chaperone Sigma1R in the Anxiolytic Effect of Fabomotizole. *Int J Mol Sci.* 2021 May 21;22(11):5455. doi: 10.3390/ijms22115455.
16. Behensky AA, Katnik C, Yin H, Cuevas J. Activation of Sigma Receptors With Afobazole Modulates Microglial, but Not Neuronal, Apoptotic Gene Expression in Response to Long-Term Ischemia Exposure. *Front Neurosci.* 2019 May 15;13:414. doi: 10.3389/fnins.2019.00414.
17. Cuevas J, Rodriguez A, Behensky A, Katnik C. Afobazole modulates microglial function via activation of both sigma-1 and sigma-2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011 Oct;339(1):161-72. doi: 10.1124/jpet.111.182816.
18. Bagcioglu E, Solmaz V, Erbas O, et al. Modafinil Improves Autism-like Behavior in Rats by Reducing Neuroinflammation. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2023 Jun;18(1-2):9-23. doi: 10.1007/s11481-023-10061-2.
19. Mohamed AF, El-Gammal MA, El-Yamany MF, Khodeir AE. Sigma-1 receptor modulation by fluvoxamine ameliorates valproic acid-induced autistic behavior in rats: Involvement of chronic ER stress modulation, enhanced autophagy and M1/M2 microglia polarization. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2025 Jan 10;136:111192. doi: 10.1016/j.pnpbp.2024.111192.



Сравнительное изучение антиаритмической и противо- ишемической активности различных солей N¹-(2,3,4- триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамина

Цорин И. Б., Мокров Г. В., Барчуков В. В., Вититнова М. Б., Крыжановский С. А.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Введение. В ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» в результате скрининга в ряду производных алкоксифенилтриазаалканов было выявлено соединение АЛМ-802, которое в виде тригидрохлорида (АЛМ-802Т) обладает выраженной антиаритмической и противоишемической активностью. Однако рН водного раствора этой соли имеет достаточно низкое значение — 3,5, что не исключает наличия у инъекционных лекарственных форм соединения определённого местнораздражающего действия. В связи с этим были синтезированы сукцинат и цитрат соединения АЛМ-802 — АЛМ-802S и АЛМ-802C соответственно. рН водных растворов этих соединений существенно ближе к нейтральному (АЛМ-802S — 5,8 и АЛМ-802C — 5,55), что не предполагает наличия у них местнораздражающего действия.

Цель исследования. Изучить в сравнительном аспекте острую токсичность при 24-часовом сроке наблюдения, антиаритмическую и противоишемическую активность соединений АЛМ 802Т, АЛМ 802S и АЛМ 802C.

Материалы и методы. Показатели токсичности определяли на белых беспородных мышах самцах, расчёт проводили по Финни. Антиаритмическую активность соединений (2 мг/кг) изучали на модели аконитиновых нарушений ритма сердца у белых крыс самцов. Противоишемическое действие веществ тестировали на модели острой субэндокардиальной ишемии, вызываемой неселективным β-адреномиметиком изопроterenолом (20 мкг/кг/мин в течение 5 мин). Об интенсивности ишемического повреждения судили по величине депрессии сегмента ST на ЭКГ (II стандартное отведение) через 5 минут от момента начала инфузии изопроterenолом.

Результаты. Анализ полученных данных показал, что LD_{50/24} изучаемых солей АЛМ-802 сопоставимы, они относятся к IV классу токсичности — малотоксичным соединениям. На моделях аконитиновых нарушений ритма сердца и субэндокардиальной ишемии они одинаково высокоэффективны.

Заключение. Соединения АЛМ 802Т, АЛМ 802S и АЛМ 802C на изученных моделях не отличаются по эффективности.

Ключевые слова: крысы; нарушения ритма; субэндокардиальная ишемия; АЛМ-802

Для цитирования:

Цорин И. Б., Мокров Г. В., Барчуков В. В., Вититнова М. Б., Крыжановский С. А. Сравнительное изучение антиаритмической и противоишемической активности различных солей N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамина. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):67–72. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-67-72>. EDN: TTQXHEI

Поступила: 13.03.2026. **В доработанном виде:** 15.04.2026. **Принята к печати:** 24.05.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Comparative study of antiarrhythmic and anti-ischemic activity of various salts of n¹-(2,3,4-trimethoxybenzyl)-n²-{2-[(2,3,4-trimethoxybenzyl)amino]ethyl}-1,2-ethane-diamine

Iosif B. Tsorin, Grigory V. Mokrov, Vladimir V. Barchukov, Marina B. Vititnova, Sergey A. Kryzhanovskii

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. As a screening result in a number of alkoxyphenyltriazaalkanes, the compound ALM-802, which in the form of its trihydrochloride has pronounced antiarrhythmic and antiischemic activity, was identified at the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies". However, the pH of the aqueous solution of this salt is quite low — 3.5, — which does not exclude the possibility of some local irritant activity in injectable dosage forms of the compound. Therefore, the succinate and citrate of compound ALM-802 — ALM-802S and ALM-802C, respectively, — were synthesized. The pH of the aqueous solutions of these compounds is significantly closer to neutral (ALM-802S — 5.8 and ALM-802C — 5.55), which does not suggest their local irritant activity, suggesting no local irritancy.

Objective. To study in a comparative aspect acute toxicity with a 24-hour observation period, antiarrhythmic and anti-ischemic activity of compounds ALM-802Т, ALM-802S and ALM-802C.

Materials and methods. The toxicity parameters were determined on white outbred male mice, the calculation was carried out according to Finney. The antiarrhythmic activity of the compounds (2 mg/kg) was studied on a model of aconitine cardiac arrhythmias in male white rats. The anti-ischemic effect of the substances was tested on a model of acute subendocardial ischemia caused by the nonselective beta-adrenomimetic isoproterenol (20 mg/kg/min for 5 minutes). The intensity of ischemic damage was judged by the magnitude of ST segment depression on the ECG (standard lead II) 5 minutes after the start of the isoproterenol infusion.

Results. Analysis of the data obtained showed that the LD_{50/24} of the studied ALM-802 salts are comparable, they belong to the IV class of toxicity — low-toxic compounds. They are equally highly effective in models of aconitine heart rhythm disorders and subendocardial ischemia.

Conclusion. The ALM-802Т, ALM-802S and ALM-802C compounds on the studied models do not differ in efficiency.

Keywords: rats; rhythm disturbances; subendocardial ischemia; ALM-802

For citations:

Tsorin IB, Mokrov GV, Barchukov VV, Vititnova MB, Kryzhanovskii SA. Comparative study of antiarrhythmic and anti-ischemic activity of various salts of n^1 -(2,3,4-trimethoxybenzyl)- n^2 -[2-[(2,3,4-trimethoxybenzyl)amino]ethyl]-1,2-ethane-diamine. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):67–72. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-67-72>. EDN: TTQQXE

Received: 13.03.2026. Revision received: 15.04.2026. Accepted: 24.05.2026. Published: 30.06.2026.

Введение / Introduction

В ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» в результате скрининга в ряду производных алкоксифенилтриазаалканов было выявлено соединение N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина, получившее шифр АЛМ-802 (рис. 1).

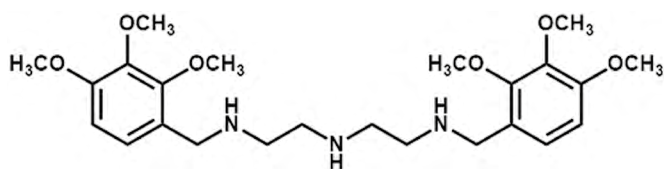


Рис. 1. Структурная формула N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина — соединения АЛМ-802 (основание)

Fig. 1. Structural formula of N^1 -(2,3,4-trimethoxybenzyl)- N^2 -{2-[(2,3,4-trimethoxybenzyl)amino]ethyl}-1,2-ethanediamine — compound ALM-802 (base)

В экспериментах *in vivo* было показано, что соединение АЛМ-802 в виде тригидрохлорида (АЛМ-802Т) обладает выраженным антиаритмическим и противоишемическим действием. Это вещество оказалось эффективным на моделях аконитиновых, хлорид-кальциевых и хлоридбариевых нарушений ритма сердца, предупреждало возникновение фибрилляций и пароксизмальных тахикардий желудочков в условиях окклюзии и последующей реперфузии коронарной артерии, понижало порог электрической фибрилляции сердца у крыс [1–3]. По своей антиаритмической эффективности соединение не уступало таким эталонным препаратам, как новокаинамид, верапамил и амиодарон [2]. Изученное соединение уменьшало депрессию сегмента ST на ЭКГ в условиях модели субэндокардиальной ишемии, в том числе у крыс с эндотелиальной дисфункцией [1, 4, 5]. Результаты экспериментов *in vitro*, выполненных на изолированной полоске миокарда, дают основания полагать, что механизм антиаритмического действия соединения АЛМ-802 во многом связан с блокадой рианодинных рецепторов 2 типа (RyR2) [2, 6].

Водный раствор соединения АЛМ-802Т имеет достаточно низкое значение pH (3,5), что предполагает возможность наличия у инъекционных лекарственных форм соединения определённого местнораздражающе-

го действия. Помимо этого, АЛМ-802Т потенциально может обладать нежелательными органолептическими свойствами (горький вкус), что, в свою очередь, может создать определённые проблемы при разработке сублингвальной лекарственной формы соединения. Во избежание вышеуказанного были синтезированы янтарная и лимонная соли соединения АЛМ-802 — АЛМ-802S и АЛМ-802С соответственно. pH водных растворов этих соединений существенно ближе к нейтральному (АЛМ-802S — 5,8 и АЛМ-802С — 5,55), что не предполагает наличия у них местнораздражающего действия и нежелательных органолептических свойств:

— Сукцинат N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ 802S).

— Цитрат N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ 802С).

Поскольку при формировании досье на получение разрешения на проведение 1-й фазы клинических испытаний необходимо представить данные об эффективности той соли представляемого соединения, которая входит в состав его лекарственной формы, было необходимо провести сравнительное фармакологическое изучение целевой активности солей соединения АЛМ-802 — соединений АЛМ-802Т, АЛМ-802S и АЛМ-802С.

Цель исследования / Objective. Изучить в сравнительном аспекте острую токсичность при 24-часовом сроке наблюдения, антиаритмическую и противоишемическую активность соединений АЛМ 802Т, АЛМ 802S и АЛМ 802С.

Материалы и методы / Materials and methods

Животные. Опыты проведены на белых беспородных мышах самцах массой 18–20 г и белых беспородных крысах самцах массой 180–200 г и 250–300 г, полученных из ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая», имеющих ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья и прошедших 15-суточный карантин в виварии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Животных содержали в стандартных пластиковых клетках по 8–10 голов, с предоставлением брикетированного корма *ad libitum* при регулируемом 12/12 световом режиме (light off at 08-00 am). Условия содержания животных соответствовали ГОСТ 33215–2014 «Руководство по

содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» (Переиздание) и ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (Переиздание). Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC)), и «Правилами работы с животными», утверждёнными биоэтической комиссией ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Животные получали стандартный брикетированный корм ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб», РФ).

Изучение острой токсичности при 24-часовом периоде наблюдения (определение $LD_{50/24}$). Значения $LD_{50/24}$ соединений определяли на 90 беспородных мышцах самцах. Вещества вводили внутривенно в объёме 0,1 мл/10 г массы тела в пяти различных дозах, число животных в каждой серии было равно 6. В качестве растворителя использовали апиногенную воду для инъекций. Летальность животных оценивали через 24 часа после введения соединений. Значения $LD_{16/24}$, $LD_{50/24}$ и $LD_{84/24}$ с их доверительными 95 % интервалами рассчитывали по методу Финни.

Метод изучения активности соединений на модели аконитиновой аритмии. Эксперименты проводили на белых крысах самцах массой 180–200 г. Животные были рандомизированы на 4 группы: 1. Контроль ($n = 11$); 2. АЛМ 802S ($n = 6$); 3. АЛМ 802C ($n = 6$); 4. АЛМ 802T ($n = 8$). Наркотизированных крыс (уретан 1300 мг/кг, в/б) фиксировали в положении на спине на подогреваемом операционном столике. Катетеризировали левую бедренную вену для введения аконитина и изучаемых соединений. Перед началом эксперимента у животных регистрировали ЭКГ (стандартные отведения, калибровочный сигнал 20 мВ, скорость записи 100 мм/сек, продолжительность записи 60 секунд). В качестве регистратора использовали компьютерный электрокардиограф «Поли-Спектр 8/В» (Россия). Затем подбирали дозу аконитина (в/в, болюсом), которая во всех экспериментах в пределах 1–2 минут после окончания его введения вызывает смешанную предсердно-желудочковую экстрасистолию; величина подобранной дозы — 30 мкг/кг. После подбора дозы аконитина во всех сериях экспериментов изучаемые соединения вводили в/в (в 0,2–0,3 мл апиногенной воды для инъекций) за 2 минуты до введения аконитина. Непрерывную регистрацию ЭКГ начинали за 2 минуты до начала введения аконитина или исследуемых соединений и продолжали в течение 20 минут от момента окончания в/в введения аконитина.

В каждой экспериментальной группе подсчитывали число животных, у которых в первые 10 минут после введения аконитина возникали злокачественные нарушения сердечного ритма (политопная желудочковая экстрасистолия, желудочковая тахикардия и т. д.).

Метод изучения активности соединений на модели субэндокардиальной ишемии. Опыты проводили на 29 наркотизированных (уретан 1300 мг/кг, в/б) крысах массой 250–300 г. Животных рандомизировали на четыре группы: 1. Контроль ($n = 9$); 2. АЛМ-802S ($n = 7$); 3. АЛМ-80C ($n = 6$); 4. АЛМ-80T ($n = 7$). Животное фиксировали на операционном столике в положении на спине. Катетеризировали бедренную вену. Острую субэндокардиальную ишемию миокарда вызывали внутривенной инфузией неселективного β -адреномиметика изопроterenоло со скоростью 20 мкг/кг/мин. Об интенсивности ишемического повреждения судили по величине депрессии сегмента ST на ЭКГ (II стандартное отведение) через 5 минут от момента начала инфузии изопроterenоло. Величину депрессии сегмента ST определяли по методу S. Yamamoto [7].

Статистический анализ. Данные, измеренные в альтернативной шкале, обрабатывали с помощью критерия точной вероятности Фишера, при сравнении 2 и более выборок с контролем учитывали множественность сравнений.

Обработку количественных данных, полученных в экспериментах на модели субэндокардиальной ишемии, проводили следующим образом. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка, гомогенность дисперсий — с помощью критерия Левена. Так как полученные данные имели распределение, близкое к нормальному, и дисперсии выборок были гомогенны, то для сравнения выборок использовали однофакторный дисперсионный анализ с последующей обработкой методом множественных сравнений по Даннелу. Результаты представляли в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Во всех случаях критический уровень значимости $\alpha = 0,05$.

Использованные вещества.

Тригидрохлорид N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ-802Т) — ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;

Сукцинат N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ 802S) — ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Цитрат N^1 -(2,3,4-триметоксибензил)- N^2 -{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино] этил}-1,2-этандиамина (шифр АЛМ 802C) — ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Уретан — «Acros organics», Индия; аконитина гидроксид — УФИЦ РАН, Россия, изопроterenол — «Sigma», США, апиогенная вода для инъекций — «Solopharm», Россия, изотонический 0,9 % раствор натрия хлорида — «Краснофарм», Россия.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Результаты экспериментов по определению острой токсичности соединений АЛМ 802Т, АЛМ 802S и АЛМ 802С при 24-часовом периоде наблюдения представлены в табл. 1.

Таблица 1

Определение острой токсичности соединений АЛМ-802Т, АЛМ-802S и АЛМ-802С при 24-часовом периоде наблюдения

Table 1

Determination of acute toxicity of compounds ALM-802T, ALM-802S, and ALM-802C during a 24-hour observation period

Соединение	LD _{16/24} (мг/кг, в/б)	LD _{50/24} (мг/кг, в/б)	LD _{84/24} (мг/кг, в/б)
АЛМ-802Т	98,6 (98,2÷99,0)	111,8 (103,0÷121,4)	126,9 (126,4÷127,4)
АЛМ-802S	104,5 (76,5÷115,6)	123,1 (109,5÷139,3)	145,0 (131,0÷200,9)
АЛМ-802С	133,5 (98,5÷146,2)	153,6 (137,2÷171,1)	176,7 (161,6÷236,8)

Как следует из полученных данных, токсичность соединений АЛМ 802Т, АЛМ 802S и АЛМ 802С практически не различается, все они относятся к IV классу токсичности — малотоксичным веществам [8].

Сравнительный анализ результатов экспериментов по изучению антиаритмического действия солей АЛМ 802Т, АЛМ 802S и АЛМ 802С на аконитиновой модели нарушений ритма сердца показал, что все три вещества обладают одинаково высокой целевой эффективностью (табл. 2).

Таблица 2

Антиаритмическая активность соединений АЛМ-802Т, АЛМ-802S и АЛМ-802С на модели аконитиновой аритмии

Table 2

Antiarrhythmic activity of compounds ALM-802T, ALM-802S, and ALM-802C in the aconitine arrhythmia model

Соединение	Число животных со злокачественным нарушением ритма сердца
Контроль (n = 11)	11
АЛМ-802S (n = 6)	0 (p < 0,001)
АЛМ-802С (n = 6)	0 (p < 0,001)
АЛМ-802Т (n = 8)	0 (p < 0,001)

Примечание: p — указано по отношению к контролю (рассчитано методом точной вероятности Фишера с учётом множественности сравнений).
Note: p is given in relation to the control (calculated using Fisher's exact probability method, taking into account multiple comparisons).

Аналогичные данные были получены при сравнительной оценке антиишемической активности изучаемых солей. Как следует из полученных результатов, в условиях модели субэндокардиальной ишемии соединения АЛМ 802Т, АЛМ 802S и АЛМ 802С не различаются по своей противоишемической активности (табл. 3).

Таблица 3

Антиишемическая активность соединений АЛМ-802Т, АЛМ-802S и АЛМ-802С на модели субэндокардиальной ишемии

Table 3

Anti-ischemic activity of compounds ALM-802T, ALM-802S, and ALM-802C in the subendocardial ischemia model

Соединение	Величина депрессии ST, мВ (через 5 мин после начала инфузии изопроterenола)
Контроль (n = 9)	-0,17±0,01
АЛМ-802S (n = 7)	-0,01±0,01 (p < 0,001)
АЛМ-802С (n = 6)	-0,03±0,01 (p < 0,001)
АЛМ-802Т (n = 7)	-0,01±0,01 (p < 0,001)

Примечания: 1. Представлены средние и их стандартные ошибки; 2. p указано по отношению к контролю.
Notes: 1. Means and standard errors are presented; 2. p is relative to control.

Заключение / Conclusion

Результаты проведённых экспериментов свидетельствуют о том, что:

— органические соли N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина, такие как сукцинат и цитрат, так же как и прототип тригидрохлорид N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина, относятся к IV классу токсичности — малотоксичным веществам;

— органические соли соединения АЛМ-802Т в эквивалентных дозах полностью сохраняют антиаритмические и антиишемические свойства тригидрохлорида N¹-(2,3,4-триметоксибензил)-N²-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина.

Таким образом, вновь синтезированные органические соли соединения АЛМ-802 — АЛМ-802S и АЛМ-802С — полностью сохраняют целевую активность соединения АЛМ-802Т.

Ограничения исследования / Study limitations

Исследование проведено только на самцах. Такой подход связан с тем, что подбор самок в один и тот же период эстрального цикла вызовет значительные затруднения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Цорин И. Б. — статистический анализ и интерпретация полученных результатов, написание статьи; *Мокров Г. В.* — синтез изучаемых соединений; *Барчуков В. В.* — проведение экспериментов по определению острой токсичности веществ и изучению их антиаритмического действия; *Вититнова М. Б.* — проведение экспериментов по изучению противоишемического действия веществ; *Крыжановский С. А.* — планирование исследования, написание статьи. Все авторы прочитали и одобрили финальный вариант статьи до публикации.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Номер темы государственного задания FGFG-2025-0011.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' participation

Tsorin IB — statistical analysis and interpretation of the results, and writing the article; *Mokrov GV* — synthesis of the studied compounds; *Barchukov VV* — Conducting experiments to determine the acute toxicity of the substances and study their antiarrhythmic effects; *Vititnova MB* — conducting experiments to study the anti-ischemic effects of the substances; *Kryzhanovskii SA* — planning the investigation, writing the article. All authors read and approved the final version of the article before publication.

Funding

The work was carried out within the framework of theme FGFG-2025-0011, supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Цорин Иосиф Борисович — д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: tsorin_ib@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>
РИНЦ SPIN-код: 4015-3025

Iosif B. Tsorin — PhD, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Circulation Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: tsorin_ib@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>
RSCI SPIN code: 4015-3025

Мокров Григорий Владимирович — д. х. н., гл. н. с., руководитель отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>
РИНЦ SPIN-код: 8755-7666

Grigory V. Mokrov — PhD, Dr. Sci. (Chemical), Chief Researcher, Head of Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: mokrov_gv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2617-0334>
RSCI SPIN code: 8755-7666

Барчуков Владимир Валерьевич — к. м. н., н. с. лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: barchukov.pharm@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4229-3107>
РИНЦ SPIN-код: 6743-4280

Vladimir V. Barchukov — PhD, Cand. Sci. (Med.), Research Scientist of Laboratory of Circulation Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: barchukov.pharm@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4229-3107>
RSCI SPIN code: 6743-4280

Вититнова Марина Борисовна — к. б. н., в. н. с.
лаборатории фармакологии кровообращения
ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных
биомедицинских и фармацевтических техно-
логий», Москва, Российская Федерация
e-mail: vititnova_mb@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7516>
РИНЦ SPIN-код: 1901-8919

Marina B. Vititnova — PhD, Cand. Sci. (Biology),
Leading Researcher of Laboratory of Circulation
Pharmacology Federal Research Center for Innova-
tor and Emerging Biomedical and Pharmaceutical
Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: vititnova_mb@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7516>
RSCI SPIN code: 1901-8919

Крыжановский Сергей Александрович — д. м. н.,
зав. лабораторией фармакологии кровообра-
щения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспектив-
ных биомедицинских и фармацевтических тех-
нологий», Москва, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: kryzhanovskij_sa@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>
РИНЦ SPIN-код: 6596-4865

Sergey A. Kryzhanovskii — PhD, Dr. Sci. (Med.),
Head of Laboratory of Circulation Pharmacology
Federal Research Center for Innovator and Emerg-
ing Biomedical and Pharmaceutical Technologies,
Moscow, Russian Federation
Corresponding autor
e-mail: kryzhanovskij_sa@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2832-4739>
RSCI SPIN code: 6596-4865

Список литературы / References

1. Крыжановский С.А., Лихошерстов А.М., Цорин И.Б. и др. Скрининг кардиотропной активности в ряду α , ω -диарилметильных производных бис-(ω -аминоалкил)аминов. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2016;(2):10-13. [Kryzhanovskii SA, Likhosherstov AM, Tsorin IB, et al. Screening of the compounds having cardiotropic activity among the α , ω -diarilmethyl derivatives of bis-(ω -aminoalkyl)amines. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2016;(2):10-13. (In Russ.)].
2. Барчуков В.В., Зинченко В.П., Цорин И.Б. и др. Особенности антиаритмического действия соединения АЛМ-802. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(3):56-67. [Barchukov VV, Zinchenko VP, Tsorin IB, et al. Features of the compound ALM-802 antiarrhythmic action. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(3):56-67. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2023-3-56-67.
3. Барчуков В.В., Столярук В.Н., Цорин И.Б. и др. Исследование антиаритмической активности линейных алкоксифенилазаланов на модели реперфузионных аритмий у крыс. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2023;(2):20-28. [Barchukov VV, Stolyaruk VN, Tsorin IB, et al. Study of the antiarrhythmic activity of linear alkoxyphenylazalkanes in the model of reperfusion arrhythmias in rats. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(2):20-28. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2023-2-20-28.
4. Барчуков В.В., Цорин И.Б., Лихошерстов А.М. и др. Сравнительное изучение антиишемической активности триметазидина и соединения АЛМ-802 в условиях эндотелиальной дисфункции. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019;(2):23-27. [Barchukov VV, Tsorin IB, Likhosherstov AM, et al. A comparative study of the anti-ischemic activity of trimetazidine and the compound ALM-802 under conditions of endothelial

dysfunction. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2019;(2):23-27. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2587-7836-2019-10042.

5. Цорин И.Б., Барчуков В.В., Вититнова М.Б. и др. Кардиопротекторные эффекты соединения АЛМ-802 на моделях субэндокардиальной ишемии. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2021;(1):18-22. [Tsorin IB, Barchukov VV, Vititnova MB, et al. Cardioprotective effects of compound ALM-802 on subendocardial ischemia models. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2021;(1):18-22. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2021-1-18-22.

6. Крыжановский С.А., Зинченко В.П., Цорин И.Б. и др. К механизму антиаритмического действия соединения АЛМ-802: роль рианодиновых рецепторов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022;174(12):705-709. [Kryzhanovskii SA, Zinchenko VP, Tsorin IB, et al. To the mechanism of the antiarrhythmic action of compound ALM-802: the role of ryanodine receptors. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022;174(12):705-709. (In Russ.)]. doi: 10.47056/0365-9615-2022-174-12-705-709.

7. Yamamoto S, Matsui K, Sasabe M, Ohashi N. Effect of an orally active Na^+/H^+ exchange inhibitor, SMP-300, on experimental angina and myocardial infarction models in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2002;39(2):234-241. doi: 10.1097/00005344-200202000-00010.

8. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. // В кн: Токсикология новых промышленных веществ. Вып. 13. Л.: Медицина; 1973. С. 47-51. [Sidorov KK. On the classification of toxicity of poisons by parenteral routes of administration. In the book: Toxicology of new industrial substances. Issue 13. L.: Medicine. 1973; 47-51. (In Russ.)].



Нефропротективное действие ресвератрола при цисплатин-индуцированном остром повреждении почек

Нетребенко А. С., Покровский М. В.

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. В России ежегодно выявляется более 600 000 случаев заболеваний онкологией, в 18,9 % процесс диагностируется на IV стадии. Химиотерапия является основным методом лечения пациентов с метастатическими формами рака. Цисплатин — широко используемый химиотерапевтический препарат, однако он обладает значительной нефротоксичностью, которая часто приводит к редукции дозы или даже полному прекращению его приёма. Учитывая данный факт, профилактика развития цисплатин-индуцированного острого повреждения почек является крайне важной задачей.

Цель исследования: изучить нефропротективные свойства ресвератрола при цисплатин-индуцированном остром повреждении почек.

Материалы и методы. Исследование проведено в НИИ фармакологии живых систем Белгородского национального исследовательского университета на 40 белых лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г. Для моделирования острого почечного повреждения животным вводили цисплатин в дозе 5 мг/кг внутривенно в 1-й и 8-й день эксперимента. С целью нефропротекции ежедневно перорально давали ресвератрол в дозе 4 мг/кг или 12 мг/кг в течение 2 недель. Спустя 14 суток после первого введения цисплатина выполняли функциональные пробы и лабораторные исследования.

Результаты. Использование ресвератрола при цисплатин-индуцированном остром повреждении почек сопровождалось выраженными дозозависимыми нефропротективными эффектами, проявившимися в снижении уровня креатинина и мочевины плазмы крови, росте скорости клубочковой фильтрации, нормализации фракционной экскреции натрия и улучшении показателя уровня микроциркуляции в паренхиме почек.

Выводы. Результаты исследования демонстрируют перспективность использования ресвератрола с целью профилактики развития цисплатин-индуцированного острого повреждения почек.

Ключевые слова: ресвератрол; цисплатин-индуцированное острое повреждение почек; микроциркуляция

Для цитирования:

Нетребенко А. С., Покровский М. В. Нефропротективное действие ресвератрола при цисплатин-индуцированном остром повреждении почек. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):73–78. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-73-78>. EDN: TJPLHK

Поступила: 20.04.2026. **В доработанном виде:** 30.05.2026. **Принята к печати:** 15.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Nephroprotective activity of resveratrol in cisplatin-induced acute kidney injury

Aleksandr S. Netrebenko, Mikhail V. Pokrovsky

Belgorod National Research University, Belgorod, Russian Federation

Abstract

Background. In Russia, more than 600,000 cases of cancer are diagnosed annually, with 18.9 % of cases diagnosed at stage IV. Chemotherapy is the primary treatment for patients with metastatic cancer. Cisplatin is a widely used chemotherapeutic agent; however, it exhibits significant nephrotoxicity, often leading to dose reduction or even complete discontinuation of treatment. Given this, preventing the development of cisplatin-induced acute kidney injury is crucial.

The aim of the study was to investigate the nephroprotective properties of resveratrol in cisplatin-induced acute kidney injury.

Materials and methods. The study was conducted at the Research Institute of Pharmacology of Living Systems, Belgorod National Research University, using 40 male Wistar laboratory rats weighing 250–300g. To simulate acute kidney injury, animals were administered cisplatin at a dose of 5 mg/kg intraperitoneally on days 1 and 8 of the experiment. For nephroprotection, resveratrol was administered orally daily at a dose of 4 mg/kg or 12 mg/kg for 2 weeks. Functional tests and laboratory studies were performed 14 days after the first cisplatin administration.

Results. The use of resveratrol in cisplatin-induced acute kidney injury was accompanied by pronounced dose-dependent nephroprotective effects, manifested by a decrease in plasma creatinine and urea levels, an increase in glomerular filtration rate, normalization of fractional sodium excretion, and an improvement in renal parenchymal microcirculation.

Conclusions. The results of the study demonstrate the potential of using resveratrol to prevent the development of cisplatin-induced acute kidney injury.

Keywords: resveratrol; cisplatin-induced acute kidney injury; microcirculation

For citations:

Netrebenko AS, Pokrovsky MV. Nephroprotective activity of resveratrol in cisplatin-induced acute kidney injury. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):73–78. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-73-78>. EDN: TJPLHK

Received: 20.04.2026. **Revision received:** 30.05.2026. **Accepted:** 15.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Заболеваемость злокачественными новообразованиями в Российской Федерации остаётся на высоком уровне: более 600 тысяч впервые выявленных случаев в год [1]. У каждого пятого пациента (в 18,9 % случаев) рак диагностируют впервые уже на IV стадии [2]. К основным методам лечения распространённых и метастатических форм онкологии относится лекарственная противоопухолевая терапия.

Цисплатин — широко используемый химиотерапевтический препарат, который рекомендован для системного применения при большом количестве злокачественных новообразований, однако он обладает выраженной нефротоксичностью, сопровождающейся падением уровня микроциркуляции в паренхиме почек, что в некоторых случаях приводит к редукции дозы или даже полной его отмене [3]. Цисплатин вызывает внутриклеточные повреждения, приводящие к высвобождению DAMP (молекулярных паттернов, связанных с повреждением) — эндогенных молекул, являющихся лигандами для toll-подобных рецепторов [4]. Их активация, в свою очередь, приводит к синтезу хемокинов и других цитокинов, включая фактор некроза опухоли — альфа (TNF- α), который является ключевым медиатором воспаления. В результате иммунные клетки, особенно нейтрофилы и макрофаги, концентрируются в повреждённой области, запуская каскад патологических воспалительных реакций [5]. Эти события приводят к гибели эпителия проксимальных почечных канальцев, сопровождающейся апоптозом, развитием воспалительной реакции в паренхиме и повреждением сосудов, что приводит к ишемии почек [4]. Таким образом, разработка способов профилактики патологических изменений в паренхиме почек, обусловленного развитием каскада патологических воспалительных реакций на фоне цисплатин-индуцированного острого почечного повреждения, является крайне актуальной задачей [6].

Перспективным можно считать применение природных веществ, обладающих противовоспалительными свойствами, которые широко представлены на российском фармацевтическом рынке. Их ярким представителем является ресвератрол (транс-ресвератрол) — растительный фитоалексин, выделяемый из виноградного сока [7]. В ряде исследований он уже продемонстрировал положительный цитопротективный эффект при ишемическом повреждении нервной ткани, заболеваниях печени, заживлении послеоперационных ран [8–10]. Выявлена его высокая эффективность при профилактике развития преэклампсии [11]. Данные работы обосновывают изучение возможных нефропротективных свойств ресвератрола при цисплатин-индуцированном остром повреждении почек.

Цель работы. Изучить нефропротективные свойства ресвератрола при моделировании цисплатин-индуцированного острого повреждения почек крыс в эксперименте.

Материалы и методы / Materials and Methods

Исследование было выполнено в Научно-исследовательском институте фармакологии живых систем НИУ «БелГУ» со строгим соблюдением всех нормативно-правовых актов и руководящих принципов, регулирующих проведение экспериментальных исследований в Российской Федерации. Этические принципы обращения с лабораторными животными соответствуют “European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS N170”.

Исследование выполнено на 40 белых лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г. Для исследования взяты крысы без внешних признаков заболеваний, прошедшие карантинный режим (14 дней). Острое повреждение почек моделировалось путём внутрибрюшинного введения цисплатина (Фармасинтез-Норд, Россия) в дозе 5 мг/кг в 1-й и 8-й день эксперимента. С целью нефропротекции использовали ресвератрол (Sigma Aldrich, КНР) в дозах 4 мг/кг или 12 мг/кг, который вводили ежедневно внутривенно через зонд в виде суспензии в 0,05 % растворе карбоксиметилцеллюлозы натрия в течение 14 суток.

После рандомизации животных по массе были сформированы следующие экспериментальные группы по 10 животных в каждой:

- 1-я группа — интактные животные (ИЖ);
- 2-я группа — группа моделирования цисплатин-индуцированного острого почечного повреждения (цис-ОПП, Цисплатин 5 мг/кг, Цис);
- 3-я группа — цис-ОПП + ресвератрол в дозе 4 мг/кг/сутки (Цис+Ресв 4);
- 4-я группа — цис-ОПП + ресвератрол в дозе 12 мг/кг/сутки (Цис+Ресв 12).

Сбор мочи осуществлялся в течение 12 часов перед выведением животных из эксперимента.

Через 14 суток после первого введения цисплатина крыс вводили в общий наркоз с помощью внутрибрюшинного введения хлоралгидрата (Sigma-Aldrich, КНР) в дозировке 300 мг/кг массы тела. После наступления анестезии крыс перемещали в помещение с температурой окружающей среды не менее 25 °С, в положении на спине крысу фиксировали на специально оборудованном подогреваемом ветеринарном столе. После предварительной обработки операционного поля, заключающейся в механическом удалении волосяного покрова с кожи передней брюшной стенки с последующей обработкой зоны доступа раствором антисептика дважды, выполняли срединную лапа-

ротомию с разрезом по белой линии живота. Далее производили осторожную мобилизацию петель кишечника, вскрывали забрюшинное пространство, с обеих сторон выделяли почечное тело с элементами почечной ножки. Микроциркуляцию в корковом слое почек измеряли с помощью лазерного диагностического аппарата «ЛАЗМА СТ» (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия), включающего анализаторы периферического кровотока, лимфотока и коферментов ткани «ЛАЗМА-Д», периферический датчик прикладывали к средней части почки, не затрагивая область ворот. Значения показателей выражались в перфузионных единицах (ПЕд). Интраоперационно брали кровь из правого желудочка для биохимического анализа.

Клиренс эндогенного креатинина (скорость клубочковой фильтрации) рассчитывался по следующей формуле:

$$СКФ = \frac{\text{Креатинин мочи (мкмоль / л)} \times \text{объём мочи (мл)}}{\text{Креатинин сыворотки крови (мкмоль / л)} \times \text{время (мин)}};$$

Фракционная экскреция натрия (ФЭН) рассчитывалась следующим способом:

$$ФЭН = \frac{\text{натрий мочи (ммоль / л)} \times \text{креатинин крови (мкмоль / л)}}{\text{натрий сыворотки крови (ммоль / л)} \times \text{креатинин мочи (мкмоль / л)}} \times 100 \%$$

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на нормальность распределения. Определение типа распределения производилось с помощью критерия Шапиро–Уилка. При нормальном распределении подсчитывали среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего (m). Учитывая нормальное распределение результатов, для анализа межгрупповых различий использовали параметрический метод (t-критерий Стьюдента). Различия считаются статистически значимыми при значениях $p < 0,05$. Все расчёты произведены с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 10.0.

Результаты / Results

На фоне применения цисплатина в дозе 5 мг/кг был зафиксирован ряд изменений, соответствующих действующим критериям острого повреждения почек KDIGO, 2012. Показатели азотемии были следующие: креатинин плазмы крови — $124,0 \pm 8,6$ мкмоль/л, мочевины — $20,3 \pm 1,2$ ммоль/л. Ежедневное пероральное введение ресвератрола способствовало снижению значений азотистого обмена: в группе цис-ОПП + ресвератрол в дозе 4 мг/кг/сутки уровень креатинина составил $109,7 \pm 4,6$ мкмоль/л, мочевины — $19,8 \pm 1,1$ ммоль/л, а в группе цис-ОПП + ресвератрол в дозе 12 мг/кг/сутки зафиксирован уровень креатинина $91,0 \pm 5,0$ мкмоль/л, мочевины — $13,8 \pm 1,2$ ммоль/л (рис. 1).

У животных, получавших только цисплатин 5 мг/кг, выявлено значительное падение скорости клубочковой фильтрации до $0,08 \pm 0,01$ мл/мин и рост фракцион-

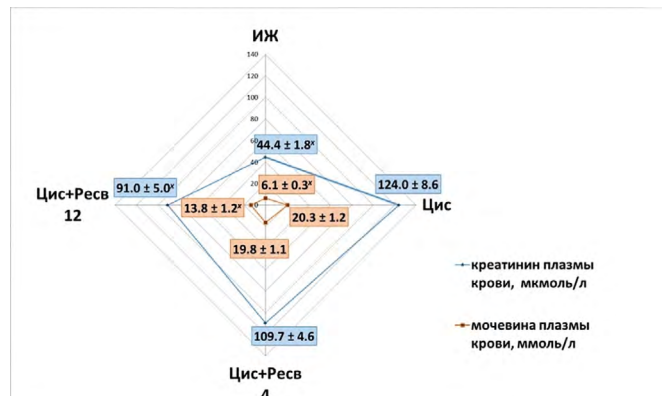


Рис. 1. Влияние ресвератрола на уровень креатинина и мочевины плазмы крови при моделировании цисплатин-индуцированного ОПП

Fig. 1. Effect of resveratrol on plasma creatinine and urea levels in a model of cisplatin-induced AKI

Примечания: ИЖ — группа intactных животных; Цис — группа цисплатин 5 мг/кг; Цис+Ресв 4 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 4 мг/кг; Цис+Ресв 12 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 12 мг/кг; $x - p < 0,05$ в сравнении с группой моделирования патологии. Note: ИЖ — group of intact animals; Цис — group of cisplatin 5 mg/kg; Цис+Ресв 4 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 4 mg/kg; Цис+Ресв 12 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 12 mg/kg; $x - p < 0,05$ in comparison with the group of animals with AKI.

ной экскреции натрия до $6,13 \pm 0,36$ % (рис. 2). Использование ресвератрола с целью нефропротекции способствовало нормализации обменных процессов в почечной паренхиме: в группе Цис+Ресв 4 скорость клубочковой фильтрации составила $0,12 \pm 0,01$ мл/мин,

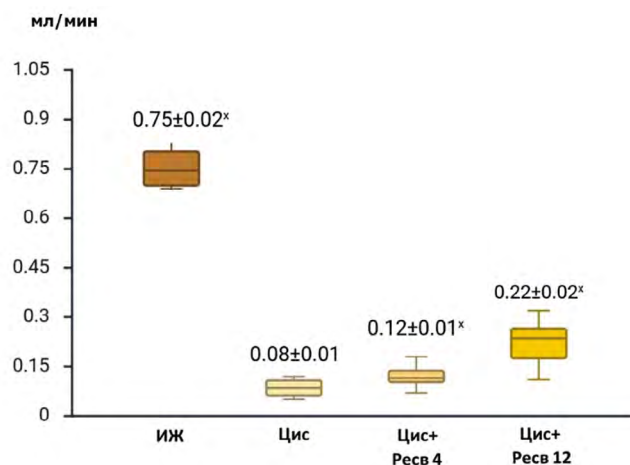


Рис. 2. Влияние ресвератрола на уровень скорости клубочковой фильтрации при моделировании цисплатин-индуцированного ОПП

Fig. 2. The effect of resveratrol on glomerular filtration rate in a model of cisplatin-induced AKI

Примечания: ИЖ — группа intactных животных; Цис — группа цисплатин 5 мг/кг; Цис+Ресв 4 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 4 мг/кг; Цис+Ресв 12 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 12 мг/кг; $x - p < 0,05$ в сравнении с группой моделирования патологии. Notes: ИЖ — group of intact animals; Цис — group of cisplatin 5 mg/kg; Цис+Ресв 4 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 4 mg/kg; Цис+Ресв 12 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 12 mg/kg; $x - p < 0,05$ in comparison with the group of animals with AKI.

а фракционная экскреция натрия — $5,13 \pm 0,24$ %. В группе Цис+Ресв 12 скорость клубочковой фильтрации составила $0,22 \pm 0,02$ мл/мин, а фракционная экскреция натрия — $3,76 \pm 0,30$ % (рис. 3).

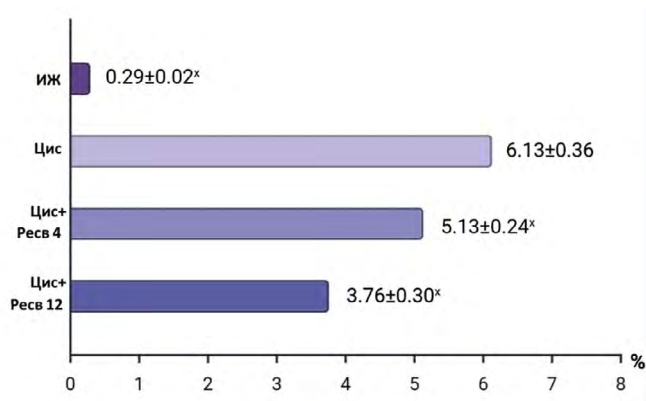


Рис. 3. Влияние ресвератрола на уровень фракционной экскреции натрия при моделировании цисплатин-индуцированного ОПП

Fig. 3. The effect of resveratrol on the level of fractional excretion of sodium in modeling cisplatin-induced AKI

Примечания: ИЖ — группа интактных животных; Цис — группа цисплатин 5 мг/кг; Цис+Ресв 4 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 4 мг/кг; Цис+Ресв 12 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 12 мг/кг; $x - p < 0,05$ в сравнении с группой моделирования патологии.
Notes: ИЖ — group of intact animals; Цис — group of cisplatin 5 mg/kg; Цис+Ресв 4 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 4 mg/kg; Цис+Ресв 12 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 12 mg/kg; $x - p < 0,05$ in comparison with the group of animals with AKI.

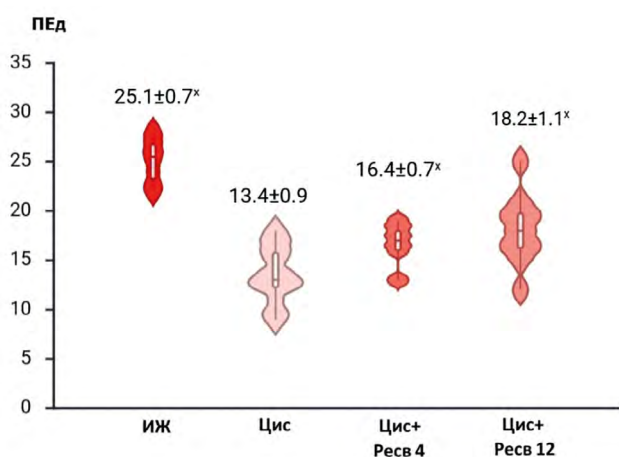


Рис. 4. Влияние ресвератрола на уровень микроциркуляции в паренхиме почки при моделировании цисплатин-индуцированного ОПП

Fig. 4. The effect of resveratrol on the level of microcirculation in the renal parenchyma in the modeling of cisplatin-induced AKI
Примечания: ИЖ — группа интактных животных; Цис — группа цисплатин 5 мг/кг; Цис+Ресв 4 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 4 мг/кг; Цис+Ресв 12 — группа цисплатин 5 мг/кг + ресвератрол 12 мг/кг; $x - p < 0,05$ в сравнении с группой моделирования патологии.
Notes: ИЖ — group of intact animals; Цис — group of cisplatin 5 mg/kg; Цис+Ресв 4 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 4 mg/kg; Цис+Ресв 12 — group of cisplatin 5 mg/kg + resveratrol 12 mg/kg; $x - p < 0,05$ in comparison with the group of animals with AKI.

При изучении уровня микроциркуляции в почечной паренхиме была выявлена следующая клиническая картина: в группе интактных животных уровень микроциркуляции составлял $25,1 \pm 0,7$ ПЕД, моделирование цисплатин-индуцированного повреждения почек сопровождалось статистически значимым снижением уровня микроциркуляции до $13,4 \pm 0,9$ ПЕД (рис. 4). Ежедневное внутрижелудочное введение природного фитоалексина транс-ресвератрола в дозе 4 мг/кг приводило к достоверному повышению уровня микроциркуляции до $16,4 \pm 0,7$ ПЕД, что статистически выше ($p < 0,05$), чем в группе «нелеченых» крыс. Ресвератрол в дозе 12 мг/кг оказывал более выраженное положительное влияние на уровень микроциркуляции, который составил $18,2 \pm 1,1$ ПЕД.

Обсуждение / Discussion

Развитие острого повреждения почек на фоне лекарственной противоопухолевой терапии цисплатином остаётся одним из наиболее грозных осложнений и требует к себе особого внимания. Природный фитоалексин ресвератрол является довольно перспективным фармакологическим агентом, который может быть использован при разработке модели комплексной нефропротекции, способной обезопасить почечную паренхиму от деструктивного действия цисплатина на различные элементы нефрона [12, 13].

Безусловным плюсом можно считать весьма обширную базу растений, из которых ресвератрол может быть получен [7, 14]. Он содержится в таких натуральных продуктах, как арахис и фисташки, а в меньших количествах — в чернике и голубике. Его часто обнаруживают и извлекают из винограда [15], кожура которого особенно богата ресвератролом, а также из вина. Свежевыжатый клюквенный сок, шоколад и продукты, содержащие какао-порошок, также содержат ресвератрол [16]. Все это объясняет его широкую распространённость и доступность для онкологических больных.

Ещё одним положительным фактором является то, что в ряде исследований была выявлена противоопухолевая активность ресвератрола [17]. Ресвератрол способен оказывать влияние на четыре основных стадии канцерогенеза, а именно на стадии инициации, промоции, прогрессирования и метастазирования [18, 19].

Актуальным является изучение механизмов цитопротективного действия ресвератрола. Следует особо отметить его выраженную антиоксидантную и противовоспалительную активность. На фоне введения цисплатина часто развивается острый канальцевый некроз, что сопровождается повышением концентрации ED1 (макрофаги/моноциты) и Т-лимфоцитов в корковом и наружном мозговом веществе по сравнению с образцами почек интактных животных [20]. Доказано, что применение ресвератрола в значительной степени снижало

экспрессию лиганда Fas, фактора некроза опухоли- α , каспазы-8 и белка X, ассоциированного с белком Bcl-2, регулятора апоптоза (Bax), а также повышало концентрацию антиапоптотических регуляторов: агониста рецептора смерти, взаимодействующего с доменом BH3 (Bid), и регулятора апоптоза Bcl-2 (Bcl-2) в ткани почечной паренхимы [21]. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ресвератрол ослабляет вызванное цисплатином острое повреждение почек за счёт инактивации рецептор-опосредованного апоптоза. Безусловно позитивным является свойство ресвератрола препятствовать чрезмерному накоплению цисплатина в ткани почек, что снижает его токсическое действие на элементы нефрона и способствует уменьшению клинических проявлений почечной недостаточности [22].

Благодаря своим антиоксидантным, противовоспалительным и прямым противоопухолевым свой-

ствам ресвератрол обладает большим потенциалом в качестве дополнительного средства к стандартной лекарственной противоопухолевой терапии [23, 24].

Заключение / Conclusion

Результаты исследования демонстрируют перспективность применения ресвератрола с целью профилактики развития цисплатин-индуцированного острого повреждения почек. Ресвератрол проявил дозозависимые ренопротективные свойства, подтверждённые достоверным снижением показателей азотистого обмена, нормализацией скорости клубочковой фильтрации и фракционной экскреции натрия. Следует особо отметить, что доза 12 мг/кг/сутки оказывала значительно более выраженный позитивный эффект, чем доза 4 мг/кг/сутки.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

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

Участие авторов

Нетребенко А. С. — разработка концепции поисково-аналитической работы, критический анализ источников литературы, написание обзорных разделов, моделирование острого повреждения почек, вызванного цисплатином, а также его коррекция при помощи ресвератрола; *Покровский М. В.* — критический анализ рукописи, внесение ценного интеллектуального содержания и утверждение окончательной версии. Все авторы внесли существенный вклад в научно-исследовательскую работу и подготовку статьи, прочитали и одобрили окончательную версию перед публикацией.

Соблюдение этических норм

Этические требования соблюдены. Текст не сгенерирован нейросетью.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interest

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' participation

Netrebenko AS — development of the concept of search and analytical work, critical analysis of literature sources, writing of review sections, modeling of cisplatin-induced acute kidney injury, and performed its correction with resveratrol; *Pokrovsky MV* — critical review of the manuscript, adding valuable intellectual content, and approval of the final version. All authors made a significant contribution to the research and analysis work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

Compliance with ethical standards

Ethical requirements are met. The text is not generated by a neural network.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Нетребенко Александр Сергеевич — к. м. н., ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: AlexNetrebenko@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2212-0508>

Aleksandr S. Netrebenko — PhD, Cand. Sci. (Med.), assistant of Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology of Belgorod National Research University, Belgorod, Russian Federation

Corresponding author

e-mail: AlexNetrebenko@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2212-0508>

Покровский Михаил Владимирович — д. м. н., профессор, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель Научно-исследовательского института фармакологии живых систем, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Российская Федерация
e-mail: mpokrovsky@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1493-3376>
РИНЦ SPIN-код: 9201-3580

Mikhail V. Pokrovsky — PhD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Head of Research Institute of Pharmacology of Living Systems, Belgorod National Research University, Belgorod, Russian Federation
e-mail: mpokrovsky@yandex.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1493-3376>
RSCI SPIN code: 9201-3580

Список литературы / References

1. Окладников С.М., Никитина С.Ю. Здоровоохранение в России. 2023: Стат.сб./Росстат. М., 3-46 2023. 179 с. [Okladnikov SM, Nikitina SY. Healthcare in Russia. 2023: Stat.sb./Rosstat. Moscow, 3-46 2023. (In Russ.)].
2. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна [и др.]. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. илл. Ed by AD Kaprin, et al. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena — filial FGBU «NMITs radiologii» Minzdrava Rossii, 2024. (In Russ.)]. ISBN 978-5-85502-298-8.
3. Бурнашева Е.В., Шатохин Ю.В., Снежко И.В., Мацуга А.А. Поражение почек при противоопухолевой терапии. *Нефрология*. 2018;22(5):17-24. [Burnasheva EV, Shatokhin YV, Snezhko IV, Matsuga AA. Kidney injury in cancer therapy. *Nephrology* (Saint-Petersburg). 2018;22(5):17-24 (In Russ.)]. doi: 10.24884/1561-6274-2018-22-5-17-24.
4. McSweeney KR, Gadanec LK, Qaradakh T, et al. Mechanisms of Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury: Pathological Mechanisms, Pharmacological Interventions, and Genetic Mitigations. *Cancers (Basel)*. 2021 Mar 29;13(7):1572. doi: 10.3390/cancers13071572.
5. Veiga-Matos J, Remião F, Motaes A. Pharmacokinetics and Toxicokinetics Roles of Membrane Transporters at Kidney Level. *J Pharm Pharm Sci*. 2020;23:333-356. doi: 10.18433/jpps30865.
6. Altındağ F, Ergen H. Sinapic acid alleviates cisplatin-induced acute kidney injury by mitigating oxidative stress and apoptosis. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2023 Jan;30(5):12402-12411. doi: 10.1007/s11356-022-22940-x.
7. Tian B, Liu J. Resveratrol: a review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. *J Sci Food Agric*. 2020 Mar 15;100(4):1392-1404. doi: 10.1002/jsfa.10152.
8. Zhu T, Wang L, Wang LP, Wan Q. Therapeutic targets of neuroprotection and neurorestoration in ischemic stroke: Applications for natural compounds from medicinal herbs. *Biomed Pharmacother*. 2022 Apr;148:112719. doi: 10.1016/j.biopha.2022.112719.
9. Tejada S, Capó X, Mascaró CM, et al. Hepatoprotective Effects of Resveratrol in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Pharm Des*. 2021;27(22):2558-2570. doi: 10.2174/1381612826666200417165801.
10. Hecker A, Schellnegger M, Hofmann E, et al. The impact of resveratrol on skin wound healing, scarring, and aging. *Int Wound J*. 2022 Jan;19(1):9-28. doi: 10.1111/iwj.13601.
11. Stupakova EG, Lazareva GA, Gureev VV, et al. L-NAME-induced Preeclampsia: correction of functional disorders of the hemostasis system with Resveratrol and Nicorandil. *Research Results in Pharmacology*. 2019;5(2):1-12. doi: 10.3897/rrpharmacology.5.35316.
12. Shchablykina OV, Kostina DA, Stoyanova NG, et al. Pharmacological correction of post-contrast acute kidney injury with a functional product based on fermented grape juice. *Research Results in Pharmacology*. 2024;10(4):61-65. doi: 10.18413/rrpharmacology.10.546.
13. Stupakova EG, Lazareva GA, Gureev VV. Correction of morphofunctional disturbances arising when modelling Preeclampsia with resveratrol and nicorandil. *Research Results: Pharmacology and Clinical Pharmacology*. 2018;4(1):59-71. doi: 10.3897/rrpharmacology.4.25528.
14. Riccio BVF, Spósito L, Carvalho GC, et al. Resveratrol isoforms and conjugates: A review from biosynthesis in plants to elimination from the human body. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2020 Dec;353(12):e2000146. doi: 10.1002/ardp.202000146.
15. Burns J, Yokota T, Ashihara H, et al. Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J Agric Food Chem*. 2002 May 22;50(11):3337-40. doi: 10.1021/jf0112973.
16. Hurst WJ, Glinski JA, Miller KB, et al. Survey of the trans-resveratrol and trans-piceid content of cocoa-containing and chocolate products. *J Agric Food Chem*. 2008 Sep 24;56(18):8374-8. doi: 10.1021/jf801297w.
17. Baek SH, Ko JH, Lee H, et al. Resveratrol inhibits STAT3 signaling pathway through the induction of SOCS-1: Role in apoptosis induction and radiosensitization in head and neck tumor cells. *Phytomedicine*. 2016 May 15;23(5):566-77. doi: 10.1016/j.phymed.2016.02.011.
18. Jang M, Cai L, Udeani GO, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. 1997 Jan 10;275(5297):218-20. doi: 10.1126/science.275.5297.218.
19. Harikumar KB, Kunnumakkara AB, Sethi G, et al. Resveratrol, a multitargeted agent, can enhance antitumor activity of gemcitabine *in vitro* and in orthotopic mouse model of human pancreatic cancer. *Int J Cancer*. 2010;127(2):257-268. doi:10.1002/ijc.25041. EDN: NYSWDJ
20. Do Amaral CL, Francescato HD, Coimbra TM, et al. Resveratrol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Arch Toxicol*. 2008 Jun;82(6):363-70. doi: 10.1007/s00204-007-0262-x.
21. Hao Q, Xiao X, Zhen J, et al. Resveratrol attenuates acute kidney injury by inhibiting death receptor mediated apoptotic pathways in a cisplatin induced rat model. *Mol Med Rep*. 2016 Oct;14(4):3683-9. doi: 10.3892/mmr.2016.5714.
22. Darwish MA, Abo-Youssef AM, Khalaf MM, et al. Resveratrol influences platinum pharmacokinetics: A novel mechanism in protection against cisplatin-induced nephrotoxicity. *Toxicol Lett*. 2018 Jun 15;290:73-82. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.03.023.
23. Jang JY, Im E, Kim ND. Mechanism of Resveratrol-Induced Programmed Cell Death and New Drug Discovery against Cancer: A Review. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 8;23(22):13689. doi: 10.3390/ijms232213689.
24. Ren B, Kwah MX, Liu C, et al. Resveratrol for cancer therapy: Challenges and future perspectives. *Cancer Lett*. 2021 Sep 1;515:63-72. doi: 10.1016/j.canlet.2021.05.001.



Оценка мутагенности и острой токсичности линейного замещённого глипролина — этилового эфира N-фенилацетилглицил-L-пролина

Колик Л. Г., Качалов К. С., Чайка З. В., Алексеев И. В., Захаров А. Д., Волкова А. В.,
Мирошкина И. А., Колясникова К. Н., Дурнев А. Д., Жанатаев А. К.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Введение. Циклический глицин-пролин обладает широким спектром фармакологической активности, включая анальгетическое действие. В рамках концепции создания пролекарства сконструирован и синтезирован линейный замещённый глипролин — этиловый эфир N-фенилацетилглицил-L-пролина (ГЗК-111). Обязательным этапом доклинического исследования является изучение безопасности лекарственных кандидатов.

Цель работы — оценка мутагенности и острой токсичности ГЗК-111.

Материалы и методы. При изучении способности индуцировать генные мутации в тесте Эймса индикаторные штаммы *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 и комбинацию штаммов *E. coli* pKM101/uvrA подвергали воздействию ГЗК-111 в концентрациях 1,6; 8; 40; 200; 1000 и 5000 мкг/мл. При оценке острой токсичности на беспородных мышах ГЗК-111 вводили однократно в дозах 500, 1000, 2000 и 3000 мг/кг внутривентально с последующей регистрацией сроков развития интоксикации и описанием клинической картины в течение 14 суток. Эвтаназию и патологоанатомическое вскрытие проводили на 15-е сутки.

Результаты. В тесте Эймса ГЗК-111 не показал мутагенного эффекта на использованных индикаторных штаммах, в условиях с метаболической активацией и без таковой. ГЗК-111 не вызывал гибели большинства экспериментальных животных. В клинической картине интоксикации отмечали обратимое нейротоксическое действие ГЗК-111, а также зависимое от дозы снижение массы тела. У выживших животных морфологическая картина внутренних органов не отличалась от наблюдаемой в контрольной группе.

Заключение. Линейный замещённый глипролин ГЗК-111 не проявлял мутагенной активности и может быть отнесён к 6 классу токсичности — от-носительно безвредного соединения (классификация Сидорова К. К., 1973).

Ключевые слова: ГЗК-111; мутагенность; острая токсичность; мыши, внутривентальное введение

Для цитирования:

Колик Л. Г., Качалов К. С., Чайка З. В., Алексеев И. В., Захаров А. Д., Волкова А. В., Мирошкина И. А., Колясникова К. Н., Дурнев А. Д., Жанатаев А. К. Оценка мутагенности и острой токсичности линейного замещённого глипролина — этилового эфира N-фенилацетилглицил-L-пролина. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):79–89. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-79-89>. EDN: TOUPQI

Поступила: 03.04.2026. **В доработанном виде:** 05.05.2026. **Принята к печати:** 17.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Assessment of mutagenicity and acute toxicity of linear substituted glyproline — ethyl ester of N-phenylacetylgllycyl-L-proline

Larisa G. Kolik, Kirill S. Kachalov, Zlata V. Chayka, Ivan V. Alekseev, Aleksey D. Zakharov, Anna V. Volkova, Irina A. Miroshkina, Kseniya N. Kolyasnikova, Andrey D. Durnev, Aliy K. Zhanataev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Cyclic glycine-proline has a wide range of pharmacological activities, including analgesic action. Within the framework of the concept of creating a prodrug, a linear substituted glyproline — ethyl ester of N-phenylacetylgllycyl-L-proline (GZK-111) was designed and synthesized. A mandatory stage of preclinical research is to study the safety of drug candidates.

The purpose of the work is to evaluate the mutagenicity and acute toxicity of GZK-111.

Materials and methods. When assessing the ability of GZK-111 to induce gene mutations in the Ames test, *S. typhimurium* strains TA98, TA100, TA1535, TA1537 and combination of *E. coli* strains pKM101/uvrA were treated with GZK-111 at concentrations of 1.6; 8; 40; 200; 1000, and 5000 µg/ml. When assessing acute toxicity in outbred mice, GZK-111 was administered intraperitoneally once at doses of 500, 1000, 2000 and 3000 mg/kg, followed by recording the terms of development of intoxication and describing the clinical signs for 14 days. Euthanasia and post-mortem examination were performed on the 15th day.

Results. In the Ames test, GZK-111 did not exhibit mutagenicity towards the indicator strains, either with or without metabolic activation. GZK-111 did not cause the death of most experimental animals. The clinical picture of intoxication showed a reversible neurotoxic effect of GZK-111, as well as a dose-dependent decrease in body weight. In the surviving animals, the morphological picture of the internal organs did not differ from that observed in the control group.

Conclusion. Linear substituted glyproline GZK-111 showed no mutagenic activity and can be classified as a relatively harmless compound in toxicity class 6 (classification by KK Sidorov, 1973).

Keywords: GZK-111; mutagenicity; acute toxicity; mice; intraperitoneal injection

For citations:

Kolik LG, Kachalov KS, Chayka ZV, Alekseev IV, Zakharov AD, Volkov AV, Miroshkina IA, Kolyasnikova KN, Durnev AD, Zhanataev AK. Assessment of mutagenicity and acute toxicity of linear substituted glyproline — ethyl ester of N-phenylacetylgllycyl-L-proline. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):79–89. (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-79-89>. EDN: TOUPQI

Received: 03.04.2026. **Revision received:** 05.05.2026. **Accepted:** 17.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

В последнее время короткие пептиды с низкой молекулярной массой, высокой активностью и специфичностью, лёгкой абсорбцией, высоким профилем безопасности при низкой токсичности привлекают большое внимание в биомедицинских исследованиях. Их структурное разнообразие в сочетании с конформационной гибкостью используются для контроля взаимодействия с определёнными рецепторными мишенями при патологических состояниях, в том числе связанных с нейродегенеративными изменениями [1, 2]. Низкомолекулярные биоактивные пептиды, сочетающие преимущества малых молекул и белковой терапии, но лишённые недостатков последней, могут стать перспективным направлением фармакологических исследований.

Циклический глицин-пролин (цикло-L-пролил-глицин, ЦПГ) образуется из трипептида глицин-пролин-глутамата после протеолитического расщепления инсулиноподобного фактора роста-1 и нормализует функцию последнего при патологических состояниях за счёт регуляции его биодоступности [3]. Циклическая структура придаёт этому дипептиду устойчивость к ферментативному расщеплению и большую липофильность [3]. ЦПГ, обнаруженный в головном мозге крыс в качестве эндогенного соединения [5], обладает широким спектром фармакологической активности, включая нейропротекторное [6] и анальгетическое [7] действие. Высокий уровень безопасности и благоприятное воздействие ЦПГ на ЦНС определяют коммерческое применение циклического дипептида, особенно при терапии неврологических расстройств [8, 9].

В рамках концепции создания пролекарства сконструирован и синтезирован линейный замещённый глипролин — этиловый эфир N-фенилацетилглицил-L-пролина (соединение ГЗК-111), содержащий аминокислотную последовательность Gly-Pro, способствующую циклизации молекулы [10]. Согласно гипотезе, соединение ГЗК-111 может метаболизироваться с образованием ЦПГ и проявлять спектр эффектов, характерный для последнего, что нашло подтверждение в результатах экспериментальных исследований [11, 12]. При системном введении ГЗК-111 подвергается интенсивной биотрансформации, при этом один из его метаболитов ЦПГ более чем в 2 раза дольше циркулирует в системном кровотоке животных, а его концентрации в плазме крови в 50–70 раз выше концентраций исходного соединения [13] (рис. 1). Другими продуктами биотрансформации ГЗК-111 установлены N-фенилацетилглицил-L-пролин и фенилуксусная кислота (альфа-толуиловая кислота) [12].

Цель работы — оценить мутагенность и острую токсичность ГЗК-111 при парентеральном введении у мышей.

Материалы и методы / Materials and methods

Штаммы. Исследование выполнено на штаммах *S.typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 и комбинации штаммов *E.coli* pKM101/uvrA с использованием набора Ames MPF™ PENTA I (Xenometrix AG, Швейцария). Набор использованных штаммов бактерий соответствовал требованиям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных

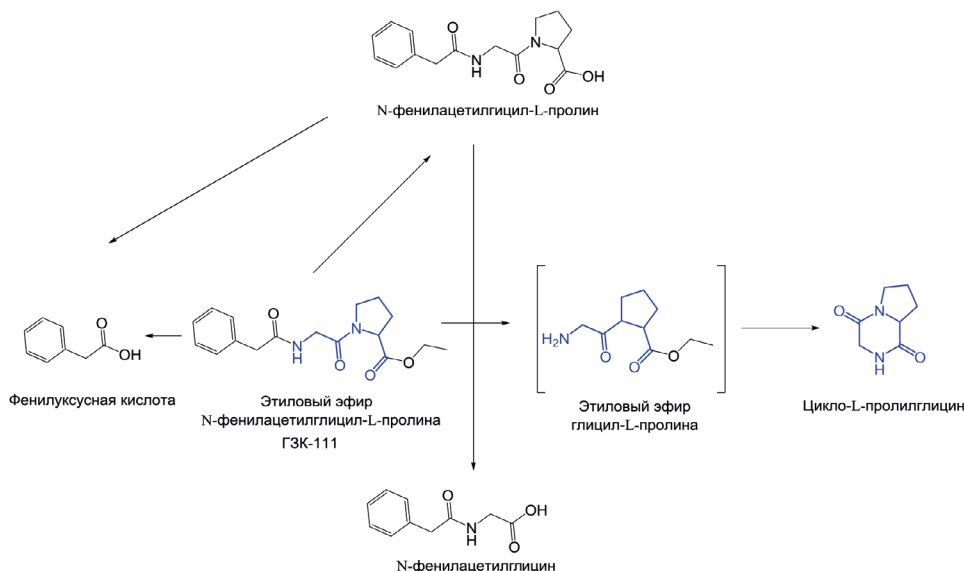


Рис. 1. Гипотетическая схема образования цикло-L-пролилглицина (ЦПГ) в результате метаболизма этилового эфира N-фенилацетил-глицил-L-пролина (ГЗК-111) (с изм. [10])

Fig. 1. Hypothetical scheme of cyclo-L-prolylglycine (CPG) formation as a result of N-phenylacetyl-glycyl-L-proline ethyl ester metabolism (GZK-111) (with ed. [10])

средств» (2012 г.) и руководства по оценке химических соединений OECD 471.

Животные. Исследование проведено на 60 половозрелых белых беспородных мышах ($n = 30$, самки; $n = 30$, самцы, масса 18–20 г, филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России). Животных содержали в виварии в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» группами по 6 особей в полипропиленовых клетках Т/3 (габариты 370×200×150 мм) на древесном подстиле в контролируемых условиях окружающей среды (18–26 °C и 30–70 % относительная влажность). В комнатах содержания животных поддерживался 12-часовой цикл освещения и 8–10-кратная смена объёма воздуха в час. Комбикорм для лабораторных животных ПК-120-191 (ООО «МЭСТ», Москва, Россия) и фильтрованная водопроводная вода предоставлялись животным *ad libitum*. Эксперименты были одобрены Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, соответствующими правилам Европейской Конвенции ETS 123. Количество животных в каждой группе было не менее 6, чтобы оценить характер, частоту и выраженность проявления токсических эффектов и рассчитать LD_{50} , LD_{16} , LD_{84} . Группы были сформированы методом случайного отбора с использованием массы тела в качестве ведущего признака (разброс по исходной массе между и внутри групп в пределах одного пола не превышал ± 10 %).

Препараты. Использовали соединение ГЗК-111 (этиловый эфир N-фенилацетилглицил-L-пролин) в виде субстанции (серия 459).

Тест Эймса. Ночные культуры выращивали в течение 14–16 ч на ростовой среде при 37 °C и постоянном перемешивании при 250 об/мин на орбитальном шейкере-инкубаторе (KS4000i, «IKA», Германия). Культуры использовали для тестирования, если их плотность по показателю $OD_{600} \times 10$ составила $> 2,0$.

Ночные культуры бактерий подвергали воздействию соединения ГЗК-111 в концентрациях 1,6; 8; 40; 200; 1000 и 5000 мкг/мл, а также позитивный и негативный контроли в течение 90 мин в среде, содержащей гистидин или триптофан в количестве, достаточном для прохождения двух клеточных делений. Через 90 мин экспонированные культуры разводили в рН-индикаторной среде, не содержащей гистидин или триптофан, разливали по 48 лункам 384-луночной микротитровальной планшеты и инкубировали при 37 °C в течение 48 ч. При этом бактерии, претерпевшие реверсию к прототрофности по гистидину или триптофану, формируют колонии. Продукты метаболизма бактерий снижают значение рН индикаторной среды, что приводит к изменению её цвета в лунках на жёлтый.

В экспериментах без метаболической активации в качестве положительного контроля для штамма TA98 использовали 2-нитрофлуорен (2 мкг/мл), для штамма

TA100 — N-оксид-4-нитрохинолина (0,1 мкг/мл); для штамма TA1535 — N4-аминоцитидин (100 мкг/мл), для TA1537 — 9-аминоакридин (15 мкг/мл), для комбинации штаммов *E.coli* pKM101/uvrA — N-оксид-4-нитрохинолина (2 мкг/мл). В экспериментах с метаболической активацией S9 для всех штаммов *S.typhimurium* использовали 2-аминоантрацен в концентрации 5 мкг/мл, для комбинации штаммов *E.coli* pKM101/uvrA — 2-аминофлуорен в концентрации 200 мкг/мл. В качестве негативного контроля во всех сериях экспериментов использовали диметилацетамид в конечной концентрации в среде для экспозиции 4 %.

Для каждой концентрации тестируемого соединения проводили подсчёт количества лунок с ревертантами колониями, полученные показатели сравнивались с показателем для негативного (растворитель) контроля. Результаты эксперимента учитывали при наличии стандартного ответа во всех вариантах позитивного и негативного контроля. Бактерицидный (цитотоксический) эффект оценивали по отсутствию позитивных лунок на высших тестируемых концентрациях препарата. Обработку полученных данных проводили с использованием двустороннего биномиального теста в файле таблиц для калькуляций в программной среде MS Excel (*Calculation Sheet for Ames II and Ames MPF data*). На основании результатов анализа определяли способность тестируемого соединения индуцировать генные мутации у *S.typhimurium* и *E.coli*.

Оценка острой токсичности. Наблюдение за животными проводили до начала введения ГЗК-111, затем в ходе эксперимента. В первые 8 часов после введения ГЗК-111 животные находились под постоянным наблюдением, далее их осматривали 2 раза в день, утром и вечером, на протяжении 14 суток для выявления отклонений во внешнем виде и смертности. В ходе процедуры проводился осмотр в клетке, осмотр в руках и осмотр на поверхности. Осмотр в клетке позволял охарактеризовать позы, признаки самотравмирования, а также наличие/отсутствие конвульсий, тремора, аномальных движений, птоза, диареи. Осмотр в руках был необходим для регистрации реактивности, слезотечения, саливации, пиломоторного рефлекса, состояния шерсти, аномалий дыхания, цвета кожи и слизистых, экзофтальма, мышечного тонуса. С помощью осмотра на поверхности оценивали реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, изменение исследовательского поведения и двигательной реакции, интенсивность и характер двигательной активности, наличие неврологического дефицита (нарушение координации движений, тремор и судороги), эмоциональную напряженность и груминг, частоту и глубину дыхания, ритм сердечных сокращений.

В течение эксперимента фиксировали массу тела животных и суточное потребление корма и воды. Массу тела животных определяли перед введением ГЗК-111, первую неделю ежедневно, в дальнейшем — один раз в неделю. Суточное потребление корма и воды реги-

стрировали до введения ГЗК-111, в 1-е, на 7-е и 14-е сутки и регистрировали суммарно по группе (клетке) посредством взвешивания оставшегося в кормушке корма и определения объёма выпитой из поилки воды. На 15-е сутки мышей опытных и контрольной групп выводили из эксперимента способом дислокации шейных позвонков с последующим их патологоанатомическим вскрытием в соответствии с ранее описанной методикой [14].

Суспензию ГЗК-111 готовили *ex tempore* дисперсионным методом на 1 % растворе крахмала с помощью магнитной мешалки MR Hei-Standard (Германия). ГЗК-111 вводили мышам однократно в дозах 500, 1000, 2000 и 3000 мг/кг внутрибрюшинно (в/б). Последняя максимальная дозировка соответствовала условию достижения максимального объёма и концентрации соединения при в/б введении. В качестве контрольного объекта использовали 1 % раствор крахмала, который вводили животным контрольной группы в объёме 1 мл, в/б.

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012 г.). Характеристики животных до и после исследования представлены в таблицах в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Проверку нормальности распределения первичных данных по каждой группе животных осуществляли с помощью критерия Колмогорова. Результаты считались статистически значимыми, если значение *p* было меньше или равным 0,05.

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

Тест Эймса

Результаты оценки мутагенной активности соединения ГЗК-111 в тесте Эймса представлены в табл. 1. Количество ревертантных лунок в контроле с раство-

Таблица 1

Результаты оценки мутагенной активности ГЗК-111 в тесте Эймса

Table 1

Results of the assessment of GZK-111 mutagenicity in the Ames test

Штамм/условия эксперимента	TA98		TA100		TA1535
	–S9	+S9	–S9	+S9	–S9
Негативный контроль	0,3±0,5*	1,5±1,1	7,8±3,4	8,2±1,7	0,8±0,8
ГЗК-111 (мкг/мл)					
1,6	1,0±1,0	1,3±0,6	5,3±3,5	6,3±1,5	1,0±1,0
8	1,0±1,0	1,7±1,2	6,3±2,5	7,0±2,0	1,3±0,6
40	1,7±0,6	1,3±1,5	8,3±5,7	10,3±1,2	1,7±1,5
200	0,3±0,6	2,0±1,0	9,7±2,5	8,3±6,5	1,3±1,2
1000	1,0±1,7	1,7±0,6	6,7±1,5	7,0±1,0	2,0±1,0
5000	1,0±1,0	1,7±1,5	5,7±2,3	4,3±2,3	1,0±1,0
Позитивный контроль	41,3±1,4*	48,0±0,0*	48,0±0,0*	47,5±0,8*	48,0±0,0*
Штамм/условия эксперимента	TA1535	TA1537		pKM101/uvrA	
	+S9	–S9	+S9	–S9	+S9
Негативный контроль	2,3±2,0	2,0±1,4	1,2±1,6	1,3±1,5	3,3±1,5
ГЗК-111 (мкг/мл)					
1,6	0,7±0,6	0,3±0,6	1,3±1,5	3,3±2,3	4,0±3,5
8	1,3±0,6	1,0±1,0	1,3±0,6	2,0±2,0	2,3±2,5
40	2,7±1,5	0,7±1,2	1,7±0,6	2,0±1,0	3,3±0,6
200	2,3±1,5	1,7±2,1	0	3,7±0,6	3,7±0,6
1000	2,3±2,5	1,0±1,0	0,7±1,2	1,0±1,0	2,0±1,0
5000	0,7±0,6	2,0±1,0	0,7±1,2	3,3±1,2	2,0±1,7
Позитивный контроль	29,2±4,2*	48,0±0,0*	32,3±2,0*	35,3±0,6*	32,3±0,6*

Примечания: * — среднее количество ревертантных лунок (m±SD); * — *p* ≥ 0,99 по сравнению с негативным контролем (двусторонний биномиальный тест); –/+S9 — без и с метаболической активацией соответственно.
Notes: * — mean number of revertant wells (m±SD); * — *p* ≥ 0.99 compared with negative control (two-tailed binomial test); –/+S9 — without and with metabolic activation, respectively.

рителем в вариантах с метаболической активацией и без активации было в пределах колебаний спонтанного уровня для использованных штаммов [15]. Ответ штаммов на стандартные мутагены был в пределах обычных уровней [15].

Таким образом, ГЗК-111 во всех тестируемых концентрациях не продемонстрировал мутагенного эффекта на штаммах *S.typhimurium* TA98, TA100, TA1535 и TA1537 и на комбинации штаммов *E.coli* pKM101/uvrA, в вариантах с метаболической активацией и без таковой.

Оценка острой токсичности у мышей

Соединение ГЗК-111 при введении в дозах 500, 1000 и 2000 мг/кг, в/б, не вызывает гибели животных. Сразу после введения ГЗК-111 в указанных дозировках животные были активны, у многих наблюдался груминг.

В экспериментальной группе мышей ($n = 6$), которым вводили соединение ГЗК-111 в дозе 3000 мг/кг, пала самка № 4. Гибель фиксировали через 18 минут после введения. Также у отдельных самок данной группы фиксировали неврологические нарушения — у самки № 3 на 21-й минуте наблюдали кратковременные клонические судороги с последующей регистрацией рефлекса Штрауба, у самки № 1 на 8-й минуте отмечали выраженное угнетение двигательной активности (рис. 2).

Через 0,5 мин (3000 мг/кг) — 3 мин (500 мг/кг) двигательная активность снижалась, мыши сидели в углах индивидуальных камер наблюдения, сгорбившись, бока втянуты. Периодически животные ложились на живот, вытягивали и выгибали спину (рис. 3). Дыхание было частым и поверхностным. Видимые слизистые и кожные покровы были бледными.

Восстановление активности фиксировали через 7 мин (500 мг/кг) — 20 мин (3000 мг/кг), оно было периодичным и вновь сменялось непродолжительным

угнетением (1–5 мин). В период активности у мышей, которым вводили ГЗК-111 в дозах 2000 и 3000 мг/кг, во время перемещения по камере наблюдалось нарушение координации движения. Мыши были сгорблены, их шерсть была взъерошена. Не отмечено нарушений ушного и корнеального рефлексов. Когда через 8 часов животных перемещали в клетки группового содержания, двигательная активность восстановилась у части мышей. Однако мыши оставались сгорбленными и взъерошенными, бока у большинства втянуты. Животные при ходьбе вытягивали лапы, чтобы не касаться животом пола. У самок, получивших ГЗК-111 в дозе 500 мг/кг, наблюдались гиперактивность, агрессивность и вокализация, а после введения соединения в дозе 3000 мг/кг у самки № 1 регистрировали повышенную реакцию на звуковые раздражители, у самца № 5 — тремор.

В дальнейшем состояние опытных мышей постепенно нормализовалось, уже со второго дня и до окончания эксперимента животные были активны, охотно потребляли корм, пили воду. Поведение экспериментальных мышей в этот период наблюдения не отличалось от поведения животных контрольной группы.

После введения соединения ГЗК-111 в дозах 500, 1000, 2000 и 3000 мг/кг в первые сутки эксперимента у всех мышей наблюдалось дозозависимое снижение прироста массы тела, по сравнению с контролем — у самок на 44 % (500 мг/кг) и в 9 раз (3000 мг/кг), у самцов в 4 раза (500 мг/кг) и в 25 раз (3000 мг/кг). Опытные самки и самцы, которым вводили ГЗК-111 в максимальной дозе, в среднем потеряли от 9 до 13 % массы тела соответственно. Хотя масса животных со второго дня наблюдения стала постепенно восстанавливаться, показатели прироста массы тела имели отрицательное



Рис. 2. Самка № 1 через 8 минут после введения ГЗК-111 в дозе 3000 мг/кг

Fig. 2. Female No. 1 eight minutes after GZK-111 injection at a dose of 3000 mg/kg



Рис. 3. Самка № 5 через 7 минут после введения ГЗК-111 в дозе 1000 мг/кг

Fig. 3. Female No. 5 seven minutes after GZK-111 injection at a dose of 1000 mg/kg

значение — у самок до 5 суток (2000 и 3000 мг/кг), у самцов до 3 суток (3000 мг/кг). К окончанию 1-й недели наблюдения за массой тела и её приростом, значимые различия с контролем регистрировали у самок в группах, которым вводили ГЗК-111 в дозах 2000 и 3000 мг/кг, у самцов — в дозах 1000, 2000 и 3000 мг/кг. На 7-й день данный показатель был ниже, чем в контрольной группе у самок в среднем на 76 % (2000 и 3000 мг/кг), у самцов в 3 раза (3000 мг/кг). К окончанию эксперимента показатели прироста массы опытных животных имели значимые различия с контролем — у самок с ГЗК-111 в дозе 2000 мг/кг на 37 %, у самцов с ГЗК-111 в дозе 3000 мг/кг на 42 % (табл. 2).

Наблюдение за потреблением корма животными позволило выявить следующее. Самки после введения соединения ГЗК-111 в дозах 500, 1000, 2000 и 3000 мг/кг в течение первых суток эксперимента, так же как и самцы после введения ГЗК-111 в дозах 2000 и 3000 мг/кг потребляли значимо меньше корма, чем мыши контрольной группы. В то же время потребление корма самцами, которым вводили соединение в дозах 500 и 1000 мг/кг, был больше или на уровне контроля соответственно.

На 7-е сутки потребление корма опытными мышами не имело закономерных отличий от данных контрольной группы. Однако к окончанию эксперимента у самок, как и в первые сутки, сохранились различия с показателями, наблюдаемыми у контрольных животных. Приём корма у самцов на 14-е сутки сохранялся на

уровне контрольных значений, за исключением групп, которым вводили ГЗК-111 в дозах 500 и 1000 мг/кг. Потребление корма самцов этих групп был выше контрольных значений на 42 и 18 % соответственно (табл. 3).

Установлено, что показатели потребления воды, регистрируемые у самок мышей после введения ГЗК-111 в дозах 500, 1000 и 2000 мг/кг, на 1-е и 7-е сутки эксперимента были значимо ниже данных контрольной группы. Показатели потребления воды самками, которым вводили ГЗК-111 в дозе 3000 мг/кг, в 1-е и на 14-е сутки регистрации не имели различий с контролем, а на 7-е сутки наблюдения животные этой группы потребляли меньше воды по сравнению с контролем. К окончанию эксперимента опытные самки пили значимо больше воды по сравнению с животными контрольной группы, за исключением мышей, которым вводили ГЗК-111 в дозе 3000 мг/кг. Потребление воды самцами после введения ГЗК-111 дозах 500, 1000 и 2000 мг/кг в течение всего эксперимента было выше контрольных значений. Самцы, которым вводили соединение в дозе 3000 мг/кг (за исключением первых суток), пили в 2–3 раза больше воды, чем мыши контрольной группы (см. табл. 3).

В результате патологоанатомического исследования животных, выживших и выведенных из эксперимента спустя 14 суток после однократного введения ГЗК-111 в дозах 500, 1000, 2000 и 3000 мг/кг в/б, установлено, что морфологическая картина их внутренних органов не отличается от таковой, наблюдаемой у контрольных мышей.

Таблица 2

Динамика массы и её прироста у самцов и самок мышей в течение двух недель после перорального введения соединения ГЗК-111

Table 2

Dynamics of body mass and its increase in male and female mice over two weeks after oral administration of GZK-111 compound

Группа, пол животных	До введения соединения	1-е сутки масса (г)	Прирост массы (%)	7-е сутки масса (г)	Прирост массы (%)	14-е сутки масса (г)	Прирост массы (%)
0 мг/кг ♀	22,9±0,7	22,7±0,7	-0,7±0,3	25,4±0,6*	11,1±0,9	26,3±0,7*	14,8±0,9
500 мг/кг ♀	22,2±0,4	21,3±0,3*	-3,9±0,8*	24,1±0,4*	8,7±0,7	25,9±0,5*	17,0±1,4
1000 мг/кг ♀	23,9±0,3	22,9±0,6*	-4,6±1,5*	25,7±0,8*	7,4±2,6	26,9±1,0*	12,1±3,2
2000 мг/кг ♀	22,8±0,7	20,7±0,5*	-9,4±0,6*	23,6±0,9	3,4±2,1*	25,0±1,1*	9,3±2,0*
3000 мг/кг ♀	22,0±0,8	19,9±0,9*	-9,7±2,3*	22,5±1,5	2,0±2,6*	24,0±1,7	8,7±4,5
0 мг/кг ♂	24,7±1,3	24,5±1,2	-0,5±0,5	28,7±1,6*	16,4±1,5	32,2±1,3*	31,0±3,5
500 мг/кг ♂	23,4±0,3	23,0±0,4*	-2,0±0,9	26,4±0,5*	12,5±1,5	28,6±0,8*	22,1±2,7
1000 мг/кг ♂	25,4±0,3	24,5±0,4*	-3,7±1,1	28,0±0,5*	9,9±2,1	30,7±0,8*	20,9±3,0
2000 мг/кг ♂	25,2±1,2	23,1±0,9	-8,0±1,4*	27,8±1,5*	10,5±1,8	30,0±2,5*	18,2±6,1
3000 мг/кг ♂	24,5±1,3	21,3±1,3*	-12,8±1,8*	25,8±1,8	5,1±3,1*	28,9±1,9*	18,0±3,7*

Примечания: Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Число животных в каждой группе — 6. Оценку значимости различий между выборочными средними осуществляли при условии, что статистическая совокупность включает не менее 4 наблюдений (числовых значений). * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных; * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с исходными данными.

Notes: Data are presented as mean $\pm$ standard error of the mean. The number of animals in each group is 6. Assessment of the significance of differences between sample means was conducted, assuming that the statistical population includes at least 4 observations (numeric values). * — Statistically significant difference ($p < 0.05$) compared to the control group of animals; * — Statistically significant difference ($p < 0.05$) compared to initial data.

Таблица 3

Оценка суточного потребления воды и корма мышей в течение двух недель после внутрибрюшинного введения соединения ГЗК-111

Table 3

Evaluation of daily water and feed intake in mice over two weeks after intraperitoneal administration of GZK-111

Группа, Пол животных	Корм, г				Вода, мл			
	До введения	1-й день	7-й день	14-й день	До введения	1-й день	7-й день	14-й день
0 мг/кг ♀	5,8±0,1	4,6±0,1*	5,2±0,1*	7,4±0,1*	10,0±0,2	6,0±0,1*	8,0±0,1*	6,0±0,0*
500 мг/кг ♀	5,3±0,1*	4,0±0,1**	6,7±0,1**	5,7±0,1**	8,3±0,1*	5,0±0,1**	5,0±0,1**	8,9±0,1*
1000 мг/кг ♀	6,0±0,1	4,2±0,1**	7,0±0,2**	4,8±0,1**	6,7±0,1	5,0±0,1**	6,7±0,2*	6,7±0,2*
2000 мг/кг ♀	5,7±0,2	1,5±0,0**	4,8±0,1**	6,0±0,2**	6,7±0,2	3,3±0,1**	6,7±0,2*	6,7±0,2*
3000 мг/кг ♀	5,0±0,2*	2,2±0,1**	4,6±0,3	5,0±0,3*	8,4±0,4*	6,0±0,3*	6,0±0,3**	6,0±0,3*
0 мг/кг ♂	6,7±0,3	3,7±0,2*	4,8±0,2*	6,2±0,3*	8,3±0,4	3,3±0,2*	1,7±0,1*	3,3±0,2*
500 мг/кг ♂	5,7±0,1*	5,0±0,1**	5,2±0,1*	8,8±0,2**	8,3±0,1	8,3±0,1*	8,3±0,2*	8,3±0,2*
1000 мг/кг ♂	6,5±0,1	4,0±0,1*	6,5±0,1*	7,3±0,1**	8,3±0,1	5,0±0,1**	5,8±0,1**	8,3±0,1*
2000 мг/кг ♂	6,5±0,3	2,3±0,1**	6,8±0,3**	6,3±0,2	8,3±0,4	5,0±0,2**	8,3±0,3*	6,7±0,2**
3000 мг/кг ♂	5,7±0,3	1,3±0,1**	5,5±0,3	5,5±0,4*	8,3±0,5	1,7±0,1**	6,7±0,4**	8,3±0,6*

Примечания: Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Число животных в каждой группе — 6. Оценку значимости различий между выборочными средними осуществляли при условии, что статистическая совокупность включает не менее 4 наблюдений (числовых значений). * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных; ** — статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с исходными данными.
Notes: Data are presented as mean $\pm$ standard error of the mean. The number of animals in each group is 6. Assessment of the significance of differences between sample means was conducted, assuming that the statistical population includes at least 4 observations (numeric values). * — statistically significant difference ($p < 0.05$) compared to the control group of animals; ** — statistically significant difference ($p < 0.05$) compared to initial data.

Обязательным этапом при доклинических исследованиях новых соединений является изучение лекарственной безопасности с целью выявления потенциальных рисков для здоровья, определения безопасных доз и уровней риска.

Как правило, короткие пептиды характеризуются низкой токсичностью, что обусловлено безопасными метаболитам-аминокислотам и ограниченной возможностью накопления в организме. Например, синтетический аналог метаболита инсулиноподобного фактора роста-1 соединение NNZ-2591 в ходе 2-й фазы многоцентрового открытого клинического исследования у детей и подростков с синдромом Фелана-Макдермид, редкого генетического нарушения развития нервной системы, показал хорошую переносимость, при этом большинство побочных эффектов были лёгкими или умеренно выраженными [16].

В исследованиях *in vitro* при оценке влияния на пролиферацию и выживаемость эмбриональных стволовых клеток мыши экспериментально доказано, что содержащие пролин короткие пептиды и пептидные препараты селанк (треонил-лизил-пролил-аргинил-пролил-глицил-пролил-диацетат) и семакс (метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин) не оказывают токсического воздействия [17]. Таким образом, полученные результаты исследований острой токсичности линейного замещённого аналога циклического глипролина при однократном внутрибрюшинном введении мышам обоего пола согласуются с данными литературы о профиле безопасности

коротких пептидов и собственными исследованиями оригинальных лекарственных средств, разработанных на основе эндогенных регуляторных пептидов [18, 19], что определяет перспективность их дальнейшей разработки для внедрения в клиническую практику.

Заключение / Conclusion

Соединение ГЗК-111 не проявляет мутагенной активности на индикаторных штаммах *S.typhimurium* TA98, TA100, TA1535 и TA1537 и на комбинации штаммов *E.coli* pKM101/uvrA, в вариантах с метаболической активацией S9 и без таковой. При оценке острой токсичности соединения ГЗК-111 на беспородных мышках обоего пола при внутрибрюшинном введении в дозах 500, 1000, 2000 и 3000 мг/кг определение средней смертельной дозы не представлялось возможным из-за отсутствия гибели подавляющего большинства животных в условиях достижения предельной концентрации и максимально допустимого объёма для инъекции. Неврологические нарушения у части животных и гибель одного из них обращают внимание на возможную индивидуальную непереносимость соединения, использованного в дозировке максимально возможной к внутрибрюшинному введению.

Совокупность полученных данных позволяет отнести соединение ГЗК-111 к 6 классу токсичности — относительно безвредные соединения (по классификации Сидорова К. К., 1973 г.).

Ограничения исследования / Study limitations

Эксперименты проведены в строгом соответствии с регламентированной методологией доклинической оценки безопасности лекарственных средств.

Благодарности / Acknowledgments

Авторы выражают благодарность Алексеевой С. В. и Сорокиной А. В. за техническую поддержку, Румянцева Н. Д. за помощь в подготовке статьи к печати.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить в связи с публикацией данной статьи.

Участие авторов

Коллик Л. Г. — разработка общей концепции статьи, анализ результатов и источников, написание первоначального текста, научное редактирование; *Качалов К. С.* — подготовка растворов соединения и его введение животным, ежедневный осмотр, регистрация признаков интоксикации; *Чайка З. В.* — оценка мутагенной активности в тесте Эймса; *Алексеев И. В., Волкова А. В.* — ежедневный осмотр животных, фиксация анализируемых параметров; *Захаров А. Д.* — обработка первичного материала по оценке острой токсичности, статистический анализ; *Мирошкина И. А.* — планирование дизайна эксперимента по оценке острой токсичности, патоморфологический анализ, доработка текста и научное редактирование статьи; *Колясникова К. Н.* — синтез и характеристика исследуемого соединения; *Дурнев А. Д.* — концептуализация исследования, общее руководство, утверждение финальной версии рукописи; *Жанатаев А. К.* — обработка первичного материала по оценке мутагенной активности, доработка текста и научное редактирование статьи. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Номер темы государственного задания FGFG-2024-0001.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declared no conflict of interest.

Authors' participation

Kolik LG — development of the general concept of the article, analysis of results and sources, writing the original text, scientific editing; *Kachalov KS* — preparation of compound solutions and its administration to animals, daily examination, recording of intoxication signs; *Chaika ZV* — assessment of mutagenic activity in the Ames test; *Alekseev IV, Volkova AV* — daily examination of animals, recording of analyzed parameters; *Zakharov AD* — processing of primary material for acute toxicity assessment, statistical analysis; *Miroshkina IA* — planning of the experimental design for acute toxicity assessment, pathomorphological analysis, text revision and scientific editing of the article; *Kolyasnikova KN* — synthesis and characterization of the test compound; *Durnev AD* — study conceptualization, general supervision, approval of the final version of the manuscript; *Zhanatayev AK* — processed the primary data for assessing mutagenic activity, revised the text, and provided scientific editing. All authors made significant contributions to the preparation of the paper, read, and approved the final version of the article.

Funding

The work was carried out within the framework of theme FGFG-2024-0001, supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Колик Лариса Геннадьевна — д. б. н., профессор РАН, зав. лабораторией экспериментальной фармакологии боли ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
Автор ответственный за переписку
e-mail: kolik_lg@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>
РИНЦ SPIN-код: 9126-6922

Larisa G. Kolik — PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor RAS, Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology of Pain Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
Corresponding autor
e-mail: kolik_lg@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>
RSCI SPIN code: 9126-6922

Качалов Кирилл Сергеевич — н. с., лаборатория лекарственной токсикологии отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: kachalov_ks@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>
РИНЦ SPIN-код: 2992-6789

Kirill S. Kachalov — Researcher, the Laboratory of Drug Toxicology, Department of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: kachalov_ks@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>
RSCI SPIN code: 2992-6789

Чайка Злата Владимировна — н. с., лаборатория генетической и репродуктивной токсикологии отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: chajka_zv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5366-4917>
РИНЦ SPIN-код: 1680-2370

Zlata V. Chayka — Researcher, the Laboratory of Genetic and Reproductive Toxicology, Department of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: chajka_zv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5366-4917>
RSCI SPIN code: 1680-2370

Алексеев Иван Владимирович — м. н. с., лаборатория лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: alekseev_iv@academpharm.ru
РИНЦ SPIN-код: 9757-6210

Ivan V. Alekseev — Junior Researcher the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: alekseev_iv@academpharm.ru
RSCI SPIN code: 9757-6210

Захаров Алексей Дмитриевич — м. н. с., лаборатория лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: zakharov_ad@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8705-8165>
РИНЦ SPIN-код: 9013-6228

Aleksey D. Zakharov — Junior Researcher, the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: zakharov_ad@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8705-8165>
RSCI SPIN code: 9013-6228

Волкова Анна Валерьевна — к. б. н., н. с. отдела нейropsychфармакологии, лаборатория фармакологии психических заболеваний, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: volkova_av@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3005-2827>
РИНЦ SPIN-код: 9587-6581

Anna V. Volkova — PhD, Cand. Sci. (Biology), Researcher of Laboratory of Psychiatric Disorders, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: volkova_av@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3005-2827>
RSCI SPIN code: 9587-6581

Мирошкина Ирина Александровна — к. б. н., в. н. с., зав. лаборатории лекарственной токсикологии, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: miroshkina_ia@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>
РИНЦ SPIN-код: 4697-7938

Irina A. Miroshkina — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, Head of Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: miroshkina_ia@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>
RSCI SPIN code: 4697-7938

Колясникова Ксения Николаевна — к. б. н., с. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: kolyasnikova_kn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6797-692X>
РИНЦ SPIN-код: 5682-2035

Kseniya N. Kolyasnikova — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher Laboratory of Peptide Bioregulators, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: kolyasnikova_kn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6797-692X>
RSCI SPIN code: 5682-2035

Дурнев Андрей Дмитриевич — д. м. н., профессор, академик РАН, Москва, Российская Федерация
e-mail: addurnev@mail.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>
РИНЦ SPIN-код: 8426-0380

Andrei D. Durnev — PhD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician RAS, Moscow, Russian Federation
e-mail: addurnev@mail.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>
RSCI SPIN code: 8426-0380

Жанатаев Алий Курманович — к. б. н., руководитель отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: zhanataev_ak@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>
РИНЦ SPIN-код: 7070-0510

Aliy K. Zhanataev — PhD, Cand. Sci. (Biology), Head of the Department of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: zhanataev_ak@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>
RSCI SPIN code: 7070-0510

Список литературы / References

- Jakubczyk A, Karaś M, Rybczyńska-Tkaczyk K, et al. Current Trends of Bioactive Peptides-New Sources and Therapeutic Effect. *Foods*. 2020 Jun 29;9(7):846. doi: 10.3390/foods9070846.
- Perlikowska R. Whether short peptides are good candidates for future neuroprotective therapeutics? *Peptides*. 2021 Jun;140:170528. doi: 10.1016/j.peptides.2021.170528.
- Guan J, Harris P, Brimble M, et al. The role for IGF-1-derived small neuropeptides as a therapeutic target for neurological disorders. *Expert Opin Ther Targets*. 2015 Jun;19(6):785-93. doi: 10.1517/14728222.2015.1010514.
- Guan J, Gluckman PD. IGF-1 derived small neuropeptides and analogues: a novel strategy for the development of pharmaceuticals for neurological conditions. *Br J Pharmacol*. 2009 Jul;157(6):881-91. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00256.x.
- Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh, et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Lett*. 1996 Aug 5;391(1-2):149-52. doi: 10.1016/0014-5793(96)00722-3.
- Povarnina PY, Kolyasnikova KN, Gudasheva TA, et al. Neuropeptide cycloprolylglycine exhibits neuroprotective activity after systemic administration to rats with modeled incomplete global ischemia and *in vitro* modeled glutamate neurotoxicity. *Bull Exp Biol Med*. 2016;160(5):653-655. doi: 10.1007/s10517-016-3241-5.
- Ferro JN, de Aquino FL, de Brito RG, et al. Cyclo-Gly-Pro, a cyclic dipeptide, attenuates nociceptive behaviour and inflammatory response in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2015 Dec;42(12):1287-95. doi: 10.1111/1440-1681.12480.
- Fan D, Alamri Y, Liu K, et al. Supplementation of Blackcurrant Anthocyanins Increased Cyclic Glycine-Proline in the Cerebrospinal Fluid of Parkinson Patients: Potential Treatment to Improve Insulin-Like Growth Factor-1 Function. *Nutrients*. 2018 Jun 2;10(6):714. doi: 10.3390/nu10060714.
- Guan J, Li F, Kang D, et al. Cyclic Glycine-Proline (cGP) Normalises Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) Function: Clinical Significance in the Ageing Brain and in Age-Related Neurological Conditions. *Molecules*. 2023 Jan 19;28(3):1021. doi: 10.3390/molecules28031021.
- Колясникова К.Н., Аляева А.Г., Кузнецова Е.А. Новый глипролин ГЗК-111 с нейropsychотропной активностью. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2021;(4):18-23. [Koliashnikova KN, Alyaeva AG, Kuznetsova EA. Novel glyproline GZK-111 with neuropsychotropic activity. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2021;(4):18-23. (In Russ.)]. doi:10.37489/2587-7836-2021-4-18-23.
- Gudasheva TA, Koliashnikova KN, Kuznetsova EA, et al. N-phenylacetyl-glycine showing a similar spectrum of neuropsychotropic activity. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2017;50(11):705-710. doi: 10.1007/s11094-017-1516-4.
- Kolyanov GB, Bochkov PO, Litvin AA, et al. Metabolism of a New Dipeptide Neuroprotector in Rats. *Bull Exp Biol Med*. 2022 Mar;172(5):579-582. doi: 10.1007/s10517-022-05440-3.
- Litvin AA, Kolyanov GB, Bochkov PO, et al. Preclinical Pharmacokinetics of GZK-111, a Dipeptide with Neuroprotective Activity. *Bull Exp Biol Med*. 2022 Jan;172(3):310-313. doi: 10.1007/s10517-022-05400-x.
- Алексеев И.В., Мирошкина И.А., Сорокина А.В. и др. Исследование острой токсичности димерного дипептидного миметика нейротрофина-3 на мышах. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):60-68. [Alekseev IV, Miroshkina IA, Sorokina AV, et al. Study of acute toxicity of dimeric dipeptide mimetic of neurotrophin-3 in mice. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):60-68. (In Russ.)]. doi:10.37489/2587-7836-2025-1-60-68.
- Flückiger-Isler S, Kamber M. Direct comparison of the Ames microplate format (MPF) test in liquid medium with the standard Ames pre-incubation assay on agar plates by use of equivocal to weakly positive test compounds. *Mutat Res*. 2012 Aug 30;747(1):36-45. doi: 10.1016/j.mrgentox.2012.03.014.
- Neumeyer AM, Srivastava S, Holder JL, et al. NNZ-2591 in Children and Adolescents With Phelan-McDermid Syndrome: Single-Group, Open-Label, Phase 2 Trial Results. *Neurol Genet*. 2025 Dec 23;12(1):e200338. doi: 10.1212/NXG.0000000000200338.
- Kobylyanskii AG, Zolotarev YA, Andreeva LA, et al. Studying the Toxic Effects of Some Biologically Active Peptides on the Model of Mouse Embryonic Stem Cells. *Bull Exp Biol Med*. 2017 Oct;163(6):731-736. doi: 10.1007/s10517-017-3891-y.
- Коваленко Л.П., Смольникова Н.М., Алексеева С.В. и др. Доклиническое изучение токсичности ноопепта. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;65(1):62-64. [Kovalenko LP, Smol'nikova NM, Alekseeva SV, et al. Preclinical characterization of the toxicity of noopept. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2002;65(1):62-64. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2002-65-1-62-64.
- Сорокина А.В., Алексеева С.В., Немова Е.П. и др. Доклиническое исследование безопасности дипептидного соединения ГБ-115. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010;73(6):29-32. [Sorokina AV, Alekseeva SV, Nemova EP, et al. Preclinical safety investigation of GB-115 dipeptide. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2010;73(6):29-32. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2010-73-6-29-32.



Технологические аспекты получения таблеток, диспергируемых в полости рта

Тишков С. В., Вуйнович Д. Д., Маркеев В. Б., Мистюков В. Л., Сергеева М. С.,
Блынская Е. В., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Разработка состава и технологии получения таблеток, диспергируемых в полости рта, в настоящее время становится все более перспективной благодаря возможности их применения в педиатрической и гериатрической практике, в том числе пациентами с нарушением глотания или при отсутствии воды. В свою очередь, возможность обеспечивать всасываемость активной фармацевтической субстанции (АФС) через слизистую, минуя желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), открывает новые возможности по предотвращению негативного воздействия на АФС кислой среды желудка и первичного пресистемного метаболизма. В статье представлен анализ основных методов и технологий производства таблеток, диспергируемых в полости рта, с примерами наиболее передовых технологий, а также применяемых вспомогательных веществ.

Ключевые слова: таблетки, диспергируемые в полости рта; орально диспергируемые таблетки ОДТ; технологии производства ОДТ; процесс сублимации

Для цитирования:

Тишков С. В., Вуйнович Д. Д., Маркеев В. Б., Мистюков В. Л., Сергеева М. С., Блынская Е. В., Дорофеев В. Л. Технологические аспекты получения таблеток, диспергируемых в полости рта. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):90–100. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-90-100>. EDN: FPTZJQ

Поступила: 03.04.2026. **В доработанном виде:** 05.05.2026. **Принята к печати:** 10.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Technological aspects of the production of orodispersible tablets

Sergey V. Tishkov, Danilo D. Vuynovich, Vladimir B. Markeev, Vladislav L. Mistyukov, Mariya S. Sergeeva, Evgenia V. Blynskaya, Vladimir L. Dorofeev
Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Development of the composition and manufacturing technology of orodispersible tablets (ODT) is becoming increasingly promising due to their applicability in pediatric and geriatric practice, including for patients with dysphagia or in the absence of water. Furthermore, the ability to ensure the absorption of the active pharmaceutical ingredient (API) through the oral mucosa, bypassing the gastrointestinal tract, opens up new opportunities for preventing the adverse effects of the acidic gastric environment and first-pass metabolism on the API. This article provides an overview of the principal methods and technologies for the production of ODT, featuring examples of the most advanced technologies, as well as the excipients employed.

Keywords: tablets dispersible in the oral cavity; orally disintegrating tablets ODT; ODT production technologies; sublimation process

For citations:

Tishkov SV, Vuynovich DD, Markeev VB, Mistyukov VL, Sergeeva MS, Blynskaya EV, Dorofeev VL. Technological aspects of the production of orodispersible tablets. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):90–100. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-90-100>. EDN: FPTZJQ

Received: 03.04.2026. **Revision received:** 05.05.2026. **Accepted:** 10.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Среди лекарственных препаратов (ЛП) для перорального применения именно твёрдые лекарственные формы наиболее коммерчески используемые, что обуславливает особый интерес к их разработке [1]. Вместе с тем пероральный путь введения сопряжён с рядом ограничений, связанных с затруднением глотания у пациентов пожилого возраста и людей с дисфагией, трудностями применения таблеток и капсул в педиатрической практике, а также эффектом пресистемной элиминации. Таблетки, диспергируемые в полости рта (иначе — орально диспергируемые таблетки (ОДТ)) обеспечивают всасывание активной

фармацевтической субстанции (АФС), минуя кислую среду желудка, через слизистую оболочку ротовой полости и пищевода. В данном случае биодоступность ОДТ может быть выше, чем при пероральном приёме и могут быть уменьшены побочные эффекты, вызванные метаболитами первичного прохождения через печень. В связи с чем возникло множество способов производства ОДТ — лекарственных препаратов, которые дезинтегрируются после нескольких секунд нахождения во рту и не требуют проглатывания [4, 5].

Таблетки, диспергируемые в полости рта, представляют собой обширный класс ЛП, применяемых при различных заболеваниях, включая нейрорепетики, сердечно-сосудистые, анальгетики, противоаллерги-

ческие, для лечения эректильной дисфункции и др. ОДТ обладают значительными преимуществами для преодоления описанных ранее сложностей перорального пути введения, однако обладают рядом недостатков, например, необходимостью маскировки вкуса для горьких АФС или низкой прочностью и хрупкостью, что требует более дорогостоящей упаковки.

Одним из факторов, от которых зависит эффективность диспергирования ОДТ, является технология, используемая в их производстве. Необходимым свойством таких таблеток является способность быстро распадаться или растворяться в слюне, тем самым устраняя необходимость в употреблении воды. Разработаны различные технологии, которые позволяют ОДТ выполнять возложенные на них функции и соответствовать следующим критериям [6]:

- не требовать воды для орального применения, распадаться и растворяться ещё в полости рта в течение нескольких секунд;
- обладать достаточной прочностью, чтобы выдержать воздействие производственного процесса и обработку после изготовления;
- выдерживать нагрузки на ЛП во время хранения;
- являться коррегентом вкусовых характеристик как одного из органолептических свойств;
- иметь низкую чувствительность к таким условиям, как повышенная влажность и температура;
- не разрушаться в процессе обработки и упаковки;
- иметь экономически выгодную себестоимость продукции.

Свойство ЛП распадаться в ротовой полости объ-

ясняется быстрым проникновением воды в матрицу таблетки, которая обладает пористой структурой, что приводит к быстрому растворению. Следовательно, основные подходы к разработке ОДТ включают максимизацию пористой структуры в матрице таблеток и использование в составе соответствующих дезинтегрирующих и высокорастворимых в воде вспомогательных веществ (ВВ) [7]. На рис. 1 показаны различные методы используемые для изготовления ОДТ.

Технологии, использующие процессы нагрева / Technologies Employing Heating Processes

Процесс мгновенного нагрева волокон сахаров с различной длиной цепи и их модификации

Процесс мгновенного нагрева также известен как процесс производства «сахарных волокон» и составляет основу технологии FlashDose®. Данный способ включает приготовление матрицы из сахаридов или полисахаридов, которые перерабатываются в аморфную нить при одновременном действии плавления и центробежной силы [8]. Затем матрицу охлаждают или частично перекристаллизовывают, получая соединение с АФС и другими ВВ и сжимают для формирования ОДТ. Однако высокая температура обработки ограничивает использование описываемой технологии только термостабильными соединениями. Существуют различные предварительно подготовленные смеси, используемые в производстве «волокон», некоторые из них представлены в табл. 1 [9]. Технология FlashDose® состоит из двух взаимосвязанных процессов: быстрого

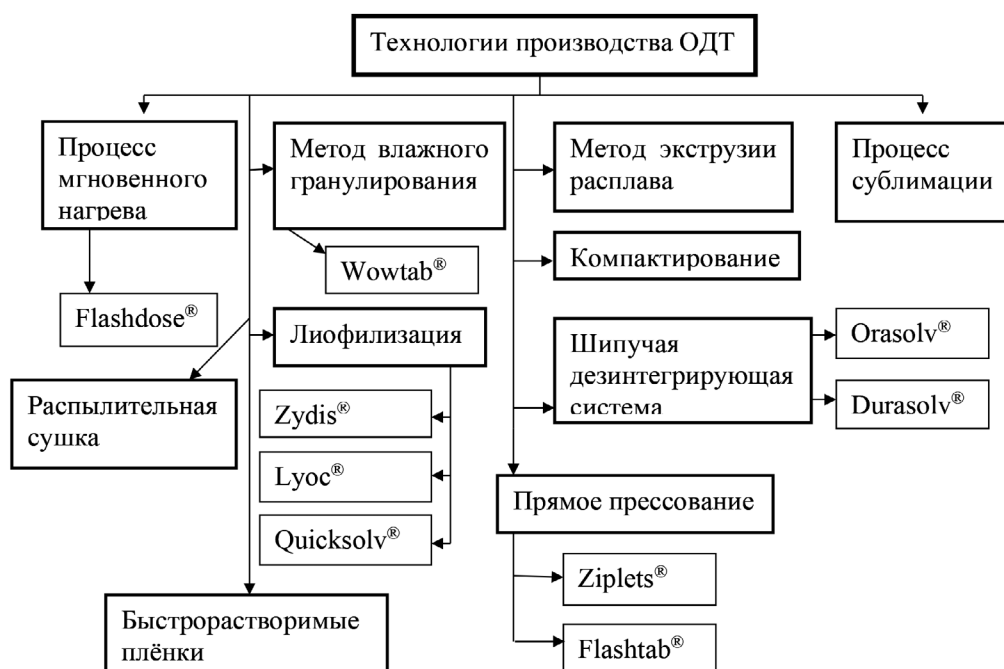


Рис. 1. Классификация технологий, используемых для получения ОДТ
Fig. 1. Classification of technologies used for the production of ODTs

Таблица 1

Различные предварительно смешанные композиции, используемые в процессе образования «сахарных волокон» [9]

Table 1

Various premixed compositions used in the “sugar fiber” formation process [9]

Предварительно смешанные составы «волокна»	Лекарственные средства
Сахароза (78,25 %), сорбитол (11,0 %), ксилитол (10,0 %), твин 80 (0,75 %)	Ибупрофен, циметидин, витамин С, кальция карбонат/витамин D или ацетаминофен
Сахароза (84,5 %), маннитол (5,0 %), сорбитол (5,0 %), ксилитол (5,0 %), твин 80 (0,5 %)	Ибупрофен, циметидин, витамин С, кальция карбонат/витамин D или ацетаминофен
Сахароза (84,75 %), сорбитол (12,00 %), α-лактоза (3,00 %), твин 80 (0,25 %)	Ибупрофен, аспирин, ацетаминофен

нагрева, когда материал нагревается, чтобы создать достаточные внутренние условия для перемещения потока, и ускоренного сдвига, когда центробежная сила, создающаяся во вращающейся головке (аппарата по типу машины для изготовления «сладкой ваты»), перемещает поток исходного материала наружу, обеспечивая его структурное преобразование. Затем «сахарное волокно», содержащее наполнитель, формируют в таблетки с небольшим усилием прессования и помещают во влажную атмосферу для отверждения.

Метод влажной грануляции

При получении ОДТ технологией влажного гранулирования применяются водорастворимые связующие и наполнители, а прессование проводится при сравнительно низком давлении. Полученные таблетки затем увлажняют и повторно высушивают.

Технология WowTab® запатентована компанией Yamanouchi Pharmaceutical Co «Without Water Tablet» (WowTab®), Япония. Представленные ОДТ готовят с использованием комбинации сахаров, обладающих низкой и высокой степенью прессуемости и связывающей способности. Низкопрессуемые сахара, такие как маннит, лактоза и глюкоза, способствуют быстрому растворению, в то время как высокопрессуемые сахара, такие как мальтоза, сорбит и мальтит, способствуют хорошей прочности после уплотнения. АФС смешивают с сахарами, для которых свойственна низкая прессуемость и затем гранулируют раствором, содержащим сахара, обладающие высокой степенью прессуемости с последующим прессованием в таблетки [9]. Высокопрессуемый сахар используется в виде раствора связующего и присутствует в аморфном состоянии после гранулирования. Переход вещества от аморфного к кристаллическому состоянию обеспечивается последующим кондиционированием (выдержкой в определённых условиях окружающей среды для стабилизации его свойств перед поступлением в основной процесс), что приводит к получению таблеток, обладающих высокой твёрдостью за счёт усиления адгезии между частицами. Процесс кондиционирования позволяет достигать достаточной твёрдости, сохраняя при этом низкое время дезинтеграции [10].

Метод экструзии расплава

Метод включает сухое смешение полиолов и АФС с другими ВВ, которые могут присутствовать в смеси для грануляции. Полученную порошковую смесь нагревают при температуре от 100 до 165 °С в экструдере, чтобы полностью расплавить полиолы. Полученную массу, состоящую из полностью или частично расплавленных полиолов (ксилит, сорбит, маннит и т. д.), нерасплавленной АФС и других ВВ выливают на охлажденные лотки из нержавеющей стали (10 °С) и охлаждают. Расплавленная смесь обычно затвердевает в течение 60 секунд. Получившуюся твёрдую массу измельчают различными методами, как например пропускание через конусную мельницу, снабжённую ситом с круглыми отверстиями диаметром 1 мм, полученные гранулы помещают в смеситель с экстрагранулярными компонентами (коллоидный диоксид кремния, магния стеарат, стеариновая кислота, лактоза, дикальция фосфат и микрокристаллическая целлюлоза и др.). Смешанный материал подают на ротационный пресс и таблетуют под действием силы уплотнения от 4 кН до 14 кН. Известно, что таблетки, полученные из полностью расплавленного ксилита более прочные, чем таблетки, полученные обычным процессом сухого смешивания [8]. Важно отметить, что полиолы можно расплавлять нагреванием при температурах, ниже характерных значений, свойственных для начала эндотермического процесса при нормальных условиях, что достигается путём повышения давления процесса (в табл. 2 представлены температуры плавления полиолов) [8].

Таблица 2

Температурные условия экструзии расплава для полиолов [10]

Table 2

Melt extrusion temperature conditions for polyols [10]

Полиолы	Точка плавления, °С	Диапазон экструзии расплава, °С
D — сорбитол	98 до 100	108–132
Ксилитол	95 до 97	102–127
Адонитол	102 до 104	112–134
Арабитол	101 до 104	111–134
Маннитол	167 до 170	177–200
Мезо-эритритол	120 до 123	130–153

Процесс сублимации

Одним из способов быстрой дезинтеграции ОДТ является подготовка пористой структуры в матрице таблетки. Чтобы создать такую пористую матрицу, в неё включают летучие вещества, которые позднее подвергаются процессу сублимации. Высоколетучие компоненты, такие как аммоний бикарбонат, карбонат аммония, бензойная кислота, ментол, камфора, нафталин, уретан или фталевый ангидрид могут быть спрессованы вместе с другими ВВ в таблетку. Летучий материал затем удаляют сублимацией, оставляя

пористую матрицу. Изготовленные по описанной методике таблетки обычно дезинтегрируются за 10–20 с. Такие растворители как циклогексан или бензол в том числе могут быть использованы в качестве порообразующих агентов. *Koizumi K, et al.* ещё в 1997 году описали применяемый метод сублимации для получения высокопористых ОДТ, используя маннитол и камфору, соответственно, в виде матрицы и сублимируемого материала для таблеток. Камфора испаряется сублимацией в вакууме при 80 °С в течение 30 мин для образования пор в таблетках [11].

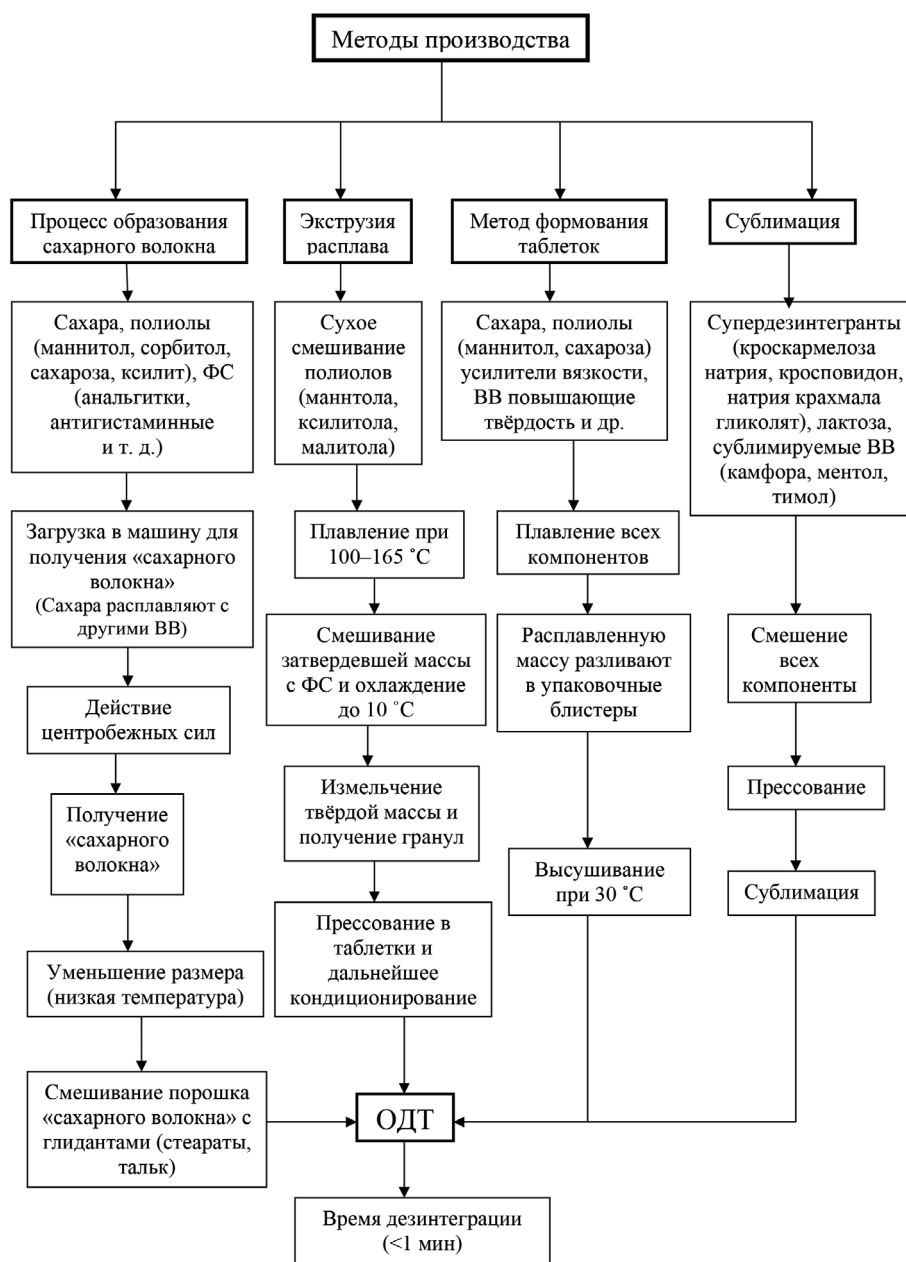


Рис. 2. Схематическое представление методов изготовления ОДТ с использованием технологий на основе теплообменных процессов

Fig. 2. Schematic representation of ODT manufacturing methods using heat exchange process-based technologies

Для более общего понимания методов производства ОДТ с использованием процессов нагревания представлена схема (рис. 2).

Технологии, не использующие процесс нагрева / Technologies not employing heating processes

Лиофилизация

В процессе лиофилизации вода сублимируется из продукта после его замораживания. Данная техника является основой технологий Zydis® (ZT), Quicksolv® и Lyoc®, которые используются для производства ОДТ. ZT является запатентованной методикой [8, 13], которая используется для таких ЛП, как Claritin Reditab®, Dimetapp®, Feldene Melt®, Maxalt- MLT®, Pepcid RPD®, Zofran ODT® и Zyprexa Zydis® [14].

В технологии ZT используется уникальный процесс сублимационной сушки, включающий следующие этапы:

1) Подготовка водного раствора или суспензии и последующее точное дозирование в предварительно сформированные блистеры, которые содержат ячейки, фактически обуславливающие форму таблетки и, как следствие, являющиеся неотъемлемой частью общей упаковки продукта.

2) Прохождение заполненных ячеек через специально разработанную процедуру криогенного замораживания, которая гарантирует пористость матрицы таблетки для облегчения быстрой дезинтеграции. Для последующего удаления влаги из получаемых таблеток, полученные в ячейках смеси переносят в сублимационные сушилки.

3) Герметизация открытых блистеров с использованием процесса термосклеивания для обеспечения стабильности и защиты продукта от различных условий окружающей среды [15].

Технологией Lyoc® возможно получить пористые и твёрдые таблетки путём лиофилизации эмульсии типа «масло в воде», помещённой непосредственно в блистерную ячейку. Их необычные свойства являются результатом уникального метода приготовления, который включает замораживание густой эмульсии, содержащей частицы с АФС или микрочастицы с покрытием. Получаемый продукт способен нести высокую дозировку и быстро растворяться, но обладает плохой механической прочностью [16].

Quicksolv® имеет пористую твёрдую структуру, полученную замораживанием водной дисперсии или раствора в матрицу, содержащую АФС, и затем её высушивание путём удаления воды с использованием спирта (экстракция растворителем). Готовые таблетки распадаются очень быстро, но ограничены низким содержанием АФС и поэтому технология может использоваться только с теми АФС, которые нерастворимы в используемом экстрагенте.

Швейцарская компания Pharmaplan AG является обладателем патента на технологию Lyoran®. Суть

данного метода заключается в том, что порошкообразный компонент дозируется в ячейку блистерной упаковки, затем смачивается водным раствором и подвергается процедуре лиофильной сушки [3].

Объём воды, необходимый при использовании данного подхода, снижается на 40–70 % относительно традиционной лиофилизации суспензий, при этом содержание АФС может быть повышено в сравнении с иными методами, предполагающими лиофильную сушку. Соотношение между жидкой и твёрдой фазами подбирается таким образом, чтобы раствор занимал межчастичное пространство. Промежуточный продукт, получаемый до стадии лиофилизации, имеет пастообразную или полутвёрдую консистенцию. В результате замораживания формируется трёхмерная матричная структура, фиксирующая твёрдые частицы, лиофилизированный каркас из связующего вещества и дисперсных частиц обеспечивает механическую прочность готовых таблеток.

ОДТ, изготовленные с использованием процесса лиофилизации, обычно содержат ВВ, такие как полимеры (например, желатин, альгинаты и декстрин) для обеспечения прочности и целостности таблеток; полиолы (например, маннит и сорбит) для придания кристалличности и твёрдости матрицы и улучшения вкусовых качеств; суспендирующие вещества (например, ксантановая камедь и аравийская камедь) для обеспечения равномерной дисперсии частиц АФС; консерванты (например, парабены) для предотвращения роста микроорганизмов; усилители проницаемости (например, лаурилсульфат натрия) для улучшения проницаемости в слизистой оболочке; регуляторы pH (например, лимонная кислота и т. д.) для оптимизации химической стабильности; ароматизаторы и подсластители для улучшения привлекательности для пациентов и воду для обеспечения порообразования [9].

Газообразующая система дезинтеграции

Разработанная CIMA Labs технология Orasolv® заключается в процессе газообразующего распада входящих в состав таблетки ВВ с выделением CO₂ и разрушением её структуры. Газообразующие ВВ получают путём покрытия кристаллов органической кислоты стехиометрически меньшим количеством щелочного материала. Размер частиц кристаллов органических кислот тщательно выбирают так, чтобы они были больше, чем щелочного наполнителя для обеспечения равномерного покрытия щелочного ВВ на кислотных кристаллах. Процесс нанесения покрытия инициируется путём добавления инициатора реакции (воды). Реакция допускается только в местах покрытия щелочного материала на кристаллах органической кислоты. Требуемая конечная точка для завершения реакции определяется измерением уровня углекислого газа. Тогда ВВ смешивают с активным ингредиентом или его микрочастицами

наряду с другими стандартными наполнителями для таблетирования и, прессуют в таблетки. Слюна активирует газообразующие ВВ, в результате чего таблетка распадается [12].

Durasolv® — запатентованная технология CIMA Labs второго поколения после Orasolv®, разработанная для создания более качественных ОДТ. Durasolv® значительно выше по механической прочности, чем Orasolv® из-за использования более высокого давления при прессовании. Таким образом, процесс производится намного быстрее, экономически более выгоден и возможно использование традиционных блистерных упаковок или полимерных банок. Ограничениями Durasolv® являются низкая загрузка АФС и высокое давление прессования, которые не подходят для включения в состав гранул с покрытием, выполняющим функцию коррегента вкуса.

Метод прямого прессования (компактирования)

Прямое прессование — самый простой способ изготовления ОДТ, большое преимущество которого заключается в низкой стоимости производства, поскольку для выпуска ЛП используется стандартное оборудование, общедоступные ВВ и ограниченное число стадий процесса, кроме того, могут быть использованы высокие дозировки для ОДТ. Дезинтеграция таблетки, полученной путём прямого прессования и солиubilизацией, основана на использовании одного разрыхлителя или их комбинированном действии, водорастворимых и газообразующих ВВ. Время дезинтеграции для данного метода является, в целом, удовлетворительным, хотя эффективность дезинтеграции сильно зависит от размера и твёрдости таблеток. Большие твёрдые таблетки могут иметь время распадаемости, превышающее 3 минуты, согласно требованиям ГФ РФ XV (ОФС.1.4.1.0015). Как следствие, ЛП с оптимальными свойствами дезинтеграции имеют средний или малый размер (массу) и/или высокую хрупкость и низкую твёрдость [17].

Во многих случаях дезинтегранты играют основную роль в процессах дезинтеграции и растворения ОДТ, полученных по технологии прямого прессования. Выбор подходящего типа и оптимального количества дезинтегрантов имеет первостепенное значение для обеспечения высокой скорости дезинтеграции. Добавление в состав таких компонентов, как водорастворимые или газообразующие ВВ может дополнительно способствовать растворению.

Существует гипотеза о том, что эффективность дезинтеграции основана на концепции силовой эквивалентности (комбинированное измерение силы набухания и количества водопоглощения) [18]. Данный параметр характеризует способность дезинтегранта преобразовывать поглощённую воду в усилие набухания (дезинтеграционную силу) и нередко применяется при оптимизации концентрации разрыхлителя в составе таблеток.

Технология Flashtab®, запатентованная французской фармацевтической компанией Prographarm Group, заключается в получении таблеток ОДТ прямым прессованием [19]. Flashtab® содержит покрытые кристаллы с АФС и микрогранулы вместе с разрыхлителями. В данной технологии применяются два типа разрыхлителей, различающихся по силе набухания: дезинтегрирующий агент с высоким её значением и набухающий агент с низким [20].

В компании Eurand (Pessano con Bornago), Италия, разработана технология Ziplets®, которая применима для водорастворимых соединений как с наполнителями, так и в виде покрытых микрочастиц (последние содержат растворимые и/или нерастворимые АФС). Установлено, что добавление подходящего количества нерастворимых в воде неорганических ВВ в сочетании с одним или несколькими эффективными дезинтегрантами обеспечивает отличную физическую устойчивость ОДТ, одновременно поддерживая оптимальную дезинтеграцию и твёрдость таблеток даже при низком давлении прессования [21].

Использование нерастворимых в воде неорганических ВВ также предполагает большее улучшение дезинтеграционных характеристик, чем у большинства обычно используемых водорастворимых сахаров или солей. Фактически, таблетки, составленные в основном из водорастворимых компонентов, зачастую растворяются, а не распадаются, причём за гораздо более длительное время. В то время как гидрофильные компоненты растворяются на внешнем слое таблетки, скорость диффузии воды в ядро таблетки уменьшается из-за образования концентрированных вязких растворов [21].

Таким образом, на основании рассмотренных выше технологий на рис. 3 представлена обобщённая схема методов производства ОДТ без использования нагревания продукта.

Перспективность технологий ОДТ определяет присутствие на современном фармацевтическом рынке многочисленных продуктов, разработанных согласно описанным в данной статье методам (табл. 3).

Технологии, основанные на 3D-печати / Technologies based on 3D printing

Технология TheriForm™ представляет собой лицензированное применение оригинального патента трёхмерной печати (3DP), разработанного в Массачусетском технологическом институте в 1993 году. Принцип функционирования основан на послойном нанесении жидкого связующего на порошковый слой посредством печатающей головки с программируемым характером перемещения, при этом каждый слой соответствует двумерному поперечному сечению формируемого ЛП. Данный подход обеспечивает возможность прецизионного размещения АФС в строго заданных зонах ЛП совместно со вспомога-

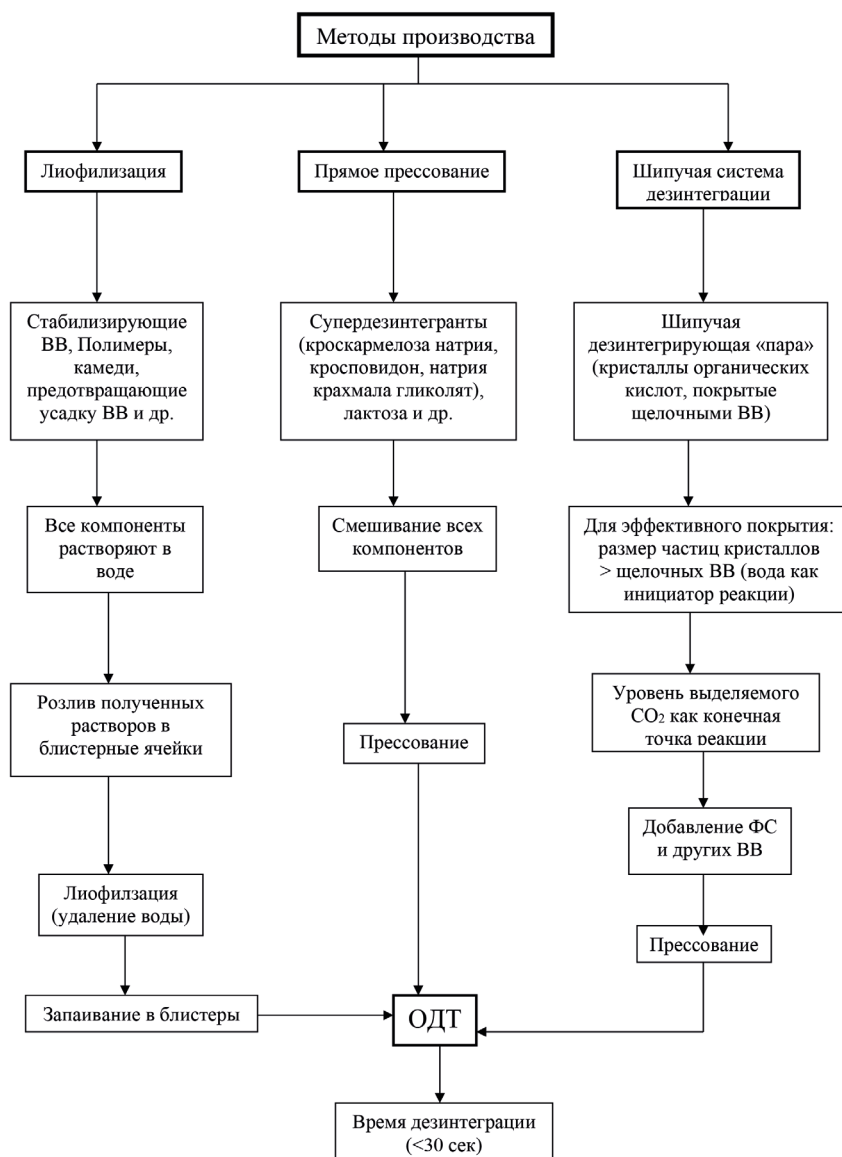


Рис. 3. Схематическое представление методов производства ОДТ без использования процесса нагрева

Fig. 3. Schematic representation of ODT manufacturing methods without the use of a heating process

Технологии ОДТ и соответствующие коммерческие продукты [9, 22]

Таблица 3

ODT technologies and corresponding commercial products [9, 22]

Table 3

Запатентованная технология	Компания патенто-обладатель	Лекарственные препараты
Durasolv® Orasolv®	CIMA Labs	Tempra®, Quicklet/Tempra FirsTabs®, Triaminic® Softchews® (несколько составов), Remeron® SolTabs, Zomig Rapimelt®, Nulev®, Alavert®, FazaClo®, Parcopa®, Niravam®, Clarinex Redi®
FlashDose®	Biovail	Nurofen®
Flashtab®	Ethypharm	Nurofen®
WowTab®	Yamanouchi	Benadryl Fastmelt®
Zydis®	Cardinal Health	Maxalt-MLT®, Claritin Reditab®, Zyprexa Zydis®, Zofran ODT®, Motilium®, Feldene Melt®
Lyoc®	Cephalon	Proxalyoc®, Paralyoc®, SpasponLyoc®

тельными веществами, регулирующими кинетику высвобождения АФС.

Традиционные методы получения орально-диспергирующихся таблеток, такие как лиофилизация, распылительная сушка, сублимация, формование и уплотнение характеризуются низкой производительностью и затруднённой одновременного достижения высокой механической прочности и достаточной диспергирующей способности [2]. Технология 3DP, реализованная в TheriForm™, предлагает решение данной проблемы посредством управляемой модуляции пористости порошкового слоя, обеспечивающей быструю абсорбцию воды при сохранении необходимых механических характеристик таблетки.

В рамках данного подхода *Lee KJ с соавторами* разработали технологию TheriFlash™ со структурой «ядро—оболочка», в которой плацебо-оболочка из маннита в сочетании с мальтитом, мальтодекстрином или поливинилпирролидоном (Kollidon® 25, молекулярная масса 28 000–34 000 г/моль) окружает порошковый слой, содержащий АФС, связанные водным буферным связующим с каптоприлом и Kollidon® 25 [2, 23]. Внешний слой имеет однородную сплошную структуру, тогда как центральная область является неоднородной и содержит свободные порошки АФС. Обе исследованные системы продемонстрировали среднее время распадаемости менее 60 с, что соответствует общепринятым регуляторным требованиям к ОДТ. Вместе с тем следует отметить, что процесс TheriForm™ преимущественно ориентирован на производство крупных угловатых форм, что может ограничивать удобство их перорального применения.

Заключение / Conclusion

Таблетки, диспергируемые в полости рта, благодаря своим практическим преимуществам в удобстве

применения стимулируют развитие широкого спектра технологических подходов их производства: прямое прессование, влажная грануляция, газообразующие системы, лиофилизация, экструзия расплава, процесс мгновенного нагрева и сублимация. Выбор технологии обусловлен свойствами конкретной АФС и целевым профилем качества ЛП. Дальнейший прогресс в области ОДТ связан прежде всего с оптимизацией и комбинированием уже существующих технологических подходов, а также с созданием новых вспомогательных веществ и рациональным подбором их состава для обеспечения требуемых показателей распадаемости, прочности, пористости и вкуса.

Ограничения исследования / Study limitations

Настоящий обзор имеет ряд ограничений. Поиск литературы проводился в доступных базах данных с возможностью доступа к полной версии текста, что не исключает возможности неполного охвата релевантных публикаций, индексированных в закрытых источниках. Также значительная часть рассматриваемых технологий получения ОДТ защищена патентами, вследствие чего детальное описание технологических особенностей в открытой научной литературе ограничено коммерческой тайной. Это существенно затрудняет объективное сравнение и точное описание технологических подходов. Помимо всего, в обзоре рассматриваются исключительно технологические аспекты получения ОДТ без анализа эффективности и безопасности конкретных препаратов, произведённых с использованием описанных методов. Авторы признают, что данная область динамично развивается, поэтому ряд аспектов может не в полной мере отражать актуальное состояние научной литературы на момент публикации настоящего обзора.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Тишков С. В. — систематический поиск и отбор публикаций, анализ данных литературы, написание и редактирование текста рукописи, доработка на всех этапах подготовки; *Вуйнович Д. Д.* — поиск и отбор релевантных публикаций, обобщение и структурирование информации из отобранных публикаций, проверка достоверности и качества представленных данных; *Маркеев В. Б.* — систематизация источников, критический анализ литературы, оценка согласованности данных между источниками; *Мистюков В. Л.* — оформление иллюстративного материала на основе

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Authors' participation

Tishkov SV — systematic literature search and selection, analysis of published data, writing and editing of the manuscript, revision at all stages of preparation; *Vuynovich DD* — search and selection of relevant publications, synthesis and structuring of information from selected publications, verification of the reliability and quality of the presented data; *Markeev VB* — systematization of sources, critical analysis of the literature, assessment of data consistency across sources; *Mistyukov VL* — preparation of illustrative materials based on literature data, compilation of the reference list; *Sergeeva MS* — scientific editing of the manuscript, identification

данных литературы, формирование библиографического списка; *Сергеева М. С.* — научное редактирование текста, выявление противоречий и несоответствий в опубликованных данных; *Блынская Е. В.* — разработка структуры обзора, формулировка заключения и основных выводов; *Дорофеев В. Л.* — научное редактирование и критическая оценка содержания рукописи, внесение правок и корректировка материала рукописи, утверждение финальной версии рукописи.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FGFG -2025-0010)

Соответствие принципам этики

Авторы заявляют, что одобрение комитетом по этике не требовалось, поскольку были проанализированы обезличенные данные технологического процесса и в исследовании непосредственно не участвовали люди.

of contradictions and inconsistencies in published data; *Blynskaya EV* — development of the review structure, formulation of the conclusion and key findings; *Dorofeev VL* — scientific editing and critical appraisal of the manuscript content, introduction of corrections and revision of the manuscript material, approval of the final version of the manuscript.

Funding

This work was conducted under the government contract of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (FGFG -2025-0010)

Ethics approval

According to the authors, the analysis was based on previously published anonymised data (technological records), and the study did not involve direct participation of human subjects. Hence, this study is exempt from ethics approval.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Тишков Сергей Валерьевич — к. фарм. н., в. н. с. лаборатории технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: tishkov_sv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8321-6952>

РИНЦ SPIN-код: 5117-7260

Sergey V. Tishkov — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Leading Researcher of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding author

e-mail: tishkov_sv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8321-6952>

RSCI SPIN code: 5117-7260

Вуйнович Данило Душкович — аспирант, ведущий инженер лаборатории технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: vuynovich_dd@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-5572-9339>

РИНЦ SPIN-код: 8076-4409

Danilo D. Vuynovich — Graduate Student, Leading Engineer of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: vuynovich_dd@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-5572-9339>

RSCI SPIN code: 8076-4409

Маркеев Владимир Борисович — к. фарм. н., с. н. с. лаборатории технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: markeev_vb@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2930-9397>
РИНЦ SPIN-код: 6113-2443

Vladimir B. Markeev — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Senior Researcher of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: markeev_vb@academpharm.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2930-9397>
RSCI SPIN code: 6113-2443

Мистюков Владислав Леонидович — аспирант, ведущий инженер лаборатории технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: mistyukov_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-7341-4584>

Vladislav L. Mistyukov — Graduate Student, Leading Engineer of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: mistyukov_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-7341-4584>

Сергеева Мария Сергеевна — к. фарм. н., заведующий лабораторией стандартизации и контроля качества лекарственных средств отдела качества и технологии лекарственных средств, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: sergeeva_ms@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7155-6714>
РИНЦ SPIN-код: 5017-2424

Mariya S. Sergeeva — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Head of the Laboratory of Drug Standardization and Quality control of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: sergeeva_ms@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7155-6714>
RSCI SPIN code: 5017-2424

Блынская Евгения Викторовна — д. фарм. н., заведующий лабораторией технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: blynskaya_ev@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9494-1332>
РИНЦ SPIN-код: 2616-4690

Evgenia V. Blynskaya — PhD, Dr. Sci. (Pharm.), Head of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: blynskaya_ev@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9494-1332>
RSCI SPIN code: 2616-4690

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и. о. генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
РИНЦ SPIN-код: 3237-7268

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
RSCI SPIN code: 3237-7268

Список литературы / References

1. Алексеев К.В., Блынская Е.В., Сизяков С.А. и др. Вспомогательные вещества в технологии таблеток с модифицированным высвобождением. *Фармация*. 2009;(6):49-56. [Alekseyev KV, Blynskaya YeV, Sizyakov SA, et al. Excipients in the technology of modified-release tablets. *Farmatsiya*. 2009;(6):49-56. (In Russ.)].
2. Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В. Технологии трёхмерной печати для производства лекарственных форм. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;(3):10-19. [Blynskaya EV, Tishkov SV, Alekseev KV. Three-dimensional printing technology for the production of dosage forms. *Drug development & registration*. 2018;(3):10-19. (In Russ.)].
3. Тишков С.В., Гаврилов Д.И., Алексеев К.В. и др. Инновационные технологии производства таблеток-лиофилизатов и таблеток, диспергируемых в полости рта. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2024;4(20):113-119. [Tishkov SV, Gavrilov DI, Alekseev KV, et al. Innovative technologies for the production of lyophilisate tablets and orally dispersible tablets. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2024;4(20):113-119. (In Russ.)]. doi: 10.51620/2687-1521-2024-4-20-113-119. EDN: HCTHCW
4. Шевченко А.М., Ковалевская Е.Г. Технологические особенности разработки состава и способов производства ородисперсных лекарственных форм. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2014;1(6):26-30. [Shevchenko AM, Kovalevskaya EG. Technological features of the development and production methods orodispersible tablets. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2014;1(6):26-30. (In Russ.)]. EDN: SHBHQZ
5. Brown D. Orally disintegrating tablets-taste over speed. *Drug Del Technol*. 2003;3:58-61.
6. Deepak K. Orally disintegrating tablets. *Tablets and Capsules*. 2004;7:30-35.
7. Chandrasekhar R, Hassan Z, Alhusban F, et al. The role of formulation excipients in the development of lyophilised fast-disintegrating tablets. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009 May;72(1):119-29. doi: 10.1016/j.ejpb.2008.11.011.
8. Fukami J, Yonemochi E, Yoshihashi Y, Terada K. Evaluation of rapidly disintegrating tablets containing glycine and carboxymethylcellulose. *Int J Pharm*. 2006 Mar 9;310(1-2):101-9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.11.041.
9. Goel H, Rai P, Rana V, Tiwary AK. Orally disintegrating systems: innovations in formulation and technology. *Recent Pat Drug Deliv Formul*. 2008;2(3):258-74. doi: 10.2174/187221108786241660.
10. Parakh SR, Gothoskar AV. A review of mouth dissolving tablet technologies. *Pharmaceutical Technology*. 2003;27(11):92-100.
11. Koizumi K, Watanabe Y, Morita K, et al. New method of preparing high-porosity rapidly saliva soluble compressed tablets using mannitol with camphor, a subliming material. *Int J Pharm*. 1997;152(1):127-131. doi: 10.1016/S0378-5173(97)04924-7.
12. Ghosh TK, Pfister WR. Quick-Dissolving Oral Dosage Forms: Scientific and Regulatory Considerations from a Clinical Pharmacology and Biopharmaceutics Perspective. In: Ghosh TK, Pfister WR, eds. *Drug Delivery to the Oral Cavity: Molecules to Market*. New York, NY: Marcel Dekker; 2005:337-356.
13. Kuno Y, Kojima M, Ando S, Nakagami H. Evaluation of rapidly disintegrating tablets manufactured by phase transition of sugar alcohols. *J Control Release*. 2005 Jun 20;105(1-2):16-22. doi: 10.1016/j.jconrel.2005.01.018.
14. Schiermeier S, Schmidt PC. Fast dispersible ibuprofen tablets. *Eur J Pharm Sci*. 2002 Apr;15(3):295-305. doi: 10.1016/s0928-0987(02)00011-8.
15. Seager H. Drug-delivery products and the Zydis fast-dissolving dosage form. *J Pharm Pharmacol*. 1998 Apr;50(4):375-82. doi: 10.1111/j.2042-7158.1998.tb06876.x.
16. Corveleyn S, Remon JP. Formulation of a lyophilized dry emulsion tablet for the delivery of poorly soluble drugs. *Int J Pharm*. 1998;166(1):65-74. doi: 10.1016/S0378-5173(98)00024-6.
17. Dobetti L. Fast-melting tablets: Developments and technologies. *Pharmaceutical Technology*. 2001;(Suppl):44-50.
18. Bogner RH, Wilkosz MF. Fast-dissolving tablets: New dosage convenience for patients. *US Pharmacist*. 2002;27(3):34-43.
19. Ayenew Z, Puri V, Kumar L, Bansal AK. Trends in pharmaceutical taste masking technologies: a patent review. *Recent Pat Drug Deliv Formul*. 2009 Jan;3(1):26-39. doi: 10.2174/187221109787158364.
20. Sasidhar RLC, Vidyadhara S, Maheswari GV, et al. Solubility and dissolution rate enhancement of olmesartan medoxomil by complexation and development of mouth dissolving tablets. *Advan. Biol. Res*. 2013;7(2):32-41. doi: 10.5829/idosi.abr.2013.7.2.7244.
21. Parkash V, Maan S, Deepika, Yadav SK, Hemlata, Jogpal V. Fast disintegrating tablets: Opportunity in drug delivery system. *J Adv Pharm Technol Res*. 2011 Oct;2(4):223-35. doi: 10.4103/2231-4040.90877.
22. Gohel M, Patel M, Amin A, et al. Formulation design and optimization of mouth dissolve tablets of nimesulide using vacuum drying technique. *AAPS PharmSciTech*. 2004 Apr 26;5(3):e36. doi: 10.1208/pt050336.
23. Lee KJ, Kang A, Delfino JJ, et al. Evaluation of critical formulation factors in the development of a rapidly dispersing captopril oral dosage form. *Drug Dev Ind Pharm*. 2003 Oct;29(9):967-79. doi: 10.1081/ddc-120025454.



Разработка самоэмульгирующейся системы доставки *N*-(адамантил-2-ил)-*N*-(пара-бромфенил)амин (адамантил-бромфениламина) в виде лекарственного препарата для перорального применения. Часть 1

Гаврилов Д. И.¹, Маркеев В. Б.¹, Выхристюк М. С.², Тишков С. В.¹, Блынская Е. В.¹,
Дорофеев В. Л.¹

¹ ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Плохая растворимость активных фармацевтических субстанций в водных средах представляет собой серьёзную проблему для разработки лекарственных препаратов из-за их низкой абсолютной пероральной биодоступности.

Цель работы — разработка самоэмульгирующейся системы доставки лекарственного средства (СЭСД ЛС) адамантилбромфениламина в виде предэмульсионного концентрата.

Материалы и методы. Для разработки модельных составов СЭСД адамантилбромфениламина в виде предэмульсионного концентрата использовались вспомогательные вещества, включающие в себя масла, эмульгаторы (поверхностно-активные вещества) и соразтворители. Для оптимизации количественного соотношения модельного компонентного состава СЭСД ЛС строилась тернарная фазовая диаграмма. Отобранные модельные составы СЭСД ЛС оценивались по способности к эмульгированию. Также проведена серия испытаний стабильности для модельных составов СЭСД ЛС, включающая в себя устойчивость к различным pH среды и объёмам разведения, стабильность при шести циклах нагревания до $45 \pm 0,5$ °C — охлаждения до $4 \pm 0,5$ °C и четырёх циклов заморозания до $-20 \pm 0,5$ °C — оттаивания.

Результаты. В ходе исследования достигнута солюбилизация адамантилбромфениламина в воде очищенной с применением подхода СЭСД ЛС. Разработан и оптимизирован состав жидкой СЭСД адамантилбромфениламина в виде предэмульсионного концентрата. Установлено, что жидкая СЭСД адамантилбромфениламина конечного состава устойчива к различным pH среды и объёмам разведения и остаётся стабильной после шести циклов нагревания до $45 \pm 0,5$ °C — охлаждения до $4 \pm 0,5$ °C и четырёх циклов заморозания до $-20 \pm 0,5$ °C — оттаивания.

Заключение. Разработан состав жидкой СЭСД адамантилбромфениламина в виде предэмульсионного концентрата: АФС: адамантилбромфениламин — 10,0 мг; ВВ: Cremophor® EL — 135,0 мг; Labrafac™ PG — 15,0 мг. На основании результатов исследования способности к эмульгированию и стабильности разработанного состава сделан вывод о перспективности дальнейшей разработки состава перорального лекарственного препарата на основе СЭСД адамантилбромфениламина.

Ключевые слова: эмульсия; самоэмульгирующаяся система доставки; лекарственное средство; адамантилбромфениламин; стабильность

Для цитирования:

Гаврилов Д. И., Маркеев В. Б., Выхристюк М. С., Тишков С. В., Блынская Е. В., Дорофеев В. Л. Разработка самоэмульгирующейся системы доставки *N*-(адамантил-2-ил)-*N*-(пара-бромфенил)амин (адамантилбромфениламина) в виде лекарственного препарата для перорального применения. Часть 1. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):101–111. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-101-111>. EDN: QFEBWR

Поступила: 24.03.2026. В доработанном виде: 24.04.2026. Принята к печати: 17.05.2026. Опубликовано: 30.06.2026.

Development of a self-emulsifying delivery system *N*-(adamant-2-yl)-*N*-(para-bromophenyl)amine (adamantylbromophenylamine) in the form of a medicinal drug for oral administration. Part 1

Dmitrii I. Gavrilov¹, Vladimir B. Markeev¹, Maxim S. Vykhristyuk², Sergey V. Tishkov¹, Evgenia V. Blynskaya¹, Vladimir L. Dorofeev¹

¹ Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

² Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russian Federation

Abstract

Background. The poor solubility of active pharmaceutical ingredients in aqueous media poses a serious challenge to drug development due to their low absolute oral bioavailability.

Objective — development of a self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) of adamantylbromophenylamine in the form of a pre-emulsion concentrate.

Materials and methods. To develop model formulations of adamantylbromophenylamine SEDDS pre-emulsion concentrate, excipients including oils, emulsifiers (surfactants), and cosolvents were used. A (pseudo)ternary phase diagram was constructed to optimize the quantitative ratio of the model component composition of the SEDDS. The selected model formulations of the SEDDS were evaluated for their emulsification ability. A series of stability tests were also conducted for the model formulations of the SEDDS, including stability at various pH levels and dilution volumes, stability under six cycles of heating to $45 \pm 0,5$ °C and cooling to 4 °C, and four cycles of freezing to $-20 \pm 0,5$ °C and thawing.

Results. During the study, solubilization of adamantylbromophenylamine in purified water using the SEDDS approach was achieved. The composition of liquid SEDDS adamantylbromophenylamine in the form of a pre-emulsion concentrate has been developed and optimized. It was found that the liquid SEDS of adamantylbromophenylamine of the final composition is resistant to various pH of the medium and dilution volumes and remains stable after six cycles of heating to 45 ± 0.5 °C — cooling to 4 ± 0.5 °C and four cycles of freezing to -20 ± 0.5 °C — thawing.

Conclusions. The composition of liquid SEDDS adamantylbromophenylamine in the form of a pre-emulsion concentrate has been developed: API: adamantylbromophenylamine — 10.0 mg; BB: Cremophor® EL — 135.0 mg; Labrafac™ PG — 15.0 mg. Based on the results of the study of the emulsification ability and stability of the developed composition, it was concluded that the further development of the composition of an oral medicinal product based on SEDDS adamantylbromophenylamine is promising.

Keywords: emulsion; self-emulsifying delivery system; drug; adamantylbromophenylamine; stability

For citations:

Gavrilov DI, Markeev VB, Vykhristyuk MS, Tishkov SV, Blynskaya EV, Dorofeev VL. Development of a self-emulsifying delivery system *N*-(adamant-2-yl)-*N*-(para-bromophenyl)amine (adamantylbromophenylamine) in the form of a medicinal drug for oral administration. Part 1. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):101–111. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-101-111>. EDN: QFEBWR

Received: 24.03.2026. **Revision received:** 24.04.2026. **Accepted:** 17.05.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Проблема низкой растворимости активных фармацевтических субстанций (АФС) является одним из основных препятствий для разработки лекарственных препаратов (ЛП) для перорального применения. До 90 % новых соединений, обладающих фармакологической активностью, характеризуются низкой растворимостью и низкой пероральной биодоступностью, что позволяет их относить к IV классу по биофармацевтической классификационной системе (БКС). Вследствие чего, в ходе доклинических фармакологических исследований устанавливается высокая терапевтическая дозировка АФС, что, в свою очередь, может приводить к худшей переносимости ЛП, учащению возникновения побочных эффектов и снижению приверженности пациентов лечению [1, 2].

Для повышения растворимости АФС используется широкий спектр технологических подходов: измельчение частиц (микронизация), полиморфные модификации АФС, формирование нанокристаллов, включение АФС в циклодекстрины, получение твёрдых дисперсий, применение липидных систем доставки и др. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и ограничения, однако именно использование липидных систем, в частности, самоэмульгирующихся систем доставки лекарственных средств (СЭСД ЛС), демонстрирует требуемую эффективность для труднорастворимых соединений [1–4].

Использование СЭСД ЛС, включая само- (микро-/нано-) эмульгирующиеся системы (СМЭСД/СНЭСД ЛС), является перспективным подходом для улучшения растворимости, биодоступности и усиления терапевтической эффективности плохо растворимых ЛС. Данные термодинамически стабильные системы, состоящие из масляной фазы, эмульгатора и соразтворителя, обеспечивают спонтанное образование мельчайших капель эмульсии при контакте с водной средой, что способствует повышению растворимости и полноты всасывания АФС. Данная технология позволила вывести на рынок ЛП, такие как ампренавир (Agenease®), ритонавир (Norvir®; Kaletra, вклю-

чая дополнительный лопинавир) или саквинавир (Fortovase®), циклоспорин А (Neoral®) или фенофибрат (Lipirex®) [2, 5].

К основным преимуществам СЭСД ЛС можно отнести повышение абсолютной пероральной биодоступности АФС, стабильность абсорбции и защиту АФС от агрессивной среды желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), возможность доставки пептидных соединений, а также простоту масштабирования [1, 6, 7].

Однако следует отметить ряд ограничений для применения данного подхода: сложность проверки многокомпонентных составов и риск раздражения ЖКТ из-за высокого содержания поверхностно-активных веществ (ПАВ). Кроме того, отсутствие чёткого алгоритма разработки СЭСД ЛС ограничивает их широкое внедрение в фармацевтическую технологию [8–10].

В 80-е годы впервые разработан ЛП *N*-(адамантил-2-ил)-*N*-(пара-бромфенил)амин (Адамантилбромфениламин, Бромантан, Ладастен®) в виде таблеток для перорального применения (50 мг и 100 мг), обладающий комплексной фармакологической активностью, включая анксиолитическое, психостимулирующее и иммуностимулирующее действия [11]. Согласно анализу научных публикаций, минимальная терапевтическая доза АФС адамантилбромфениламина составляет 10 мг [12].

По данным фармакокинетических исследований АФС адамантилбромфениламина обладает абсолютной пероральной биодоступностью — 42 %, при этом практически не растворима в воде очищенной (ВО) [13]. Следовательно, согласно руководству ICH M9 «Biopharmaceutics classification system-based biowaivers» данное соединение относится к IV классу по БКС.

На основе вышесказанного можно сделать вывод о перспективности разработки ЛП адамантилбромфениламина для перорального применения со сниженной дозировкой (10 мг) по сравнению с оригинальным ЛП и внедрением подхода СЭСД ЛС для улучшения растворимости и биодоступности данного соединения.

Целью / Objective данной части работы являлась разработка СЭСД адамантилбромфениламина в виде предэмульсионного концентрата.

Для достижения поставленной цели изучена растворимость данной АФС в индивидуальных растворителях и их смесях. Исследована эмульгирующая способность модельных составов систем растворителей адамантилбромфениламина, оптимизирован состав жидкой СЭСД адамантилбромфениламина в виде концентрата.

Материалы и методы / Materials and methods

Материалы / Materials. АФС: адамантилбромфениламин (*N*-(адамантил-2-ил)-*N*-(пара-бромфенил) амина) белый или почти белый мелкокристаллический порошок с температурой плавления от 104 до 109 °С (рис. 1) [11]. Брутто-формула: $C_{16}H_{20}NBr$, М.м. 306,24. Результаты растворимости отражены в табл. 1.

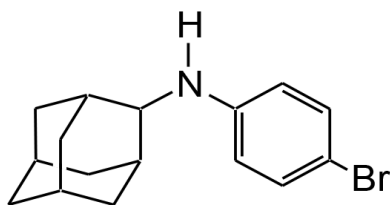


Рис. 1. Структурная формула *N*-(адамантил-2-ил)-*N*-(пара-бромфенил)амина (адамантилбромфениламин) [11]

Fig 1. Structural formula of *N*-(adamant-2-yl)-*N*-(para-bromophenyl)amine (adamantylbromophenylamine) [11]

Источник: рисунок подготовлен авторами.

Source: the figure is prepared by the authors.

Таблица 1

Растворимость АФС адамантилбромфениламина [12]

Table 1

Solubility of the API adamantylbromophenylamine [12]

Растворитель	Показатель растворимости
Хлороформ	Легко растворим
Ацетон	
1,4 — диоксан	
Гексан	Умеренно растворим
Спирт этиловый 95 %	Практически нерастворим
Вода очищенная	
0,1 М р-р хлороводородной кислоты	

Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.
Source: the table is prepared by the authors using their own data.

Вспомогательные вещества (ВВ)

Компоненты СЭСД адамантилбромфениламина в виде концентрата:

2-пирролидон — Kollisolv® PYR (BASF, Германия);

Глицериды каприлокаприол макрогол-8 — Labrasol®, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Глицерил монолинолеат — Maisine® CC, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Глицерил моноолеат (тип 40) — Peseol®, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Глицерол монокаприлокапрат (тип 1) — Labrafac™ MC 60, PG, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Каприловый/каприновый триглицерид — Kollisolv® MCT-70, EP, USP/NF (BASF, Германия);

Лауроил полиоксил-32 глицерид — Gelucire® 44/14, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Монокаприлат пропиленгликоля — Capryol® 90, USP, NF (Gattefosse, Франция);

Монолаурат пропиленгликоля — Lauroglycol® FCC, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Монолинолеат глицерина — Maisine® 35-1, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Моноэтиловый эфир диэтиленгликоля — Transcutol®, HP, P USP/HP (Gattefosse, Франция);

Полиглицерил-3 диолеат — Plurol Oleique® CC 497, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Полиоксиэтилен полочсамер 124 — Kollisolv® P124 (BASF, Германия);

Полиэтиленгликоль (ПЭГ) — 400 (Farmasino CO, Китай);

Полиэтиленгликоль (ПЭГ) — 600 (Achilles Chemical Co., Китай);

Полиэтиленгликоль (ПЭГ) — 300 (НОРКЕМ, Россия);

Полиэтиленгликоль 660 12-гидроксистеарат — Solutol® HS 15 (BASF, Германия);

Полиэтиленгликоля глицерингидростеарат (Ph. Eur.) или полиоксил 40 гидрогенизированное касторовое масло USP/NF — Kolliphor® RH40 (BASF, Германия);

Пропиленгликоль дикаприлат/дикапрат — Labrafac™ PG, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Пропиленгликоль монокаприла (тип 1) — Capryol® PGMC, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Рицинолеат полиэтиленгликоля глицерин (Ph. Eur.) или полиоксил 35 касторовое масло (USP) — Cremophor® EL (BASF, Германия);

Сложный эфир жирной кислоты, конденсация олеиновой+этанола — Этилолеат (Dalian Sinobio Chemistry Co., Китай) [10].

Стеароил полиоксил-32 глицерид — Gelucire® 50/13, EP, USP/NF (Gattefosse, Франция);

Твин-20 (Полисорбат 20) (Henan Chemsino Industry Co., Китай);

Твин-80 (Полисорбат 80) (Henan Chemsino Industry Co., Китай);

Триацетат глицерина — Kollisolv® GTA (BASF, Германия);

Триглицериды средней цепи — Labrafac™ Lipophile WL 1349, EP, USP/NF, JPE/JP (Gattefosse, Франция).

Методы / Methods. Взвешивание всех компонентов осуществлялось на весах аналитических ADVENTURER AR 5120 (ОНАУС, США).

Растворимость АФС адамантилбромфениламина в индивидуальных растворителях и их смесях прово-

дилась с использованием химической посуды и шкафа с принудительной конвекцией FD115 (BINDER GmbH, Германия). Растворимость АФС адамантилбромфениламина в системах растворителей изучалась для соотношений АФС:сист.раств. (1:10). При неполном растворении, смеси нагревались до $45 \pm 0,5$; $50 \pm 0,5$; $55 \pm 0,5$; $60 \pm 0,5$; $65 \pm 0,5$; $70 \pm 0,5$ °C и выдерживались в течение 15 мин с момента достижения заданной температуры в шкафу с принудительной конвекцией FD115. Если при увеличении температуры АФС полностью растворялась, то добавление ВО происходило после остывания до комнатной температуры исследуемого раствора/смеси. Оценка растворимости проводилась визуально.

Тернарные фазовые диаграммы строили с помощью программы SigmaPlot 10.0 (Grafiti, США) для серии составов в следующих соотношениях растворителей: 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9.

Оценка показателей стабильности СЭСД адамантилбромфениламина проводилась согласно требованиям решения Коллегии ЕЭК от 10.05.2018 № 69 «Об утверждении Требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций»:

- Для оценки времени самоэмульгирования подготовленные составы СЭСД адамантилбромфениламина в виде концентратов разбавляли ВО в соотношении 1:100 и перемешивали на магнитной мешалке IKA C-MAG HS 7 (IKA, Германия) со скоростью 50 об/мин при $37 \pm 0,5$ °C. Отмечалось время, необходимое для образования эмульсии, а затем полученные смеси в течение суток несколько раз визуально оценивались на предмет появления фазового разделения или выпадения осадка через 2, 4, 6, 8, 12, 24 часа.

- Для определения эффекта разведения, подготовленные составы СЭСД адамантилбромфениламина в виде концентратов разводились избытком ВО в соотношениях 1:50, 1:100, 1:1000 и оставались на сутки при комнатной температуре и влажности, после чего визуально оценивались на наличие фазового разделения, флокуляции, коалесценции и прочих признаков нестабильности эмульсий. По такой же методике проводилось определение эффекта разведения раствором фосфатного буфера (рН 6,8) и 0,1 М хлороводородной кислотой.

- Для проведения цикла нагревание—охлаждение готовили эмульсии на основе разработанных модельных составов СЭСД адамантилбромфениламина (концентратов) объёмом 10 мл и затем охлаждали до $4 \pm 0,5$ °C, а затем нагревали до $45 \pm 0,5$ °C, таким образом проводили 6 циклов нагревания—охлаждения. При каждой температуре смеси выдерживались на протяжении 48 часов. Изменения в стабильности эмульсий фиксировались после каждой смены температурного режима. Если разделение фаз наблюдалось раньше завершения эксперимента, он прерывался, результаты фиксировались.

- Для проведения циклов замерзание—оттаивание готовили концентраты модельных составов (СЭСД адамантилбромфениламина) объёмом 10 мл, затем замораживали при температуре $-20 \pm 0,5$ °C и выдерживали в течение 4 часов, затем столько же выдерживали при комнатной температуре. Таким образом, проводили 4 цикла после каждого из которых смеси повторно перемешивались. После каждого цикла брали образцы модельных составов для разбавления ВО с последующей оценкой полученной эмульсии.

Результаты и их обсуждение / Results and their discussion

Изучение растворимости АФС адамантилбромфениламина / Study of the solubility of the API adamantylbromophenylamine

На первом этапе исследований изучалась растворимость АФС адамантилбромфениламина в различных растворителях и оценивалась способность полученных растворов к эмульгированию (табл. 2). Данный анализ позволил определить подходящие компоненты для составления комбинаций систем растворителей адамантилбромфениламина.

На основании полученных результатов, для определения модельного состава системы растворителей адамантилбромфениламина отобраны компоненты из числа тех, которые продемонстрировали лучшую способность к растворению АФС адамантилбромфениламина.

Для каждой исследуемой комбинации оптимизировали соотношения компонентов (1:1, 3:1, 9:1), выявляя критические точки стабильности, где малейшее изменение пропорций вызывало фазовое разделение. Особое внимание уделялось технологическим свойствам, отдавая предпочтение системам, образующим прозрачные растворы или устойчивые эмульсии при разбавлении. Неподходящими для дальнейшего изучения признавались все комбинации, демонстрирующие немедленное фазовое разделение, кристаллизацию при охлаждении или нестабильность при хранении. Финальный отбор включал только химически и термически стабильные ($20-60 \pm 0,5$ °C) системы, сохраняющие гомогенность при разбавлении 1:10 водой и демонстрирующие воспроизводимость результатов в экспериментах (табл. 3).

По результатам проведённого анализа, для дальнейшего изучения отобраны составы систем растворителей, которые однородно смешивались и образовывали эмульсии.

На следующем этапе исследования, в отобранных составах растворяли 10 мг адамантилбромфениламина в соотношении АФС:сист.раств. (1:15). Критериями выбора оптимального состава являлись растворение адамантилбромфениламина в системе растворителей и эмульгирование при разбавлении ВО (1:10). Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 2

Растворимость адамантилбромфениламина в индивидуальных растворителях

Table 2

Solubility of adamantylbromophenylamine in individual solvents

Растворитель	Количественный показатель растворимости (весовое соотношение /условие для растворения)	Наблюдение при добавлении воды очищенной (1:10)
Kolliphor® RH 40	1:40 при 55±0,5 °С	Образование эмульсии
Этилолеат	1:6	Фазовое разделение
Kollisolv® MCT-70	1:7	
Gelucire® 50/13	1:10 при 65±0,5 °С	
Labrasol®	1:15 при 55±0,5 °С	
Capryol® 90	1:20 при 55±0,5 °С	
Capryol® PGMC		
Maisine® CC	1:20 при 60±0,5 °С	
Kollisolv® P124	1:60 при 50±0,5 °С	
Kollisolv® GTA	1:30 при 55±0,5 °С	
Maisine® 35-1	1:20 при 55±0,5 °С	
Твин-20	1:60 при 50±0,5 °С	Фазовое разделение и образование осадка
Твин-80	1:60 при 55±0,5 °С	
Gelucire® 44/14	1:10 при 55±0,5 °С	
Cremophor® EL	1:30 при 70±0,5 °С	Образование осадка
Transcutol® P	1:10	
Transcutol® HP	1:20	
Kollisolv® PYR	1:10 при 55±0,5 °С	
Labrafac™ PG	1:15 при 55±0,5 °С	
Ресеол®	1:20 при 55±0,5 °С	
Полиэтиленгликоль-300	1:40 при 50±0,5 °С	
Labrafac™ MC 60	Практически не растворим	—
Labrafac™ Lipophile WL 1349		
Lauroglycol® FCC		
Plurol Oleique® CC 497		
Solutol® HS 15		
Полиэтиленгликоль-400		
Полиэтиленгликоль-600		
Пропиленгликоль		

Примечания: Kolliphor® RH 40 — полиэтиленгликоля глицерингидростеарат или полиоксил 40 гидрогенизированное касторовое масло; этилолеат — сложный эфир жирной кислоты, конденсация олеиновой кислоты+этанола; Kollisolv® MCT-70 — каприловый/каприновый триглицерид; Gelucire® 50/13 — стеарил полиоксил-32 глицерид; Labrasol® — глицериды каприлокаприол макрогол-8; Capryol® 90 — монокаприлат пропиленгликоля; Capryol® PGMC — пропиленгликоль монокаприла (тип 1); Maisine® CC — глицерил монолинолеат; Kollisolv® P124 — полиоксиэтилен полоксамер 124; Kollisolv® GTA — триацетат глицерина; Maisine® 35-1 — монолинолеат глицерина; Gelucire® 44/14 — лауроил полиоксил-32 глицерид; Cremophor® EL — рицинолеат полиэтиленгликоля глицерин (или полиоксил 35 касторовое масло; Transcutol® HP, P — моноэтиловый эфир диэтиленгликоля; Kollisolv® PYR — 2-пирролидон; Labrafac™ PG — пропиленгликоль дикаприлат/дикапрат; Pecceol® — глицерил моноолеат (тип 40); Labrafac™ MC 60 — глицерол монокаприлокапрат (тип 1); Labrafac™ Lipophile WL 1349 — триглицериды средней цепи; Lauroglycol® FCC — монолаурат пропиленгликоля; Plurol Oleique® CC 497 — полиглицерил-3 диолеат; Solutol® HS 15 — полиэтиленгликоль 660 12-гидроксистеарат; «—» не применимо.

Notes: Kolliphor® RH 40 — polyethylene glycol glycerol hydrostearate or polyoxyl 40 hydrogenated castor oil; ethyl oleate — fatty acid ester, condensation of oleic acid+ethanol; Kollisolv® MCT-70 — caprylic/capric triglyceride; Gelucire® 50/13 — stearyl polyoxyl-32 glyceride; Labrasol® — glycerides capryloCapryol macrogol-8; Capryol® 90 — propylene glycol monocaprylate; Capryol® PGMC — propylene glycol monocapryl (type 1); Maisine® CC — glyceryl monolinoleate; Kollisolv® P124 — polyoxyethylene poloxamer 124; Kollisolv® GTA — glyceryl triacetate; Maisine® 35-1 — glyceryl monolinoleate; Gelucire® 44/14 — lauroyl polyoxyl-32 glyceride; Cremophor® EL — polyethyleneglycol ricinoleate glycerin (or polyoxyl 35 castor oil; Transcutol® HP, P — diethylene glycol monoethyl ether; Kollisolv® PYR — 2-pyrrolidone; Labrafac™ PG — propylene glycol dicaprylate/dicaprate; Pecceol® — glyceryl monooleate (type 40); Labrafac™ MC 60 — glycerol monocaprylocaprate (type 1); Labrafac™ Lipophile WL 1349 — medium chain triglycerides; Lauroglycol® FCC — propylene glycol monolaurate; Plurol Oleique® CC 497 — polyglyceryl-3 dioleate; Solutol® HS 15 — polyethyleneglycol 660 12-hydroxystearate; (—) is not applicable.

Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.

Source: the table is prepared by the authors using their own data.

Таблица 3

Оценка способности к эмульгированию модельных составов систем растворителей (плацебо)

Table 3

Evaluation of the emulsification ability of model solvent system compositions (placebo)

Система растворителей	Визуальная оценка при добавлении воды очищенной (1:10)
Capryol® 90 — Твин-20 (1:1)	Однородное смешивание, образование эмульсии
Kolliphor® RH-40 — Labrafac™ PG (3:1)	
Kolliphor® RH-40 — Peceol® (1:1)	
Kolliphor® RH-40 — Lauroglycol® FCC (1:1)	
Kolliphor® RH-40 — ПЭГ 300 (3:1)	
Kolliphor® RH-40 — ПЭГ 400 (3:1)	
Kolliphor® RH-40 — ПЭГ 600 (3:1)	
Kolliphor® RH-40 — Transcutol® HP(9:1)	
Cremophor® EL — Labrafac™ PG (9:1)	
Labrasol® — Transcutol® HP (1:1)	
Labrasol® — Lauroglycol® FCC (1:1)	
Labrasol® — ПЭГ-300 (1:1)	
Labrasol® — ПЭГ-400 (1:1)	
Labrasol® — ПЭГ-600 (1:1)	
Capryol® 90-Labrasol® (9:1)	Фазовое разделение
Capryol® 90-Labrafac™ PG (1:1)	
Capryol® 90 — Labrafac™ PG (9:1)	
Capryol® 90 — Kolliphor® RH-40 (1:1)	
Capryol® 90 — Твин 80 (1:1)	
Kolliphor® RH-40 — Этилолеат (1:1)	
Kolliphor® RH-40 — МСТ®-70 (1:1)	
Cremophor® EL — Peceol® (1:1)	
Cremophor® EL — Lauroglycol® FCC (1:1)	
Cremophor® EL — ПЭГ 300 (1:1)	
Cremophor® EL — ПЭГ 400 (1:1)	
Cremophor® EL — ПЭГ-600 (1:1)	
Cremophor® EL — Transcutol® P(3:1)	
Cremophor® EL — Этилолеат (1:1)	
Cremophor® EL — МСТ®-70 (1:1)	
Cremophor® EL — Capryol® 90 (1:1)	
Labrasol® — Transcutol® P(3:1)	
Labrasol® — Kollisolv® МСТ — 70 (1:1)	
Labrasol® — Kollisolv® МСТ — 70 (3:1)	
Labrasol® — Этилолеат (1:1)	
Capryol® 90-Labrasol® (3:1)	Образование осадка
Capryol® 90 — Labrafac™ PG (3:1)	
Kolliphor® RH-40 — Labrafac™ PG (1:1)	
Kolliphor® RH-40 — Transcutol® (3:1)	

Примечания: Kolliphor® RH 40 — полиэтиленгликоля глицерингидростеарат или полиоксил 40 гидрогенизированное касторовое масло; этилолеат — сложный эфир жирной кислоты, конденсация олеиновой кислоты+этанола; Kollisolv® МСТ-70 — каприловый/каприновый триглицерид; Labrasol® — глицериды каприлокаприол макрогол-8; Capryol® 90 — монокаприлат пропиленгликоля; Cremophor® EL — рицинолеат полиэтиленгликоля глицерин или полиоксил 35 касторовое масло; Transcutol® HP, P — моноэтиловый эфир диэтиленгликоля; Labrafac™ PG — пропиленгликоль дикаприлат/дикапрат; Peceol® — глицерил моноолеат (тип 40).

Notes: Kolliphor® RH 40 — polyethylene glycol glycerol hydrostearate or polyoxyl 40 hydrogenated castor oil; ethyl oleate — fatty acid ester, condensation of oleic acid+ethanol; Kollisolv® МСТ-70 — caprylic / capric triglyceride; Labrasol® — glycerides capryloCapryol macrogol-8; Capryol® 90 — propylene glycol monocaprylate; Cremophor® EL — polyethyleneglycol ricinoleate glycerin or polyoxyl 35 castor oil; Transcutol® HP, P — diethylene glycol monoethyl ether; Labrafac™ PG — propylene glycol dicaprylate/dicaprate; Peceol® — glyceryl monooleate (type 40).

Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.
Source: the table is prepared by the authors using their own data.

Таблица 4

Результаты испытаний модельных составов СЭСД адамантилбромфениламина

Table 4

Test results of model compositions of SEDDS adamantylbromophenylamine

Система растворителей	Показатель растворимости	Визуальная оценка при добавлении воды очищенной (1:10)
Cremophor® EL — Labrafac™ PG (9:1)	Растворим	Образование эмульсии
Kolliphor® RH-40 — Peceol® (1:1)	Растворим при нагревании до 60±0,5 °С	
Kolliphor® RH-40 — ПЭГ 600 (3:1)	Растворим	Образование осадка
Labrasol® — Transcutol® HP (1:1)	Растворим	
Labrasol® — Lauroglycol® FCC (1:1)	Растворим	
Kolliphor® RH-40 — Transcutol® HP (9:1)	Растворим при нагревании до 55±0,5 °С	
Capryol® 90 — Твин-20 (1:1)	Нерастворим	
Kolliphor® RH-40 — Labrafac™ PG (3:1)	Нерастворим	—
Kolliphor® RH-40 — Lauroglycol® FCC (1:1)	Нерастворим	—
Kolliphor® RH-40 — ПЭГ 300 (3:1)	Нерастворим	—
Kolliphor® RH-40 — ПЭГ 400 (3:1)	Нерастворим	—
Labrasol® — ПЭГ-300 (1:1)	Нерастворим	—
Labrasol® — ПЭГ-400 (1:1)	Нерастворим	—
Labrasol® — ПЭГ-600 (1:1)	Нерастворим	—

Примечания: Kolliphor® RH 40 — полиэтиленгликоля глицерингидростеарат или полиоксил 40 гидрогенизированное касторовое масло; этилолеат — сложный эфир жирной кислоты, конденсация олеиновой кислоты+этанола; Labrasol® — глицериды каприлокаприол макрогол-8; Capryol® 90 — монокаприлат пропиленгликоля; Cremophor® EL — рицинолеат полиэтиленгликоля глицерин или полиоксил 35 касторовое масло; Transcutol® HP — моноэтиловый эфир диэтиленгликоля; Labrafac™ PG — пропиленгликоль дикаприлат/дикапрат; Peceol® — глицерил моноолеат (тип 40); Lauroglycol® FCC — монолаурат пропиленгликоля; «—» не применимо.
Notes: Kolliphor® RH 40 — polyethylene glycol glycerol hydrostearate or polyoxyl 40 hydrogenated castor oil; ethyl oleate — fatty acid ester, condensation of oleic acid+ethanol; Labrasol® — glycerides capryloCapryol macrogol-8; Capryol® 90 — propylene glycol monocaprylate; Cremophor® EL — polyethyleneglycol ricinoleate glycerin or polyoxyl 35 castor oil; Transcutol® HP — diethylene glycol monoethyl ether; Labrafac™ PG — propylene glycol dicaprylate/dicaprate; Peceol® — glyceryl monooleate (type 40); Lauroglycol® FCC — propylene glycol monolaurate; (—) is not applicable.
Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.
Source: the table is prepared by the authors using their own data.

Согласно полученным результатам, модельный состав СЭСД адамантилбромфениламина представлен в табл. 5.

Для оптимизации количественного состава СЭСД адамантилбромфениламина построена и проанализирована тернарная фазовая диаграмма для системы Cremophor® EL — Labrafac™ PG — ВО (рис. 2).

Таблица 5

Состав СЭСД адамантилбромфениламина, содержащий 10 мг адамантилбромфениламина

Table 5

Composition of the adamantylbromophenylamine SEDDS containing 10 mg of adamantylbromophenylamine

Состав	Масса, г
Адамантилбромфениламин	0,010
Cremophor® EL	0,135
Labrafac™ PG	0,015
Всего:	0,160

Примечания: Cremophor® EL — рицинолеат полиэтиленгликоля глицерин (или полиоксил 35 касторовое масло; Labrafac™ PG — пропиленгликоль дикаприлат/дикапрат.
Notes: Cremophor® EL — polyethyleneglycol ricinoleate glycerin or polyoxyl 35 castor oil; Labrafac™ PG — propylene glycol dicaprylate/dicaprate.
Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.
Source: the table is prepared by the authors using their own data.

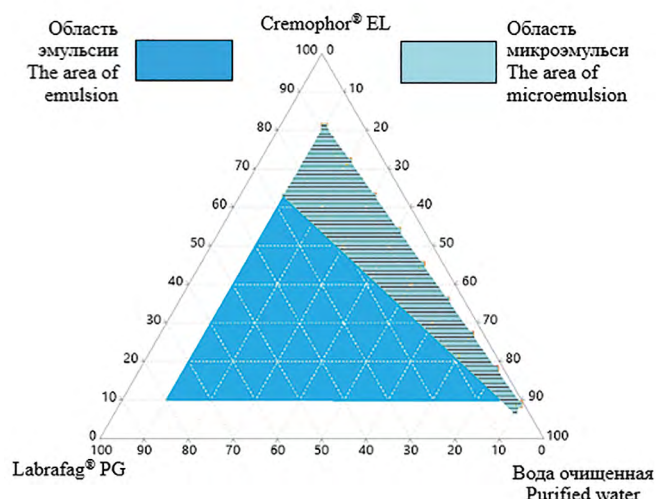


Рис. 2. Тернарная фазовая диаграмма для состава Cremophor® EL — Labrafac™ PG — вода очищенная
Fig. 2. Ternary phase diagram for the composition Cremophor® EL — Labrafac™ PG — Purified water

Примечания: Cremophor® EL — рицинолеат полиэтиленгликоля глицерин (или полиоксил 35 касторовое масло; Labrafac™ PG — пропиленгликоль дикаприлат/дикапрат.
Notes: Cremophor® EL — polyethyleneglycol ricinoleate glycerin or polyoxyl 35 castor oil; Labrafac™ PG — propylene glycol dicaprylate/dicaprate.

Источник: рисунок подготовлен авторами.
Source: the figure is prepared by the authors.

На представленной диаграмме изображены области образования микроэмульсии и эмульсии для исследуемой системы. Стоит отметить, что в данном составе, Cremophor® EL является эмульгатором, который способствует образованию микроэмульсии, а Labrafac™ PG используется как масляная фаза, улучшающая растворимость и стабильность системы. ВО является дисперсионной средой, необходимой для формирования эмульсии.

Фазовая диаграмма демонстрирует зависимость фазового состояния системы от соотношения её компонентов, где по осям отложены массовые доли эмульгатора Cremophor® EL, масляной фазы Labrafac™ PG и ВО. Анализ диаграммы позволяет выделить две основные области: в центральной части, наблюдается область грубых эмульсий, характеризующихся низкой стабильностью (размер частиц более 200 нм) и требующих механической стабилизации. По периферии же диаграммы, где преобладает одна из фаз, формируется термодинамически устойчивая область микроэмульсий — прозрачных систем с размером частиц менее 200 нм.

Диаграмма демонстрирует, при каких соотношениях компонентов система образует микроэмульсию (прозрачную, термодинамически стабильную) или обычную эмульсию (мутную, менее стабильную).

Для дальнейшей оптимизации, на основании построенной диаграммы, отобраны три состава и проведена оценка времени образования эмульсии из них при добавлении ВО (табл. 6).

Быстрее всего эмульсия образовывалась при перемешивании состава 2. Немного большее времени требовалось составу 3 (на 22 с дольше). Гораздо больше времени для эмульгирования требовалось составу 1 — разница составляет несколько минут. Меньшее количество ПАВ относительно масляной фазы при одинаковом качественном составе ВВ, по сравнению с составами 2 и 3, приводит к увеличению времени образования эмульсии, что подтверждает известные закономерности: увеличение концентрации ПАВ повышает стабильность эмульсии.

**Испытания стабильности модельных составов СЭД адамантилбромфениламина /
Stability tests of model compositions of SEDDS
adamantylbromophenylamine**

На следующем этапе исследования, оценивалась стабильность модельных составов через 2, 4, 6, 8, 12, 24 часа после перемешивания. На протяжении 24 часов все эмульсии оставались стабильными: помутнения раствора, разделения фаз и прочих признаков неустойчивости эмульсий не наблюдалось, что свидетель-

Таблица 6

Составы и время образования эмульсий

Table 6

Compositions and formation times of emulsions

№	Масляная фаза	Поверхностно-активное вещество (эмульгатор)	Соотношение масляной фазы к поверхностно-активное вещество	Время образования эмульсии
1	Labrafac™ PG	Cremophor® EL	3:7	4 мин 10 сек
2	Labrafac™ PG	Cremophor® EL	2:8	1 мин 34 сек
3	Labrafac™ PG	Cremophor® EL	1:9	1 мин 56 сек

Примечания: Cremophor® EL — рицинолеат полиэтиленгликоля глицерин (или полиоксил 35 касторовое масло; Labrafac™ PG — пропиленгликоль дикаприлат/дикапрат.
Notes: Cremophor® EL — polyethyleneglycol ricinoleate glycerin or polyoxyl 35 castor oil; Labrafac™ PG — propylene glycol dicaprylate/dicaprate.
Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.
Source: the table is prepared by the authors using their own data.

Таблица 7

Проведение циклов заморозание-оттаивание

Table 7

Carrying out freeze-thaw cycles

Состав	Наблюдения			
	1-й цикл	2-й цикл	3-й цикл	4-й цикл
1	Прозрачная голубоватая эмульсия, осадок не образовался	Прозрачная голубоватая эмульсия, образование осадка		
2		Прозрачная голубоватая эмульсия, осадок не образовался	Прозрачная голубоватая эмульсия, образование осадка	
3		Прозрачная эмульсия, осадок не образовался		

Источник: таблица составлена авторами по собственным данным.
Source: the table is prepared by the authors using their own data.

ствует о правильном выборе модельных составов на предыдущем этапе разработки.

После оценки стабильности модельных составов оценивалось влияние разведения модельных составов СЭСД адамантилбромфениламина в средах ВО, 0,1 М хлороводородной кислоты и фосфатном буферном растворе (рН 6,8). По результатам проведённого анализа, ни в одном из образцов не образовывался осадок. Все составы эмульсий успешно прошли данное испытание.

Затем проводилось 6 циклов нагревания—охлаждения. По результатам данного испытания, все составы эмульсий, выдержали данное испытание.

Для оценки влияния циклов заморозание—оттаивание на эмульгирующие свойства СЭСД адамантилбромфениламина в виде концентрата проведены соответствующие исследования (табл. 7).

По результатам данного испытания только состав 3 успешно прошёл все 4 цикла испытаний заморозание—оттаивание. Для остальных составов осадок выпадал: после второго цикла (состав 1) и третьего (состав 2) циклов испытаний.

Ограничения исследования / Study limitations

1. При оптимизации состава СЭСД адамантилбромфениламина не применялась теория гидрофильно-липофильного баланса.

2. Проведены испытания визуальной физической стабильности модельных составов СЭСД ада-

мантилбромфениламина, но не оценена химическая стабильность.

3. При оценке физической стабильности модельных составов СЭСД адамантилбромфениламина не измерены их дзета-потенциалы.

Заключение / Conclusion

В ходе проведённых исследований разработан состав жидкой СЭСД адамантилбромфениламина в виде предэмульсионного концентрата: АФС: адамантилбромфениламин — 10,0 мг; ВВ: Cremophor® EL — 135,0 мг; Labrafac™ PG — 15,0 мг. Установлено, что жидкая СЭСД адамантилбромфениламина конечного состава устойчива к различным рН среды и объёмам разведения и остаётся стабильной после шести циклов нагревания до $45 \pm 0,5$ °С — охлаждения до $4 \pm 0,5$ °С, и четырёх циклов заморозания до $-20 \pm 0,5$ °С — оттаивания.

В продолжение работы будут описаны результаты исследований по: определению размера частиц эмульсии, полученной из СЭСД адамантилбромфениламина, методом динамического светорассеяния; адсорбирующей способности инертных пористых носителей для разработанного состава СЭСД ЛС; получению твёрдой лекарственной формы для перорального применения и изучению её кинетики растворения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Гаврилов Д. И. — разработка дизайна исследования, выполнение исследования, анализ полученных результатов, написание текста и редактирование рукописи; Маркеев В. Б. — анализ полученных результатов исследования и редактирование рукописи; Выхристюк М. С. — анализ полученных результатов исследования и написание текста рукописи; Тишков С. В. — разработка дизайна исследования, анализ полученных результатов, редактирование рукописи; Бlynская Е. В. — разработка дизайна исследования, анализ полученных результатов, утверждение рукописи; Дорофеев В. Л. — анализ полученных результатов, финальное утверждение рукописи.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Authors' participation

Gavrilov DI — development of the research design, execution of the research, analysis of the results obtained, writing the text and editing the manuscript; Markeev VB — analysis of the research results obtained and editing the manuscript; Vykhristyuk MS — analysis of the research results obtained and writing the text of the manuscript; Tishkov SV — development of the research design, analysis of the results obtained, editing the manuscript; Blynskaya EV — development of the research design, analysis of the results obtained, approval of the manuscript; Dorofeev VL — analysis of the results obtained, final approval of the manuscript.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» FGFG-2025-0004 «Поиск и изучение механизмов действия оригинальных лигандов EPAC1, транслокаторного белка (TSPO) 18 кДа, NMDA-рецепторов и рецепторов опознавания паттерна (PRRs), являющихся потенциальными фармакологическими мишенями для терапии заболеваний, в основе патогенеза которых лежат нейродегенерация и нейровоспаление».

Соответствие принципам этики

Авторы заявляют, что одобрение комитетом по этике не требовалось, поскольку были проанализированы обезличенные данные технологического процесса и в исследовании непосредственно не участвовали люди.

Funding

The work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal Research Center for Original and Promising Biomedical and Pharmaceutical Technologies FGFG-2025-0004 "Search and study of the mechanisms of action of original EPAC1 ligands, translocator protein (TSPO) 18 kDa, NMDA receptors and pattern recognition receptors (PRRs), which are potential pharmacological targets for the treatment of diseases whose pathogenesis is based on neurodegeneration and neuroinflammation".

Ethics approval

According to the authors, the analysis was based on previously published anonymised data (technological records), and the study did not involve direct participation of human subjects. Hence, this study is exempt from ethics approval.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Гаврилов Дмитрий Игоревич — к. фарм. н., н. с. лаборатории технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: gavrilov_di@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8821-4174>

РИНЦ SPIN-код: 9362-1920

Dmitrii I. Gavrilov — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Researcher of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: gavrilov_di@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8821-4174>

RSCI SPIN code: 9362-1920

Маркеев Владимир Борисович — к. фарм. н., с. н. с. лаборатории технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: markeev_vb@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2930-9397>

РИНЦ SPIN-код: 6113-2443

Vladimir B. Markeev — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Senior Researcher of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: markeev_vb@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2930-9397>

RSCI SPIN code: 6113-2443

Выхристюк Максим Сергеевич — аспирант института фармации и биотехнологии Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Российская Федерация

e-mail: maxviril@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-1326-3124>

РИНЦ SPIN-код: 7153-6125

Maxim S. Vykhristyuk — graduate student at the Institute of Pharmacy and Biotechnology of the Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow, Russian Federation

e-mail: maxviril@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-1326-3124>

RSCI SPIN code: 7153-6125

Тишков Сергей Валерьевич — к. фарм. н., в. н. с. лаборатории технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: tishkov_sv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8321-6952>
РИНЦ SPIN-код: 5117-7260

Блынская Евгения Викторовна — д. фарм. н., заведующий лабораторией технологии лекарственных препаратов отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: blynskaya_ev@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9494-1332>
РИНЦ SPIN-код: 2616-4690

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и. о. генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
РИНЦ SPIN-код: 3237-7268

Sergey V. Tishkov — PhD, Cand. Sci. (Pharm.), Leading Researcher of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: tishkov_sv@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8321-6952>
RSCI SPIN code: 5117-7260

Evgenia V. Blynskaya — PhD, Dr. Sci. (Pharm.), Head of the Laboratory of Drug Technology of the Department of Quality and Technology of Drugs Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: blynskaya_ev@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9494-1332>
RSCI SPIN code: 2616-4690

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: dorofeev_vl@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>
RSCI SPIN code: 3237-7268

Список литературы / References

1. Гаврилов Д.И., Тишков Т.В., Блынская Е.В. и др. Разработка подходов к созданию самоэмульгирующихся систем доставки лекарственных средств. *Фармацевтическое дело и технология лекарств*. 2023;1:34-42. [Gavrilov DI, Tishkov SV, Blynskaya EV, et al. Development of approaches to the creation of self-emulsifying drug delivery systems. *Farmaceuticheskoe delo i tekhnologiya lekarstv = Pharmaceutical Business and Drug Technology*. 2023;1:34-42 (In Russ.)]. doi: 10.33920/med-13-2301-03.
2. Гаврилов Д.И., Тишков Т.В., Блынская Е.В. и др. Вспомогательные вещества, применяемые для создания самоэмульгирующихся систем доставки лекарственных средств. *Фармацевтическое дело и технология лекарств*. 2023;1:25-33. [Gavrilov DI, Tishkov SV, Blynskaya EV, et al. Excipients used to create self-emulsifying drug delivery systems. *Farmaceuticheskoe delo i tekhnologiya lekarstv = Pharmaceutical Business and Drug Technology*. 2023;1:25-33 (In Russ.)]. doi: 10.33920/med-13-2301-02.
3. Bhalani DV, Nutan B, Kumar A, Singh Chandel AK. Bioavailability Enhancement Techniques for Poorly Aqueous Soluble Drugs and Therapeutics. *Biomedicines*. 2022 Aug 23;10(9):2055. doi: 10.3390/biomedicines10092055.
4. Koli AR, Ranch KM, Patel HP, et al. Oral bioavailability improvement of felodipine using tailored microemulsion: Surface science, *ex vivo* and *in vivo* studies. *Int J Pharm*. 2021 Mar 1;596:120202. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120202.
5. Koehl NJ, Henze LJ, Kuentz M, et al. Supersaturated Lipid-Based Formulations to Enhance the Oral Bioavailability of Venetoclax. *Pharmaceutics*. 2020 Jun 18;12(6):564. doi: 10.3390/pharmaceutics12060564.
6. Kesharwani R, Jaiswal P, Patel DK, et al. Lipid-Based Drug Delivery System (LBDDS): An Emerging Paradigm to Enhance Oral Bioavailability of Poorly Soluble Drugs. *Biomedical Materials & Devices*. 2023; 1:648-663. doi: 10.1007/s44174-022-00041-0.
7. Postina A, To D, Zöller K, Bernkop-Schnürch A. Oral peptide drug delivery: design of SEDDS providing a protective effect against intestinal membrane-bound enzymes. *Drug Deliv Transl Res*. 2025 Apr 24. doi: 10.1007/s13346-025-01852-6.

8. Laffleur F, Millotti G, Lagast J. An overview of oral bioavailability enhancement through self-emulsifying drug delivery systems. *Expert Opin Drug Deliv*. 2025 May;22(5):659-671. doi: 10.1080/17425247.2025.2479759.
9. Sandmeier M, Wong ET, Nikolajsen GN, et al. Oral formulations for cannabidiol: Improved absolute oral bioavailability of biodegradable cannabidiol self-emulsifying drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2025 Nov;255:114879. doi: 10.1016/j.colsurfb.2025.114879.
10. Mohamad Sukri N, Abd Rahim N, El Enshasy HA, et al. Comparative review of translational approaches in lipid-based and water-based encapsulation strategies for coenzyme Q10. *Drug Deliv Transl Res*. 2026 Feb;16(2):415-438. doi: 10.1007/s13346-025-02015-3.
11. Патент РФ на изобретение № 2376986/ 27.12.09. Бюл. № 36. Середенин С.Б., Пятин Б.М., Авдюнина Н.И., Алексеев К.В., Грушевская Л.Н., Сульдин А.С. Фармацевтическая композиция на основе ладастена. [Patent RUS № 2376986/ 27.12.09. Byul. №36 Seredenin SB, Pyatin BM, Avdyunina NI, Alekseev KV, Grushevskaya LN, Suldin AS. Pharmaceutical composition based on ladasten. (In Russ.)]. Доступно по: https://www.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2376986&TypeFile=html. Ссылка активна на 15.05.2026.
12. Сульдин А.С. Создание твёрдых лекарственных форм ладастена и комбинированного препарата психотропного действия: дис. на соискание учёной степени канд. фарм. наук. Пермь; 2015. [Suldin AS. Development of solid dosage forms of ladasten and a combined drug with psychotropic action. [dissertation] Perm; 2015. (In Russ.)].
13. Морозов И.С. Фармакология адамтанов / Морозов И.С., Петров В.И., Сергеева С.А. Волгоград: Волгоградская медицинская академия, 2001. 320 с. [Morozov IS. Farmakologiya adamantanov / Morozov IS, Petrov VI, Sergeeva SA. Volgograd: Volgograd medical academy, 2001. (In Russ.)].



Журнал непрерывного профессионального образования «Пациентоориентированная медицина и фармация» создан для развития и внедрения в клиническую практику технологий персонализированной медицины, включая «омиксные» биомаркеры, выбора методов лечения, а также клеточную и генную терапию; улучшения результатов лечения отдельных пациентов в реальной клинической практике с учётом целей, предпочтений, ценностей пациента, а также имеющихся экономических ресурсов, как на уровне пациента, так и на уровне системы здравоохранения.

Сайт журнала: www.patient-oriented.ru



Журнал «Качественная клиническая практика» публикует материалы по планированию и проведению клинических исследований лекарственных средств, фармакоэкономике, фармакоэпидемиологии, биомедицинской этике, фармаконадзору, которые используются в преподавательской работе во многих медицинских ВУЗах.

Сайт журнала: www.clinvest.ru



Журнал «Фармакокинетика и Фармакодинамика» освещает фундаментальные и прикладные аспекты доклинических и клинических исследований фармакокинетики, в частности терапевтического лекарственного мониторинга, фармакодинамического и биофармацевтического изучения препаратов, их взаимодействия, оценки их биодоступности и биоэквивалентности.

Сайт журнала: www.pharmacokinetica.ru



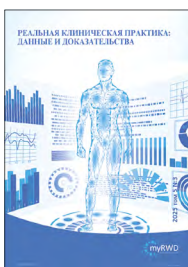
Журнал «Фармакогенетика и фармакогеномика» публикует оригинальные статьи о проведённых клинических, клинко-экспериментальных и фундаментальных научных работах, обзоры, лекции, описания клинических случаев, а также вспомогательные материалы по всем актуальным проблемам персонализированной медицины.

Сайт журнала: www.pharmacogenetics-pharmacogenomics.ru



Журнал «Антибиотики и химиотерапия» освещает проблемы поиска и получения новых антибиотиков, ферментов, биологически активных веществ, а также вопросы экспериментальной химиотерапии бактериальных и вирусных инфекций.

Сайт журнала: www.antibiotics-chemotherapy.ru



Журнал «Реальная клиническая практика: данные и доказательства» ставит своей целью предоставить средство для распространения и форум для обсуждения информации о том, как лекарственные препараты действуют в рутинной медицинской практике. Рубрики журнала включают как оригинальные исследования, так и обзоры использования реальных данных для оценки исходов лечения, принятия обоснованных медицинских решений в отношении лекарственных препаратов, медицинских изделий и других вмешательств.

Сайт журнала: www.myrwd.ru

