



СИБИРСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ

## СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

# DDTP-2023



II МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
“РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ - ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ”

г. Томск, 4-6 октября 2023



Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

**II Международная  
научно-практическая конференция  
РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ -  
ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

**VIII Международная конференция СНГ МГО  
по гуминовым инновационным технологиям (НИТ–2023)  
ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА И ФАРМАЦИЯ**

г. Томск, 04–06 октября 2023 г.

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ**

Томск  
Издательство СибГМУ  
2023

УДК 615.0(06)

ББК 52.82

Р 177

**Р 177 Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы. II**  
Международная научно-практическая конференция (г. Томск, 04-06  
октября 2023 г.): сборник материалов; под ред. М.В. Белоусова. – Томск:  
Изд-во СибГМУ, 2023. – 289 с.

ISBN 978-5-98591-172-5

Сборник содержит материалы II Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы», посвященной последним достижениям фундаментальных и прикладных исследований в области фармации и фармакологии.

В 2023 году Сибирский государственный медицинский университет отмечает несколько важных дат в истории развития ведущей в Сибири школы фармацевтического образования и науки:

- 135 лет Сибирскому государственному медицинскому университету
- 80 лет кафедре фармацевтической химии (ныне – кафедра фармацевтического анализа).

Сборник предназначен для для специалистов в области клинических дисциплин, экспериментальной фармакологии, фармации и биомедицины.

**Под редакцией:**

**М.В. Белоусова** – д-ра фарм. наук, профессора, зав. кафедрой фармацевтического анализа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

**Редакционная коллегия:**

**Е.И. Гулина** – ассистент кафедры фармацевтического анализа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

**С.В. Кривошеков** – канд. хим. наук, доцент кафедры фармацевтического анализа, зав. лабораторией контроля качества ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

УДК 615.0(06)

ББК 52.82

*Текст статей публикуется в авторской редакции. Ответственность за достоверность содержания работ лежит на авторах.*

ISBN 978-5-98591-172-5

© Сибирский государственный медицинский университет, 2023

© Макет изд-ва СибГМУ, 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СИМПОЗИУМ 1. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА.....</b>	<b>13</b>
<b>Химическая и фармацевтическая технология.....</b>	<b>13</b>
ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЕЙШЕГО ПОЛИМЕРА В КАЧЕСТВЕ ЗАМЕНЫ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНОВ <i>А.А. Аллянова, И.А. Сорокин, В.С. Чучалин.....</i>	13
ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО СЕРВИСА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИЗОФОРМЫ УРОКИНАЗЫ <i>Д.С. Байроченко, О.Н. Ринейская.....</i>	15
СИНТЕЗ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО СЕРОСОДЕРЖАЩЕГО ПРОИЗВОДНОГО УРАЦИЛА <i>Ю.И. Виноградова, С.А. Мещерякова, Ф.Х. Кильдияров, А.В. Самородов, Д.Р. Хузин, А.В. Шумадалова.....</i>	17
СИНТЕЗ И ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ АЛКИЛЗАМЕЩЕННЫХ ТИЕТАНИЛТИОУРАЦИЛА <i>Ю.И. Виноградова, С.А. Мещерякова.....</i>	19
РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНОЙ ПЛАЗМИДЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩЕЙ ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА ЧЕЛОВЕКА В СИСТЕМЕ E. COLI В РАСТВОРИМОЙ ФОРМЕ <i>Е.А. Волосникова, Т.И. Есина, Д.Н. Щербаков, Я.С. Гогина, Т.А. Терещенко, Н.В. Волкова, Е.Д. Даниленко.....</i>	20
ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА ИНТЕРФЕРОНА ГАММА И ДСРНК <i>С.Г. Гамалей, О.С. Иванова, Г.М. Сысоева, Г.М. Левагина, Е.С. Башкина, С.В. Усова, Е.Д. Даниленко.....</i>	22
ПРИРОДНЫЕ ХЛОРИНЫ КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТЕРАНОСТИКОВ В ОНКОЛОГИИ <i>М.А. Грин.....</i>	25
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГРАМИЦИДИНА С В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСА ВКЛЮЧЕНИЯ С И ГИДРОКСИПРОПИЛ- $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ <i>А.А. Дранников, А. Ди Мартино, М.В. Белоусов, М.Е. Трусова.....</i>	26
РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНОК С НПВС СЕЛЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ <i>А.А. Ковалева, Ю.Ю. Жидкова.....</i>	29
ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГЕЛЕЙ ПРОПРАНОЛОЛА ГИДРОХЛОРИДА <i>Н.С. Голяк, А.О. Михнюк.....</i>	30
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ IN VITRO КАК КЛЮЧЕВОЙ ЭЛЕМЕНТ РАЗРАБОТКИ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА <i>А.М. Павлов.....</i>	33
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ СЕЛЕНИЗИРОВАННОЙ ЛАМИНАРИИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ <i>Н.Э. Струпуль, В.Е. Силантьев, Н.В. Пучкова, Т.Ю. Дубская.....</i>	35

НОВЫЙ ВОДОРАСТВОРИМЫЙ ИК-ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР В РЯДУ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА А <i>Н.В. Суворов, П.В. Островерхов, В.А. Погорилый, С.И. Тихонов, Е.А. Плотникова, Н.Б. Морозова, А.Д. Плютинская, А.А. Панкратов, М.А. Грин</i> .....	38
ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ СОСТАВА СПРЕЯ С ЖИДКИМ ЭКСТРАКТОМ ПОЛЫНИ <i>О.А. Сушинская</i> .....	40
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ЖИДКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ АЛБЕНДАЗОЛА <i>Ю.И. Тихомирова, Н.О. Карабинцева, А.В. Душкин, В.И. Евсеенко, Е.С. Метелева</i> ....	43
РАЗДЕЛЕНИЕ МЕТОКСИПРОИЗВОДНЫХ ПСОРАЛЕНА МЕТОДОМ ПОЛУПРЕПАРАТИВНОЙ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ <i>М.И. Чуркин, Н.Г. Базарнова, И.В. Микушина</i> .....	46
<b>Организационные и регуляторные вопросы фармацевтической разработки и фармацевтической деятельности</b> .....	49
ОБЗОР КЛИНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ИНСУЛИНОТЕРАПИИ <i>А.А. Гражданкина, Е.В. Каракулова</i> .....	49
МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ИНФОРМАЦИОННОЙ АСИММЕТРИИ ПРИ МЕЖПРОФЕССИОНАЛЬНОМ СОТРУДНИЧЕСТВЕ УЧАСТНИКОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА <i>Е.И. Грибкова, Е.О. Лефанд</i> .....	51
ОБЗОР НОРМАТИВНОГО ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВА, РЕГЛАМЕНТИРУЮЩЕГО КОНКУРЕНТНЫЕ ЗАКУПКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГОСУДАРСТВЕННЫХ И МУНИЦИПАЛЬНЫХ НУЖД <i>И.В. Девальд, Е.В. Каракулова</i> .....	53
ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ ОСНОВЫ НОРМИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ (НА ПРИМЕРЕ ВОЕННО- МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ ИМЕНИ С.М. КИРОВА) <i>И.А. Лихогра, А.В. Добровольский</i> .....	57
ВЫБОР УНИФИЦИРОВАННЫХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ПРОЕКТА ПОЛНОГО ЦИКЛА РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА <i>А.М. Пятигорский</i> .....	59
АНАЛИЗ СПРОСА НА ЭНТЕРОСОРБЦИОННЫЕ ПРЕПАРАТЫ <i>А.В. Бондарев, Е.Т. Жилякова, М. Риффи, Н.Б. Новикова</i> .....	61
СОЦИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ В АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЯХ Г. НОВОСИБИРСКА И НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ <i>И.А. Харина, И.А. Джупарова</i> .....	64
ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ПОВЫШЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РЕГИОНАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ МЕДИЦИНЫ КАТАСТРОФ В УСЛОВИЯХ ВНУТРЕННИХ РИСКОВ И ВНЕШНИХ УГРОЗ <i>Л.Ю. Черникова, Д.А.Болдышев, Н.Л. Денисов, Е.В. Каракулова</i> .....	66

<b>Контроль качества лекарственных средств и специализированных продуктов питания .....</b>	<b>69</b>
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ПОДЛИННОСТИ, ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ ПОРОШКА БАДЯГИ (SPONGILLA) ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПОСТАВЩИКОВ И НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ <i>В.М. Дубейко, Е.В. Акульшина, О.В. Евдокимова .....</i>	<b>69</b>
РАЗРАБОТКА НОВОГО МОДИФИЦИРОВАННОГО МЕЗОПОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО СЕНСОРА ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛОВАСТАТИНА <i>В.М. Богословский .....</i>	<b>71</b>
РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМИОДАРОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ <i>Е.А. Горн, К.И. Казанцева, Д.А. Кургачев .....</i>	<b>74</b>
О СТАНДАРТИЗАЦИИ КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ КУСТАРНИКОВОГО <i>Л.Г. Дворникова .....</i>	<b>76</b>
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ <i>Р.Э. Ермаченков, И.И. Тернинко .....</i>	<b>79</b>
ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ $\alpha(1,2)$ -L-РАМНО- $\alpha(1,4)$ -D-ГАЛАКТОПИРАНОЗИЛУРОНАНА ACORUS CALAMUS L. В ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ <i>А.В. Зыкова, Д.А. Исаков, С.В. Кривощевых .....</i>	<b>82</b>
СТАНДАРТИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ АИРА БОЛОТНОГО (ACORUS CALAMUS L.). СОДЕРЖАНИЕ ГАЛАКТУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ <i>С.В. Кривощевых, Д.А. Исаков, А.В. Зыкова .....</i>	<b>84</b>
ВОЗМОЖНОСТЬ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕТУЛИНА И ДИАЦЕТАТА БЕТУЛИНА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ <i>Е. Нурпейис, Г.Б. Слепченко .....</i>	<b>87</b>
СОВРЕМЕННЫЕ ЗАДАЧИ ЭЛЕКТРОАНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ <i>Г.Б. Слепченко, О.Л. Мезенцева, Е. Нурпейис, Е.С. Моисеева, А.А. Нурмамбетова .....</i>	<b>90</b>
ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СОЕДИНЕНИЯ С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ <i>А.Т. Цечёев, Ю.Н. Карпенко .....</i>	<b>93</b>
<b>Системы доставки лекарственных средств для тераностики .....</b>	<b>96</b>
ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ РАКОВЫХ КЛЕТОК НА НОСИТЕЛИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ <i>Е.Б. Акимова, Е.Г. Комарова, Е.А. Казанцева, Е.Д. Порохова, И.А. Хлусов .....</i>	<b>96</b>
ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ТАРГЕТНЫХ РАДИОНУКЛИДНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭКСПРЕССИИ HER2 В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ <i>Р.Н. Варвашеня, Е.А. Безверхняя, М.С. Третьякова, Ф.Ш. Юлдашева, А.С. Фоминых,</i>	

<i>Е.В. Плотников, А.А. Шульга, Е.В. Коновалова, А.Г. Воробьева, М.В. Белоусов, В.М. Толмачев, М.С. Ларькина, С.М. Деев</i> .....	98
ПРИМЕНЕНИЕ АСКОРБАТА ЛИТИЯ В КАЧЕСТВЕ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПРИ НЕЙТРОННОМ ОБЛУЧЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КУЛЬТУР	
<i>А.Г. Дрозд, М.С. Третьякова, Е.В. Плотников</i> .....	100
ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO ТАРГЕТНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ КОНЬЮГАТОВ НА ОСНОВЕ АНТИ-HER2 КАРКАСНОГО БЕЛКА И ИНГИБИТОРА ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ТУБУЛИНА	
<i>А.А. Прач, В.В. Боденко, А.С. Фоминых, М.С. Третьякова, Р.Н. Варвашения, М.С. Ларькина, Е.В. Плотников, М.В. Белоусов, С.М. Деев, Е.В. Коновалова, А.А. Шульга, А.М. Орлова, В.М. Толмачев</i> .....	102
ИМПРЕГНАЦИЯ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ СИСТЕМОЙ PLGA/5-ФУ ДЛЯ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ПРЕПАРАТА	
<i>Е.И. Сенькина, Е.Г. Комарова, А.С. Ложкомоев, Е.А. Казанцева, К.А. Просолов</i> .....	104
SYNTHESIS AND INITIAL PRECLINICAL EVALUATION OF NOVEL UREA-BASED PSMA INHIBITORS	
<i>L.A. Hasnowo, M.S. Larkina, E. Plotnikov, V. Bodenko, F. Yuldasheva, E. Stasyuk, S.A. Petrov, N.Y. Zyk, A.E. Machulkin, N.I. Vorozhtsov, E.K. Beloglazkina, V.G. Nenajdenko, V. Tolmachev, A. Orlova, A.G. Majouga, M.S. Yusubov</i> .....	107
ВОЗМОЖНОСТЬ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА АДРЕСНЫМ БЕЛКОМ DARPIN (HE)3-E01, МЕЧЕННЫМ <sup>99m</sup> Tc	
<i>Г.Е. Янович, Ф.Ш. Юлдашева, М.С. Третьякова, Р.Н. Варвашения, Л.А. Хасново, Е.В. Плотников, М.В. Белоусов, С.М. Деев, А.А. Шульга, Е.В. Коновалова, В.М. Толмачев, М.С. Ларькина</i> .....	109
<b>Рациональное природопользование и разработка лекарственных растительных препаратов</b> .....	111
ПЕРСПЕКТИВЫ ПОИСКА И РАЗРАБОТКИ ОСТЕОГЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	
<i>Е.Ю. Авдеева, И.А. Хлусов, М.В. Белоусов</i> .....	111
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА СКОРЛУПЫ ГРЕЦКОГО ОРЕХА	
<i>И.Е. Васильева, О.В. Кригер</i> .....	113
ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ <i>AROCINUM CANNABINUM L.</i> , ВЫРАЩЕННОГО В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ	
<i>И.И. Ермолаев, М.А. Ханина, М.Г. Лежнина</i> .....	116
ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ НОНЕИ РУССКОЙ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ	
<i>М.Е. Карташова, В.В. Величко, С.Д. Кучерова, О.М. Долганова</i> .....	120
ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕШНИХ И МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ШАЛФЕЯ ЛУГОВОГО ( <i>SALVIA PRATENSIS</i> )	
<i>К.И. Каишфуллина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина</i> .....	123
АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ХИМИЧЕСКОЙ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ПРЕПАРАТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ	
<i>В.А. Куркин</i> .....	125

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ И ЗАМОРАЖИВАНИЯ ВОЗДУШНО-СУХИХ РУДБЕККИ ШЕРШАВОЙ ЦВЕТКОВ НА ЭКСТРАКЦИЮ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ <i>Р.И. Лукашов, Н.С. Гурина</i> .....	127
ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОПОЛАСКИВАТЕЛЯ ДЛЯ ПОЛОСТИ РТА НА РАСТИТЕЛЬНОЙ ОСНОВЕ <i>А.И. Марахова, С.Н. Панов, С.Н. Разумова, В.Ю. Жилкина</i> .....	129
ХИМИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ СТЕРОИДНОЙ СТРУКТУРЫ ГРУППЫ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДОВ <i>М.С. Рубанкова</i> .....	131
ПОЛИСАХАРИДНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ КАК АГЕНТЫ ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА <i>В.Е. Силантьев, А.С. Белоусов, М.Е. Шмелев, Ф.О. Трухин, Р.А. Шатилов, В.В. Кумейко</i> .....	133
КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОДНЫХ И ВОДНО-СПИРТОВЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЯХ ИЗ ЯСНОТКИ ПУРПУРНОЙ ТРАВЫ <i>В.А. Терлецкая, Р.И. Лукашов</i> .....	134
ИССЛЕДОВАНИЕ МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ SAUSSUREA SALICIFOLIA L. <i>К.Н. Хайдарова, А.М. Хусаинова, Е.И. Гулина, В.Ю. Андреева</i> .....	137
КАПИЛЛЯРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ СЕРПУХИ ВЕНЦЕНОСНОЙ (SERRATULA CORONATA L.) <i>Д.В. Шишканов, Е.Н. Курманова</i> .....	138
<b>СИМПОЗИУМ 2. АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИИ</b> .....	142
<b>Фундаментальные и прикладные аспекты исследований фармакодинамики и фармакокинетики новых лекарственных кандидатов</b> .....	142
ФАРМАКОКИНЕТИКА НОВОГО АНАЛЬГЕТИКА ПРОИЗВОДНОГО 1,4- БЕНЗОДИАЗЕПИН-2-ОНА <i>А.Е. Алифоренко, В.В. Быков, В.С. Мотов, А.И. Венгеровский</i> .....	142
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЦИКОРИЯ НА ФЕРТИЛЬНОСТЬ КРЫС САМОК И РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА ПРИ ВВЕДЕНИИ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ <i>А.Н. Бабенко, Л.В. Крепкова, О.П. Дмитриева, М.В. Боровкова</i> .....	145
ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВОГО СТИМУЛЯТОРА РАСТВОРИМОЙ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ <i>В.В. Быков, В.А. Хазанов, А.И. Венгеровский</i> .....	147
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АГОНИСТА КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ <i>Н.В. Гуркин, В.В. Быков, И.В. Ильина, К.П. Волчо, Н.Ф. Салахутдинов, А.И. Венгеровский</i> .....	148
ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА НА АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ НОРМОТЕНЗИВНЫХ КРЫС <i>О.И. Дунаева, О.И. Алиев, А.Н. Волов, А.В. Сидехменова, М.Б. Плотников</i> .....	150



ДИУРЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЛОПУХА <i>Л.В. Жалнина, Н.Э. Коломиец, А.К.Х. Али, Т.П. Новожеева, Р.С. Боев, С.М.Сафронов, С.В.Бородина</i> .....	152
КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У КРЫС ЭКСТРАКТОМ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО <i>Л.В. Крпкова, А.Н. Бабенко, С.В. Лемясева, О.С. Кузина</i> .....	154
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КАПСУЛ ЗЮЗНИКА ЕВРОПЕЙСКОГО <i>О.С. Кузина, М.В. Боровкова, Л.В. Крпкова</i> .....	157
ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ БЕТУЛИНОВОГО ЭФИРА ИНДОМЕТАЦИНА ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ МЫШАМ <i>В.Ю.Мионов, О.А. Кайдаш</i> .....	159
РАЗРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА, ОКАЗЫВАЮЩЕГО АНТИТОКСИЧЕСКОЕ И АНКСИОЛИТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Т.П. Новожеева, Т.В. Шушпанова, Н.Э. Коломиец, Л.Н. Новицкая, А.В. Матвеевко, М.В.Мелешко, С.М.Сафронов, Р.С. Боев</i> .....	161
ВЛИЯНИЕ ХЛОРОХИНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ <i>OPISTHORCHIS FELINEUS</i> <i>IN VITRO</i> <i>Е.А. Перина, Е.Е. Буйко</i> .....	164
ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ НАКОПЛЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОГО ГЕПАТОТРОПНОГО КОНТРАСТНОГО СОЕДИНЕНИЯ GDOF-Mn-DTPA В ПЕЧЕНИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ НА МОДЕЛЯХ ДИФFUЗНОЙ ПАТОЛОГИИ <i>А.С. Подъяблонский, М.В. Белоусов, О.Ю. Бородин, Т.П. Новожеева, С.В. Бородина, В.Ю. Усов</i> .....	165
ПРИМЕНЕНИЕ ЛАКТОФЕРРИНА В ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА <i>М.М. Рахматуллаева</i> .....	168
ДОЗА – ЭФФЕКТ (ФАРМАКОКИНЕТИКА-ФАРМАКОДИНАМИКА) ПРЯМЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ <i>М.А. Соловьев, Н.И. Гуляев, Л.Ю. Котловская, П.О. Федорова, В.В. Удут</i> .....	171
СТРЕССПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА <i>Е.В. Ферубко</i> .....	174
ВЛИЯНИЕ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ КАЛЛУСНЫХ КЛЕТОК МОРКОВИ, СОДЕРЖАЩИХ РЕКОМБИНАНТНУЮ ЩЕЛОЧНУЮ ФОСФАТАЗУ ЧЕЛОВЕКА, НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА МЫШЕЙ С ДИЗБИОЗОМ, ИНДУЦИРОВАННЫМ АМПИЦИЛЛИНОМ <i>Ю.В. Чекусова, Е.Н. Мотова, В.С. Мотов, В.В. Быков, Н.А. Шмыкова</i> .....	175
<b>Регенеративная медицина и клеточные технологии</b> .....	177
MIR-191-5P И MIR-192-5P В ПЕЧЕНИ ПАЦИЕНТОВ: ПРОТЕКТОРЫ ИЛИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ В НАЖБП? <i>М.М. Бограя, А.Н. Минченко, М.А. Вульф, Н.Д. Газатова, Л.С. Литвинова</i> .....	177
GENERATING POLYMERIC PARTICLES VIA ANTI-SOLVENT ELECTROSPRAYING FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS <i>А.М. Gordeeva, G.B. Suchorikov</i> .....	180

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО CAR-КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА «АНТИ-HER2-CAR-T/ CAR-NK» <i>Н.А. Горячева</i> .....	182
КРЕМНИЙ-УГЛЕРОДНЫЕ ПОКРЫТИЯ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ <i>А.С. Гренадёр, А.А. Соловьёв, В.В. Малащенко, Л.С. Литвинова, О.Г. Хазиахматова, Н.Д. Газатова, И.А. Хлусов, М.О. Жульков, А.М. Чернявский Д.А. Сирота</i> .....	184
КРИТЕРИИ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В КУЛЬТУРЕ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ <i>М.В. Дворниченко, И.А. Хлусов, Д.В. Черняховская</i> .....	188
БИОРЕЗОРБИРУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ТРАВМАТОЛОГИИ <i>Г.Е. Дубиненко, В.С. Бочаров, Д.А. Попков, А.В. Попков, С.И. Твердохлебов</i> .....	191
МАРКЕРЫ ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА В ДИФфуЗИОННОЙ КАМЕРЕ IN VIVO: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ <i>Е.А. Зиновьев, Н.С. Митряйкин, Е.А. Марзоль, М.В. Дворниченко</i> .....	193
АДДИТИВНОЕ ПРОИЗВОДСТВО МНОГОСЛОЙНЫХ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПЛЕНОК ЭЛЮИРУЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО <i>П.И. Прошин, А.С. Абдурашитов, О.А. Синдеева, А.А. Иванова, Г.Б. Сухоруков</i> .....	195
АНТОЦИАНСОДЕРЖАЩИЙ КОМПЛЕКС ИЗ <i>ARONIA MELANOCARPA (MICHX.) ELLIOTT</i> КАК КОРРЕКТОР ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ МИЕЛОСУПРЕССИИ У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС <i>О.Ю. Рыбалкина, Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, Г.И. Калинин, В.Ю. Андреева, В.В. Жданов</i> .....	198
ИЗУЧЕНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ 4-R-2-ГИДРОКСИ-4-ОКСО-2-БУТЕНОВЫХ КИСЛОТ <i>Ф.В. Собин, Н.А. Пулина, А.И. Краснова, С.С. Зыкова</i> .....	200
ОСТЕОДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЫ ММСК И МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ IN VITRO В ПРИСУТСТВИИ ТРЕХМЕРНОГО ИСКУССТВЕННОГО МАТРИКСА, ИМИТИРУЮЩЕГО РЕГЕНЕРИРУЮЩУЮ КОСТНУЮ ТКАНЬ <i>К.А. Юрова, О.Г. Хазиахматова, В.В. Малащенко, О.Б. Мелащенко, Д.Д. Лигатюк, П.А. Иванов, И.А. Хлусов, Л.С. Литвинова</i> .....	202
DEVELOPMENT OF NEW DRUGS BASED ON TEMOZOLOMIDE ANALOGUES FOR CHEMOTHERAPY OF MALIGNANT NEOPLASMS USING CELLULAR TECHNOLOGIES <i>А. Н. Al-Humairi</i> .....	205
<b>ВОСЬМАЯ МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ СНГ МГО ПО ГУМИНОВЫМ ИННОВАЦИОННЫМ ТЕХНОЛОГИЯМ (НИТ–2023) «ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА И ФАРМАЦИЯ»</b> .....	208
<b>Гуминовые вещества как сложные системы</b> .....	208
APPROACHES TO THE STANDARITIZATION OF HUMIC ACIDS OF LOW-WOODY GRASS PEAT <i>Л.А. Azarkina, М.В. Zyкова, М.В. Belousov</i> .....	208
АНАЛИЗ ФУЛЬВОКИСЛОТ ВОДЫ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ <i>Д.С. Волков, И.В. Перминова</i> .....	210

ISOLATION OF FULVIC ACID FROM OXIDIZED BROWN COAL OF KAZAKHSTAN <i>B.T. Yermagambet, M.K. Kazankarova, Zh.M. Kassenova, A.B. Malgazhdarova</i> .....	212
OBTAINING A POROUS CARBON MATERIAL BASED ON POTASSIUM HUMATE <i>M.K. Kazankarova, B.T. Yermagambet, A.M. Kalenova, A.B. Malgazhdarova, U.M. Kozhamuratova</i> .....	215
ПОЛИДИСПЕРСНОСТЬ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ ТУНДРОВЫХ ПОЧВ <i>Е.Д. Лодыгин, Р.С. Василевич</i> .....	217
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАДИСПЕРСНОЙ ГУМАТО-САПРОПЕЛЕВОЙ СУСПЕНЗИИ В КАЧЕСТВЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ <i>А.С. Митюков, Т.Б. Лашкова, Г.В. Петрова, М.Ю. Жукова</i> .....	220
БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧВ <i>А.И. Попов, К.И. Цивка, Г.Д. Холостов, Е.В. Сазанова, А.А. Леонтьев, В.П. Борисова, Ю.В. Симонова, Е.П. Шалунова, А.К. Ошмарина</i> .....	222
УДАЛЕНИЕ ШУМА ИЗ МАСС-СПЕКТРОВ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МОДЕЛЕЙ ГАУССОВЫХ СМЕСЕЙ <i>А.А. Потемкин, Д.С. Волков</i> .....	225
ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОЛИЗАТА ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПЕЛОИДОВ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ <i>А.В. Севастьянова, А.В. Жданова</i> .....	227
ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ВЕРХОВОГО ТОРФА В ПРОЦЕССЕ ДЕГИДРАТАЦИИ <i>С.Б. Селянина, И.В. Соколова, И.Н. Зубов, А.С. Орлов, А. А. Солоха, А.А. Федорова, О.Н. Чайковская, Т.И. Пономарева, О.Н. Ярыгина</i> .....	230
<b>Гуминовые вещества в биомедицинских технологиях</b> .....	232
PREDICTIVE MODEL FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY SCREENING OF HUMIC ACIDS <i>К.А. Bratishko, Е.Е. Buyko, V.V. Ivanov, K.S. Brazovsky, S.V. Romanenko, M.V. Belousov, M.V. Zyкова</i> .....	232
БИОДОСТУПНОСТЬ ЖЕЛЕЗА НОВЫХ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ <i>IN VITRO</i> <i>Е.Е. Буйко, А.М. Жиркова, В.В. Иванов, А.А. Уфандеев, Е.А. Перина, К.А. Братишко, М.В. Зыкова, М.В. Белоусов, И.В. Перминова</i> .....	233
СИНТЕЗ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА (III) С ГУМИНОВЫМИ И ПОЛИСАХАРИДНЫМИ МАКРОЛИГАНДАМИ ДЛЯ БОРЬБЫ С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ. ОЦЕНКА ИХ БИОДОСТУПНОСТИ И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ <i>А.М. Жиркова, Юй Джан, В.Ю. Тюрин, И.В. Перминова</i> .....	235
НАПРАВЛЕННЫЙ ПОИСК НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ БЕТА-ЛАКТАМАЗ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРИРОДНЫХ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ <i>Сунь Имин, С.А. Владимиров, Т.А. Михневич, Г.Д. Рухович, В.Р. Закиров, А.Б. Воликов, В.Г. Григоренко, М.Ю. Рубцова, И.В. Перминова</i> .....	237
THE DISTRIBUTION STUDY OF IRON-CONTAINING ACTIVE PHARMACEUTICAL SUBSTANCE BASED ON HUMIC LIGANDS <sup>57</sup> FE-LABELED IN THE RATS BODY ON THE ACUTE POSTHEMORRHAGIC ANEMIA MODEL <i>I.S. Kopylov, A.M. Zhirkova, M.V. Kuznetsova, E.S. Rabtsevich, K.A. Bratishko, V.V. Ivanov, E.E. Buyko, A.A. Ufandeev, L.A. Azarkina, D.A. Mikhalyov, V.N. Mitsukova, I.V. Perminova, M.V. Zyкова</i> .....	239

АНАЛИЗ ТОРФА, КАК СЫРЬЯ ДЛЯ КОММЕРЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА <i>К.А. Кретилин, Д.А. Михалёв, А.А. Митина, А.В. Першина, М.В. Зыкова</i> .....	240
THE ACUTE POSTHEMORRHAGIC ANEMIA MODELING IN RATS FOR THE STUDY OF THE DISTRIBUTION OF IRON-CONTAINING ACTIVE PHARMACEUTICAL SUBSTANCE BASED ON THE <sup>57</sup> FE-LABELED HUMIC LIGANDS <i>M.V. Kuznetsova, A.M. Zhirkova, K.A. Bratishko, V.V. Ivanov, E.E. Buyko, A.A. Ufandeev, L.A. Azarkina, D.A. Mikhalyov, I.S. Kopnov, V.N. Mitsukova, I.V. Perminova, M.V. Zyкова</i> .....	241
СОЗДАНИЕ УСТОЙЧИВЫХ ГЕЛЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОН-НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОСПИННИНГА ДЛЯ БОРЬБЫ С РАНЕВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ <i>К.С. Ларионов, Н.А. Соболев, В.Б. Платонов, Р. Абдулаев, И.В. Перминова</i> .....	242
CREATION OF AN INNOVATIVE DETOX PRODUCT BASED ON PLANT EXTRACTS AND HUMIC SUBSTANCES <i>A.M. Minko, A.A. Mitina</i> .....	244
STUDY OF RELEASE OF ANTIBACTERIAL COMPONENT FROM OINTMENT WITH SILVER NANOPARTICLES DISPERSED IN HUMIC SUBSTANCES MATRIX <i>A.A. Mitina D.A. Mikhalyov</i> .....	245
THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY INVESTIGATION OF HUMIC SUBSTANCES AND THEIR SILVER-CONTAINING BIONANO-DERIVATIVES <i>D.A. Mikhalyov, I.V. Lysenko, A.B. Volikov, M.V. Zyкова, K.A. Bratishko, L.A. Azarkina, I.S. Kopnov, I.V. Perminova, M.V. Belousov</i> .....	246
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОДНЫХ КОЛЛОИДНЫХ НАСТОЕВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ГУМИНОВЫЕ КИСЛОТЫ <i>Г.В. Петров, И.А. Гайдашев, А.В. Сыроешкин</i> .....	247
РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ: РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ <i>А.И. Полосков, Д.В. Товпеко, Н.А. Соболев, А.С. Бунтовская, К.С. Ларионов, Ч. Юи, И.В. Перминова, Р.И. Глушаков</i> .....	250
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩЕГО ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ <i>IN VIVO</i> НА МОДЕЛИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ У КРЫС <i>А.А. Уфандеев, В.В. Иванов, Е.Е. Буйко, Е.А. Перина, Е.В. Удут, К.А. Братишко, М.В. Зыкова, М.В. Белоусов, А.М. Жиркова, И.В. Перминова</i> .....	252
СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ПОМОЩЬЮ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ <i>Юй Чжан, Сымэн Чжан, Н.А. Соболев, И.В. Перминова</i> .....	255
<b>Гуминовые вещества и экологическая безопасность</b> .....	257
ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НА ТОКСИЧНОСТЬ ПОЛЛЮТАНТОВ ДЛЯ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ <i>Л.Г. Бондарева</i> .....	257

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ СВОЙСТВ ОРГАНИЧЕСКИХ ПРИМЕСЕЙ ПИТЬЕВЫХ ВОД ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА <i>Н.А. Белоконова, Н.А. Наронова, К.О. Голицына</i> .....	258
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НИЗИННЫХ ТОРФОВ <i>О.А. Голубина, К.А. Братишко</i> .....	261
СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В ЭКСПРЕСС ИДЕНТИФИКАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ВОД <i>М.И. Дину</i> .....	263
PURIFICATION OF OIL-CONTAMINATED SOIL WITH HUMIC SUBSTANCES <i>V.T. Yermagambet, Zh.M. Kassenova, M.K. Kazankapova, P.G.Kenzhekara</i> .....	264
STUDY OF THE ABSORPTION OF CARBON DIOXIDE BY NATURAL HUMIC SUBSTANCES <i>V.T. Yermagambet, M.K. Kazankapova, Zh.M. Kassenova, U.M. Kozhamuratova</i> .....	266
РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ В ФОРМИРОВАНИИ ГУМИНОВОГО КОМПЛЕКСНОГО СОРБЕНТА С Fe(III) <i>Е.В. Линкевич, Е.Н. Гуляева</i> .....	269
ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ СВОЙСТВА ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ <i>Н.А. Степанов, О.В. Сенько, О.В. Маслова, А.Г. Асланлы, С.Н. Гайдамака, М.У. Агаева, А.О. Гайдамака, И.В. Лягин, Е.Н. Ефременко</i> .....	271
<b>Гуминовые вещества и агротехнология</b> .....	274
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ КОМПАНИИ ООО «ТОРФОПРОДУКТ» В РАЗЛИЧНЫХ ОБЛАСТЯХ ПРОМЫШЛЕННОСТИ <i>В.В. Жаркова, А.С. Бричков, В.Д. Свинцов</i> .....	274
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФУЛЬВОКИСЛОТ И ЭКСТРАКЦИОННЫХ СМОЛ БУРЫХ УГЛЕЙ <i>С.И. Жеребцов, К.М. Шпакодраев, К.С. Вотолин, Н.В. Малышенко</i> .....	276
ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В ОКСИЛЕННЫХ ФРАКЦИЯХ ТОРФА <i>Н.А. Жмакова, Н.Л. Макарова</i> .....	277
ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ТОРФА В ПОЧВЕННО- КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ <i>А.В. Кравец</i> .....	280
ОЦЕНКА МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ГРЕЧНЕВОЙ КРУПЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕГИОНА ПРОИЗРАСТАНИЯ <i>Н.А. Белоконова, Н.А. Наронова, И.Г. Касаткина</i> .....	283
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГУМАТО-МИКРОБНЫХ БИОКОМПОЗИЦИЙ С ДОБАВЛЕНИЕМ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ ВЕРТИКАЛЬНОГО ВЫРАЩИВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И ЭФИРОМАСЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ГИДРОСВЕТОКУЛЬТУРЫ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА <i>Я.В. Пухальский, С.И. Лоскутов, А.С. Митюков, Г.В. Никитичева, Н.И. Воробьев, Ю.В. Косульников, А.И. Якубовская, И.А. Каменева, А.П. Кожмяков, Ю.В. Лактионов</i> .....	285

# СИМПОЗИУМ 1. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА

## Химическая и фармацевтическая технология

### ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЕЙШЕГО ПОЛИМЕРА В КАЧЕСТВЕ ЗАМЕНЫ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНОВ

А.А. Аллянова<sup>1\*</sup>, И.А. Сорокин<sup>1</sup>, В.С. Чучалин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>АО «Органика», г. Новокузнецк, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, г. Томск, Россия

e-mail: alina-allyanova@mail.ru

**Ключевые слова:** разработка твердых лекарственных средств, вспомогательные вещества, связующее вещество, поливинилпирролидон (Повидон, ПВП).

**Введение.** Вспомогательными веществами в технологии изготовления лекарственных препаратов называют фармакологически индифферентные компоненты в составе лекарственных препаратов. Такие соединения могут быть природного, полусинтетического или синтетического происхождения. По функциональному признаку вспомогательные вещества классифицируются на наполнители, связующие, дезинтегранты, скользящие, консерванты, корригенты и др. Без использования вспомогательных веществ невозможно представить создание твердых лекарственных форм.

Одним из основных этапов разработки технологии получения твердых лекарственных форм является стадия получения массы для таблетирования. Для получения гранулята обычно к порошкам действующего и вспомогательных веществ добавляют растворы увлажнителей (связующих веществ). От связующих веществ зависит качество получаемого гранулята на этапе приготовления массы для таблетирования, а в дальнейшем и качество готовой лекарственной формы.

На сегодняшний день существует внушительная номенклатура связующих веществ для производства готовых лекарственных форм. Наиболее часто используемыми связующими полимерами в производстве лекарственных средств являются поливинилпирролидоны (повидон, ПВП), которые имеют синтетическое происхождение. Наиболее распространенными к применению в фармацевтической практике являются низкомолекулярные повидоны (К-15, К-17), среднемолекулярный повидон (К-25) и высокомолекулярный повидон (К-90).

Производство ПВП на территории Российской Федерации отсутствует, а отечественные производители лекарственных средств используют импортный ПВП. Коллективом учёных Национального исследовательского Томского государственного университета (НИ ТГУ) в лаборатории органического синтеза в течение нескольких лет ведутся исследования в области получения водорастворимых полимеров, способных к дезинтеграции, подобно ПВП. Такой полимер, полученный в процессе разработки, получил наименование АЛМА.

**Цель.** Определить возможность использования новейшего полимера в качестве связующего вещества для получения некоторых лекарственных препаратов надлежащего качества.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являются образцы готовых лекарственных форм, изготовленных с использованием промышленных образцов низкомолекулярных повидона К-15 (Дротаверин таблетки 40 мг), повидона К-17 (Пентоксифиллин таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг) и образцы готовых

лекарственных форм, изготовленных с заменой ПВП на полимер АЛМА.

Масса для таблетирования была изготовлена с применением установки псевдоожиженного слоя. Таблетирование проводилось на РТМ-24.

**Результаты. Опыт № 1.** Замена повидона К-15 в составе лекарственного препарата Дротаверин таблетки 40 мг на АЛМА (Таблица №1).

Образец №1 - Дротаверин таблетки 40 мг, изготовленные с использованием в качестве увлажнителя водного раствора повидона низкомолекулярного (н/м) К-15.

Образец №2 – Дротаверин таблетки 40 мг, изготовленные с использованием в качестве увлажнителя АЛМА.

Таблица 1. Физико-технологические свойства гранулятов и показатели качества

№ образца	Физико-технологические свойства гранулята			Показатели качества готового продукта			
	Объемная плотность до/после утряски, г/см <sup>3</sup>	Фракционный состав: частиц 200 мкм и более /менее 200 мкм, %	Сыпучесть, г/сек.	Прочность на истирание, %	Прочность на излом, Н (среднее значение)	Родственные примеси, % (ед. примесь — не более 1,5%/ сумма примесей — не более 2,0%)	Количественное определение, мг (от 37,0 до 43,0) мг
Дротаверин таблетки 40 мг							
№1	0,500/0,588	36,1/63,9	6	99,66	92	0,55/0,97	41,3
№2	0,526/0,625	22,6/77,4	5	99,61	90	0,74/1,05	40,8
Пентоксифиллин таблетки-ядра 100 мг							
№3	0,416/0,500	26,2/73,8	5	99,66	99	менее 0,15/ менее 0,5	100,4
№4	0,439/0,518	22,6/77,4	5	99,61	101	менее 0,15/ менее 0,5	103,9

На момент получения образцов №1 и №2 гранулята Дротаверина 40 мг по физико-технологическим свойствам оба образца обладают хорошей способностью к прессованию (объемная плотность и сыпучесть), преобладающее количество фракции менее 200 мкм оказывает положительное влияние на точность дозирования лекарственного вещества и на внешний вид готовой лекарственной формы (отсутствие вкраплений на поверхности таблеток).

Оба образца готового продукта Дротаверин таблетки 40 мг обладают высокой стойкостью к раздавливанию и прочностью на истирание, что указывает на доброкачественность готовой лекарственной формы.

Аналитические показатели соответствуют требованиям ГФ РФ.

**Опыт № 2.** Замена повидона К-17 в составе лекарственного препарата Пентоксифиллин таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг на АЛМА (Таблица №1).

Образец №3 — Пентоксифиллин таблетки-ядра 100 мг, изготовленные с использованием в качестве увлажнителя водного раствора повидона низкомолекулярного (н/м) К-17.

Образец №4 — Пентоксифиллин таблетки-ядра 100 мг, изготовленные с использованием в качестве увлажнителя АЛМА.

На момент получения образцов №3 и №4 гранулята Пентоксифиллина 100 мг по физико-технологическим свойствам оба образца обладают хорошей способностью к прессованию (объемная плотность и сыпучесть), преобладающее количество фракции менее 200 мкм оказывает положительное влияние на точность дозирования лекарственного

вещества и на внешний вид готовой лекарственной формы (отсутствие вкраплений на поверхности таблеток).

Оба образца готового продукта Пентоксифиллин таблетки-ядра 100 мг обладают достаточной стойкостью к раздавливанию и прочностью на истирание для нанесения пленочного покрытия.

Аналитические показатели соответствуют требованиям ГФ РФ.

**Заключение.** Образцы готовых продуктов Дротаверин таблетки 40 мг и Пентоксифиллин таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг, полученных с использованием повидона АЛМА, по физико-технологическим свойствам и по показателям качества практически идентичны лекарственным формам, изготовленных с использованием промышленных образцов низкомолекулярных повидонов К-15 и К-17. Качество готовых лекарственных форм с использованием повидона АЛМА в качестве связующего вещества удовлетворительно, соответствует требованиям ГФ РФ.

#### **Литература.**

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издание. М.: 2023.
2. Алеева Г.Н., Журавлева М.В., Хафизьянова Р.Х. Роль вспомогательных веществ в обеспечении фармацевтических свойств лекарственных препаратов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2009, 4:51-56.
3. Чуешов В.И, Гладух Е.В., Сайко И.В., Ляпунова О.А., и др. Технология лекарств промышленного производства. Винница: Нова Книга, 2014. 696 с.
4. Ищенко В.И. Промышленная технология лекарственных средств. Витебск: УО «Витебский государственный медицинский университет, 2012. 568 с.
5. Березина Г.Р. Вспомогательные вещества в технологии готовых лекарственных форм. Иваново: ФГБОУ ВО «Ивановский государственный университет», 2016. 81 с.
6. Жилиякова Е.Т., Агарина А.В., Новикова М.Ю., Новикова Л.Л. Применение различных загустителей-пролонгаторов марок коллидона в фармацевтической технологии. *Научный результат. Медицина и фармация*. 2016; 4(2): 95-100.

## ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО СЕРВИСА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ИЗОФОРМЫ УРОКИНАЗЫ

Д.С. Байроченко \*, О.Н. Ринейская

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
e-mail: bairon0404@gmail.com

**Ключевые слова:** урокиназа, SWISS-MODEL, Robetta, Phyre2, MODELLER

**Введение.** Урокиназный активатор плазминогена (урокиназа) – это внеклеточная сериновая протеаза, кодируемая геном PLAU (длинное плечо 10 хромосомы человека). В опухолевых клетках экспрессия данного гена усиливается в несколько раз, что ведет к повышению активности урокиназы. Последнее вызывает усиление процессов разрушения внеклеточного матрикса и нарушение межклеточных адгезионных контактов, что, в свою очередь, может способствовать прогрессированию опухолей и метастазированию. В ряде исследований было показано, что высокий уровень урокиназы у пациентов может коррелировать с неблагоприятным прогнозом течения заболевания и связан с высокой частотой рецидивов.

Урокиназа является потенциальной мишенью для противоопухолевой терапии. В настоящее время предложено несколько лекарственных препаратов, которые находятся на разных этапах клинических испытаний, способных инактивировать урокиназу, таким образом значительно сдерживая метастазирование и дальнейшее прогрессирование опухолей.

При разработке ингибиторов урокиназы *in silico* необходимо проводить анализ эффективности действия лигандов в отношении различных изоформ фермента, так как это даст более полную картину эффективности действия потенциальных лекарственных



средств. Решению подобной задачи служит предсказание пространственной структуры изоформ урокиназы, необходимой для последующего анализа эффективности связывания ингибиторов в области активного центра, таких как Нафамостат и ряд его производных.

**Цель.** Сравнение качества третичных структур изоформы урокиназы P00749-2, полученных путем моделирования *in silico* с использованием ряда онлайн-сервисов и программ: SWISS-MODEL, Robetta, Phyre2, MODELLER.

**Материалы и методы.** Поиск аминокислотных последовательностей изоформ урокиназы осуществлялся в базе UniProt. Были найдены два основных варианта фермента: P00749-1 и P00749-2. Вариант P00749-1 имеет длину 431 аминокислотных остатка, является каноничным, в базе данных AlphaFold можно найти его трехмерную структуру. Вариант P00749-2 (изоформа 2) образуется в результате альтернативного сплайсинга, имеет длину 414 аминокислотных остатка. Именно для изоформы 2 проводилось предсказание третичной структуры.

В дальнейшем было произведено построение моделей в следующих высокоспециализированных программах: SWISS-MODEL, Phyre2, MODELLER, Robetta. При этом первые три программы генерируют несколько вариантов моделей, программа Robetta предлагает только один вариант модели.

С целью выявления наиболее подходящего сервиса для трехмерного моделирования изоформы урокиназы было отобрано по одной модели, полученной при помощи каждой из программ. Для последующего сравнительного анализа качества данных 3D-структур использовались сервисы: SAVES v6.0 (алгоритмы ERRAT, VERIFY3D, PROCHECK) и инструмент Structure Assessment (SWISS-MODEL). Данные сервисы позволяют оценить стереохимическое качество вторичных структур и белковой молекулы в целом, построить карту Рамачандрана, позволяющую судить о нативности третичной структуры белка.

**Результаты.** Для сравнительного анализа был использован инструмент Structure Assessment (онлайн-сервис SWISS-MODEL). При построении карты Рамачандрана лучшие результаты (наибольшее количество остатков в разрешенных регионах и наименьшее в запрещенных) соответствовали модели, сконструированной с помощью SWISS-MODEL. Подробные количественные характеристики моделей, полученных каждым сервисом, представлены в таблице.

Таблица. Количественные характеристики лучших моделей, инструмент Structure Assessment

Показатели	SWISS-MODEL	Robetta	Phyre2	MODELLER
Рамачандран основной регион, %	95,85	92,96	89,32	87,38
Рамачандран запрещенный регион, %	0,49	1,46	4,13	5,10
Рамачандран другие регионы, %	3,66	5,58	6,55	7,52
QMEANDisCo	0,77	0,70	0,64	0,48
QMEAN	-0,02	-0,49	-4,94	-7,00
C $\beta$	0,69	-0,38	-2,94	-5,68
All Atom	-1,87	-2,73	-5,72	-6,89
Solvation	-1,31	-0,99	-3,83	-7,96
Torsion	0,33	-0,04	-3,37	-3,77

Так, на основании показателей Structure Assessment наиболее предпочтительной можно считать модель, полученную с помощью SWISS-MODEL.

С целью получения данных по другим показателям и уточнения значений в картах Рамачандрана для каждой из четырех моделей был использован сервис SAVES v6.0. При этом лучшим значением по показателю ERRAT обладает модель Robetta (90,5); по значению VERIFY3D – образец Phyre2 (76,09). В то же время по вышеперечисленным

показателям модель из SWISS-MODEL занимает только второе и третье места соответственно. Однако по всем параметрам карты Рамачандрана образец из SWISS-MODEL обладает лучшими показателями (основной регион – 89,3%; разрешенный – 10,5%; в целом разрешенный – 0,3%; запрещенный – 0), отсутствие у данной модели остатков в запрещенном регионе карты говорит в пользу высокого качества структуры.

**Заключение.** Таким образом был построен ряд трехмерных моделей с использованием четырех сервисов. Из результатов, предоставленных каждой программой, было отобрано по одной лучшей модели для сравнительного анализа. На основании 15-ти проанализированных показателей, полученных с использованием Structure Assessment и SAVES v6.0, наилучшими результатами обладает модель SWISS-MODEL.

Таким образом, для получения третичной структуры изоформы P00749-2 урокиназы целесообразно использовать сервис SWISS-MODEL.

#### **Литература.**

1. Mahmood N, Mihalcioiu C, Rabbani SA. Multifaceted Role of the Urokinase-Type Plasminogen Activator (uPA) and Its Receptor (uPAR) *Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Applications. Front Oncol.* 2018;8:24. DOI: 10.3389/fonc.2018.00024.

2. Madunić J. The Urokinase Plasminogen Activator System in Human Cancers: An Overview of Its Prognostic and Predictive Role. *Thromb Haemost.* 2018;118(12):2020-2036. DOI: 10.1055/s-0038-1675399.

3. Duffy MJ, McGowan PM, Harbeck N, Thomssen C, Schmitt M. uPA and PAI-1 as biomarkers in breast cancer: validated for clinical use in level-of-evidence-1 studies. *Breast Cancer Res.* 2014;16(4):428. DOI: 10.1186/s13058-014-0428-4.

4. Masucci MT, Minopoli M, Di Carluccio G, Motti ML, Carriero MV. Therapeutic Strategies Targeting Urokinase and Its Receptor in Cancer. *Cancers (Basel).* 2022;14(3):498. DOI: 10.3390/cancers14030498.

5. UniProt Consortium. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(D1):D523-D531. DOI: 10.1093/nar/gkac1052.

6. Jumper J, Evans R, Pritzel A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. // *Nature.* 2021;596(7873):583-589. DOI: 10.1038/s41586-021-03819-2.

7. Baek M, DiMaio F, Anishchenko I, et al. Accurate prediction of protein structures and interactions using a three-track neural network. *Science.* 2021;373(6557):871-876. DOI: 10.1126/science.abj8754.

8. Kelley LA, Mezulis S, Yates CM, Wass MN, Sternberg MJ. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nat Protoc.* 2015;10(6):845-858. DOI: 10.1038/nprot.2015.053.

9. Webb B, Sali A. Protein Structure Modeling with MODELLER. *Methods Mol Biol.* 2021;2199:239-255. DOI: 10.1007/978-1-0716-0892-0\_14.

10. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic. Acids Res.* 2018;46(W1):W296-W303. DOI: 10.1093/nar/gky427.

## СИНТЕЗ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО СЕРОСОДЕРЖАЩЕГО ПРОИЗВОДНОГО УРАЦИЛА

Ю.И. Виноградова\*, С.А. Мещерякова, Ф.Х. Кильдияров, А.В. Самородов, Д.Р. Хузин,  
А.В. Шумадалова

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, г. Уфа, Россия  
e-mail: juglans8@yandex.ru

**Ключевые слова:** тиетан, урацил, регенерирующая активность, мазь.

**Введение.** Одной из проблем современной фармацевтики является создание инновационных лекарственных препаратов отечественного производства. Известно, что

метилурациловая мазь ускоряет процессы клеточной регенерации в ранах, ускоряет рост и грануляционное созревание ткани и эпителизации, обладает анаболической активностью, противовоспалительным действием [1]. С целью поиска новых ранозаживляющих производных на основе метилурацила нами синтезирован 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацил, изучена его регенерирующая активность и разработана технология приготовления мази.

**Цель:** изучение регенерирующей активности нового тиетанпроизводного урацила, разработка технологии мягкой лекарственной формы

**Материалы и методы.** Исходный 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацил получен тиетанилированием 6-метилурацила 2-хлорметилтиираном. Индивидуальность синтезированного соединения подтверждена методом тонкослойной хроматографии и температурой плавления, а строение доказано методами ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ , 2D и ИК спектроскопии.

Регенерирующая активность определена в условиях модели линейных ран на лабораторных мышах [2], и на основе 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацила разработана глазная мазь [3].

Результаты исследования биологической активности обработаны с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США).

**Результаты.** Взаимодействием 6-метилурацила с 1,1-кратным избытком 2-хлорметилтиирана при температуре 40-60°C в щелочной среде в течение 2 ч был получен 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацил (рис. 1). Исследовано соотношение реагентов, влияние продолжительности синтеза и температуры на выход продукта. Увеличение продолжительности синтеза до 3 ч не приводит к увеличению выхода реакции. Повышение температуры до 70-80°C приводит к снижению выхода целевого продукта, а проведение реакции при комнатной температуре увеличивает время синтеза до 24 ч, при этом выход продукта не увеличивается.

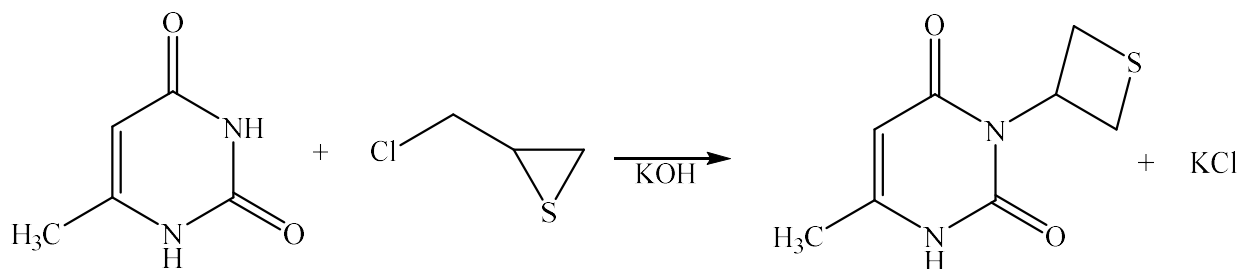


Рисунок 1. Схема синтеза тиетанилметилурацила

При исследовании биологической активности синтезированного тиетанилурацила была проведена морфологическая оценка полноценности регенерации кожи, которая показала, что заживление лоскутной раны происходит более активно по сравнению с контролем. В результате чего к 11-м суткам наблюдается эпидермизация по поверхности дефекта с регенерацией придатков кожи в краях дефекта, восстановлением морфофункциональных свойств органа.

По результатам исследований разработана мазь: соотношение биологически активного вещества и мазевой основы 10:90. В качестве мазевой основы – вазелин и ланолин, взятые в соотношении 9:1.

Разработанная мазь апробирована в эксперименте на 6 кроликах породы шиншилла. Установлено, что применение глазной мази с 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацилом приводит более быстрому заживлению поражений роговицы, уменьшению отека роговицы и купированию воспаления [4].

**Заключение.** На основе проведенных исследований разработана глазная мазь, обладающая регенерирующим действием.

#### **Литература.**

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2021; с. 1216.

2. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств // Под общ. ред. д. м. н. А. Н. Миронова. — М., 2012. — с. 939.

3. Глазная мазь на основе 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацила с ранозаживляющим эффектом: патент 2705392 Российская Федерация: МПК А61К 9/06, А61К 31/505, А61К 47/06, А61К 2121/00, А61Р 17/02, А61Р 27/02 / Габдрахманова А. Ф., Мещерякова С. А., Кильдияров Ф. Х., Курбанов С.А., Хужамбердиев А.Х.; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.: № 2019123359; заявл. 19.07.2019; опубл. 07.11.2019. Бюл. 31.

4. Новые лекарственные препараты для офтальмологии на основе 6-метил-3-(тиетан-3-ил)урацила/ А.Ф. Габдрахманова, С.А. Мещерякова, Ф.Х. Кильдияров, С.А. Курбанов *Офтальмология*. –2021. – Т. 18, № 2. – С. 355-360.

## СИНТЕЗ И ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ АЛКИЛЗАМЕЩЕННЫХ ТИЕТАНИЛТИОУРАЦИЛА

Ю.И. Виноградова\*, С.А. Мещерякова

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Уфа, Россия  
e-mail: juglans8@yandex.ru

**Ключевые слова:** тиетан, тиоурацил, алкилирование, биологическая активность

**Введение.** Поиск новых высокоэффективных и безопасных биологически активных веществ остается основной проблемой современной фармации. Известно, что производные урацила проявляют иммуномодулирующую и антиоксидантную активность, обладая при этом низкой токсичностью [1], среди производных тиетанилурацилового ряда выявлены соединения с выраженной гипотензивной [2], противомикробной [3] активностью. В продолжение данных исследований, нами была разработана методика синтеза новых алкилзамещенных тиетанилтиоурацила и выполнен прогноз их биологической активности.

**Цель:** синтез новых биологически активных производных тиетанилтиоурацила

**Материалы и методы.** В качестве исходных соединений использовали калиевую соль 6-метил-2-тиоурацила и сложные эфиры галогенкарбоновых кислот. Индивидуальность и структура полученных соединений доказана с помощью ЯМР спектроскопии, ТСХ и определением температуры плавления.

**Результаты.** Алкилирование проводили в этаноле при температуре около 60°C в течение 4-5 часов. К полученным алкилзамещенным добавляли 2-хлорметилтириран в соотношении 1:1,1 в щелочной среде и перемешивали в течение часа при температуре 60°C (Рис 1). Выход целевых продуктов 47-59%.

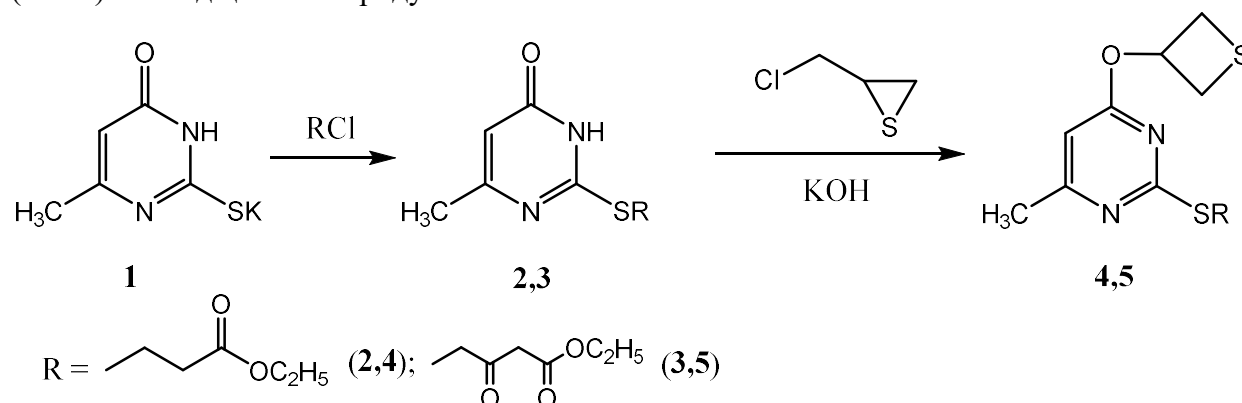


Рисунок 1. Схема синтеза алкилзамещенных производных тиетанилтиоурацила

С помощью программного пакета *PASS online* определен прогноз биологической активности с указанием вероятности наличия активности ( $P_a$ ) и вероятности отсутствия активности ( $P_i$ ) [4] (табл.1).

Таблица 1. Предполагаемые виды биологической активности.

Соединение	Вид биологической активности	$P_a$	$P_i$
4	стимулятор лейкопоза	0,683	0,008
	протектор слизистых оболочек	0,686	0,063
	противоязвенное средство	0,575	0,013
5	ингибитор гастрина	0,529	0,052
	стимулятор лейкопоза	0,607	0,017
	протектор слизистых оболочек	0,561	0,114

**Заключение.** Синтезированы новые алкилзамещенные производные тиетанилтиоурацила и осуществлен прогноз их биологической активности.

**Литература.**

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Новая волна, 2021; с. 1216.
2. Синтез и гипотензивная активность производных пиримидин-2,4(1Н,3Н)-диона, содержащих тиетановый цикл, с различной степенью окисления атома серы / В.А. Катаев, И.Н. Тюренков, С.А. Мещерякова [и др.] // *Химико-фармацевтический журнал*. - 2014. – Т. 48, № 7. – С. 16-20.
3. Синтез и противомикробная активность ацетанилидов и ацетилгидразонов тиетанилпири-мидин-2,4(1Н,3Н)-дионового ряда / С.А. Мещерякова, В.А. Катаев, И.Я. Фаттахова [и др.] // *Химико-фармацевтический журнал*. - 2015. – Т. 49, № 9. – С. 28-31.
4. Predictive services PASS online [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.pharmaexpert.ru/PASSOnline/index.php>, свободный. – (дата обращения: 29.08.2023).

РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНОЙ ПЛАЗМИДЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩЕЙ ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА ЧЕЛОВЕКА В СИСТЕМЕ E. COLI В РАСТВОРИМОЙ ФОРМЕ

Е.А. Волосникова\*, Т.И. Есина, Д.Н. Щербаков, Я.С. Гогина, Т.А. Терещенко, Н.В. Волкова, Е.Д. Даниленко

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»  
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия  
человека, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, 630559, Россия  
e-mail: volosnikova\_ea@vector.nsc.ru

**Ключевые слова:** рекомбинантный интерферон гамма человека, ИФН- $\gamma$ , штамм-продуцент, культивирование.

**Введение.** Интерферон гамма (ИФН- $\gamma$ ) – белок-цитокин, который вырабатывается клетками иммунной системы и обладает иммуномодулирующей активностью [1]. В настоящее время для получения интерферона гамма чаще всего используют рекомбинантные продуценты на основе прокариот, в частности бактерий *Escherichia coli* [4]. Достоинствами прокариотической системы являются короткие производственные циклы и достаточно высокий уровень продуктивности [2, 3].

**Цель данной работы** состояла в разработке плазмидного вектора, обеспечивающего получение рекомбинантного интерферона гамма человека в бактериях *Escherichia coli* в растворимой форме.

### **Материалы и методы.**

**Конструирование экспрессионного вектора.** В работе использовали нуклеотидную последовательность ИФН- $\gamma$  человека (NP\_000610.2). Кодонный состав последовательности гена оптимизировали для экспрессии в системе *Escherichia coli* при помощи сервиса “Codon Optimisation Tool” (“Integrated DNA Technologies”, США). Синтез гена проводился ООО «ДНК-синтез» (г. Москва). Синтезированная нуклеотидная последовательность была встроена в экспрессионный вектор pET21a (“Novagen”, ФРГ) по уникальным сайтам рестрикции BamHI и HindIII, в результате чего был получен плазмидный вектор pET-IFN- $\gamma$ .

**Получение биомассы клеток.** Биомассу клеток получали методом глубинного культивирования штамма в среде LB с ампициллином в концентрации 100 мкг/мл, индукцией синтеза целевого белка 0,1 мМ изопропил-бета-D-тиогалактопиранозидом (ИПТГ).

Для масштабирования процесса использовали полупромышленный ферментер LiFlus SP-100L (Biotron, Ю. Корея) объемом 100 л и реактор РВД 350.423 (ООО “Артлайф”, Россия) вместимостью 350 л.

**Анализ содержания целевого белка.** Содержание целевого рекомбинантного белка в биомассе определяли методом электрофореза в 12%-ном полиакриламидном геле в денатурирующих условиях (ДСН-ПААГ) с окрашиванием Кумасси G-250. Относительное содержание белка определяли с использованием системы визуализации GelDoc Go с программным обеспечением Image Lab (Bio-Rad Laboratories, США).

**Очистка целевого белка.** Биомассу разрушали ультразвуком на Sonicator Q2000 (Qsonica, США). Для грубой очистки полупродукта использовали жидкий сорбент Аммофлок-25 («Физлабприбор», Россия). Очистку целевого белка проводили на хроматографе Akta Pure 150 (Cytiva, Швеция), на колонке с CM-сефарозой и последовательно соединенных колонках с сорбентами Q-сефароза и SP-сефароза.

**Результаты.** Человеческий ИФН- $\gamma$  является примером рекомбинантного белка, легко синтезируемого в клетках *E. coli*, но склонного к агрегации. Использование векторов, обеспечивающих конститутивную экспрессию, обычно позволяет добиться накопления целевого белка до 30% от суммарного белка бактериальных клеток, однако больше двух третей этого белка содержится в тельцах включения, частично или полностью денатурированы и поэтому лишены биологической активности [5]. Поэтому в работе для конструирования штамма *E. coli* BL21/pET-IFN- $\gamma$  был выбран вариант индуцибельной экспрессии. Последовательность целевого гена клонировали в составе вектора pET21, обеспечивающего в сочетании со штаммом *Escherichia coli* BL 21 строгий контроль синтеза РНК. Дерепрессия промотора осуществлялась добавлением в состав питательной среды IPTG.

Для повышения уровня синтеза белка в растворимой форме снижали температуру культивирования после внесения индуктора до 24-25°C. Данный прием был использован в ферментерах разного объема – 1 л, 100 л и 350 л на разных питательных средах LB, ТВ и ГВ7.

Выход биомассы на среде LB составил 4.6–5.0 г из 1 л КЖ, на среде ТВ – 6.2-6.3 г/л, на среде ГВ7 – 7.2-7.9 г/л. Содержание целевого белка на среде LB – 33-37%, на ТВ и ГВ7 – 40-43%. Характеристики биомасс были воспроизведены в условиях масштабирования.

В ходе работ, проведенных ранее [5], нам удалось получить растворимый ИФН- $\gamma$  с выходом белка 5 мг из 1 г влажных клеток при выделении из 10 г влажных клеток штамма-продуцента. Для выделения и очистки белка в данной работе использовали 500 г биомассы, коэффициент масштабирования составил 50.

При масштабировании процесса выделения была введена дополнительная хроматография на CM-сефарозе для более полной экстракции целевого белка из супернатанта разрушенных клеток. В работе были использованы биомассы, выращенные на разных культуральных средах (LB, ТВ, ГВ7).

Показано, что процесс, отработанный для ферментера объемом 15 л, полностью воспроизводится в условиях масштабирования в ферментерах вместимостью 100 и 350 л. Выбранные условия позволяют получать биомассу с содержанием целевого белка от 33 до 43 % от общего клеточного белка и удельным выходом от 4,6 до 7,9 г из 1 л культуральной жидкости. Выход целевого белка при выбранных параметрах составляет 4 мг из 1 г влажных клеток (при выращивании клеток на среде ТВ) и 5 мг – на среде ГВ7.

**Заключение.** Сконструирован рекомбинантный плазмидный вектор рЕТ-IFN- $\gamma$ , обеспечивающий высокий уровень экспрессии целевого белка. Выбраны параметры культивирования в ферментерах разного объема, что способствовало получению целевого белка преимущественно в растворимой форме. Использование для культивирования сред ТВ и ГВ7 позволило увеличить выход биомассы и содержания целевого белка в клетках.

#### **Литература.**

1. Сологуб Т.В., Цветков В.В., Деева Э.Г. Интерферон гамма – цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью. *Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова*, 2014, 22(3): 56–60. doi 10.17816/PAVLOVJ223.

2. Demain A.L., Vaishnav P. Production of recombinant proteins by microbes and higher organisms. *Biotechnol. Adv.* 2009; 27(3): 297-306. doi 10.1016/j.biotechadv.2009.01.008.

3. Patra P., Das M., Kundu P., Ghosh A. Recent advances in systems and synthetic biology approaches for developing novel cell-factories in non-conventional yeasts. *Biotechnol. Adv.* 2021; 47: 107695. doi 10.1016/j.biotechadv.2021.107695.

4. Terpe K. Overview of bacterial expression systems for heterologous protein production: from molecular and biochemical fundamentals to commercial systems. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006; 72(2): 211-222. doi 10.1007/s00253-006-0465-8.

5. Volosnikova E.A., Esina T.I., Shcherbakov D.N., Volkova N.V., Gogina Ya.S., Tereshchenko T.A., Danilenko E.D. The production of soluble human gamma interferon in the *Escherichia coli* expression system with a decrease in cultivation temperature. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2023; 59(2): 132–137. doi 10.1134/S0003683823020138.

6. ОФС.1.7.2.0002.15 Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIV издание, 2018, т. 2, 2740-2749. <https://femb.ru/record/pharmacopea14>; <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v13/vol2/#576>.

## ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ИНТРАНАЗАЛЬНОЙ ФОРМЫ ПРЕПАРАТА ИНТЕРФЕРОНА ГАММА И ДСРНК

С.Г. Гамалей\*, О.С. Иванова, Г.М. Сысоева, Г.М. Левагина, Е.С. Башкина, С.В. Усова, Е.Д. Даниленко

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

e-mail: gamaley\_sg@vector.nsc.ru

**Ключевые слова:** двуспиральные РНК, индуктор интерферона, интерферон гамма, альвеолярные макрофаги, противовирусная активность.

**Введение.** В связи с высокой изменчивостью вируса гриппа, а также быстрым развитием резистентности вирусов к лекарственным средствам специфического действия, разработка новых и усовершенствование существующих противовирусных препаратов является актуальной задачей. Среди ведущих средств неспецифического действия для профилактики и лечения гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) можно выделить интерфероны. Особый интерес в этом классе лекарственных средств вызывает интерферон гамма (ИФН- $\gamma$ ), обладающий широким спектром иммунорегуляторного действия, индуктор и регулятор защитных реакций организма в

отношении вирусов, внутриклеточных бактерий и паразитов [1-3]. Не менее интересным средством лечения инфекционных заболеваний являются индукторы интерферона двуспиральные РНК (дсРНК), которые вызывают усиление синтеза эндогенных интерферонов, необходимых для формирования противовирусной защитной реакции, а также влияют на альтернативные механизмы функционирования системы иммунитета (клеточного и гуморального) [4-7]. Существующие литературные данные о проявлении синергидного эффекта интерферонов и их индукторов в составе одной композиции [8] позволяют рассматривать данный подход как перспективный для получения высокоэффективного лекарственного средства лечения и экстренной профилактики инфекций.

**Цель.** Разработка нового противовирусного препарата для интраназального применения, действующим началом которого являются рекомбинантный интерферон гамма человека и индуктор интерферона дрожжевая двуспиральная РНК, исследование его иммуномодулирующих и противовирусных свойств.

**Материалы и методы.** В работе были использованы следующие материалы: субстанция натриевой соли двуспиральной рибонуклеиновой кислоты (Na-соль дсРНК), содержащая 21,6 % двуспиральной РНК, по показателям качества соответствующая ФСП 42-0769-08 (производства ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора); интерферон гамма, субстанция с активностью  $8,7 \times 10^4$  МЕ/мл (ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»); полиэтиленгликоль 400 («Panreac», Германия); этилендиаминтетрауксусная кислота динатриевая соль («AppliChem», Германия); диметилсульфоксид (ООО «Йодные Технологии и Маркетинг», Россия); этидиум бромид («Sigma», США); натрия хлорид, 0,9 %, ГОСТ 4233-77 (Россия); агароза («Serva», Германия); ДНК-маркеры 1 Кб, (НПО «СибЭнзим», Россия).

Интраназальные формы композиций получали путем смешения субстанции Na-соль дсРНК (50 мкг дсРНК) с ИФН- $\gamma$  (10, 50 или 100 МЕ) и вспомогательными компонентами в ламинарной системе КОЧ «Ламинар «С» с соблюдением правил асептики. Лиофилизацию растворов образцов проводили в камере лиофильной сушки «FreeZone» в автоматическом режиме с опцией пневматической укупорки. Раствор разливали во флаконы по 1 мл, замораживали при температуре минус 72 °С и высушивали в течение 16 часов при температуре  $22 \pm 2$  °С.

Оценку сохранности структуры дсРНК в интраназальных формах проводили методом электрофореза в 1% геле агарозы с окрашиванием этидиум бромидом в сравнении с исходным препаратом дсРНК.

Противовирусную активность композиций определяли микрометодом в 96-луночных планшетах по подавлению цитопатического действия тест-вируса в культуре клеток в соответствии с [9]. Определение противовирусной активности препаратов, содержащих дсРНК, проводили в культуре мышинных фибробластов L-929; интерферонов – на линии диплоидных клеток человека L-68, полученных из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. В качестве тест-вируса использовали вирус энцефаломиокардита мышей штамм «Колумбия» (вирус EMC) в дозе 100 ЦПД<sub>50</sub>. Препаратами сравнения являлись препараты субстанции дсРНК и интерферона гамма.

Исследование иммуномодулирующей активности препаратов проведено на самцах белых аутбредных мышей ICR (питомник ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово). Мышам опытных групп однократно интраназально вводили растворы препаратов в объеме 25 мкл: субстанция дсРНК в дозе 2,5 мг/кг; или ИФН- $\gamma$  в дозе 5000 МЕ/кг; или композиционный препарат дсРНК- ИФН- $\gamma$  в дозе 2,5 мкг (по дсРНК)/5000 МЕ/кг (по ИФН- $\gamma$ ). Контрольные животные получали физиологический раствор в том же объеме. Через 3 и 24 часа после введения препаратов мышей подвергали эвтаназии, забирали бронхоальвеолярную лаважную жидкость и получали альвеолярные макрофаги (АМ), как описано в [10]. Иммуномодулирующие свойства препаратов оценивали по уровню фагоцитарной активности АМ, опосредованной опсонизированными эритроцитами барана, с помощью морфологического метода.



**Результаты.** В результате анализа стабильности и биологической активности полученных композиционных препаратов был выбран оптимальный состав интраназальной формы: субстанция натриевой соли дсРНК (50 мкг), интерферон гамма рекомбинантный человеческий (100 МЕ), ЭДТА, диметилсульфоксид, ПЭГ 400, натрия хлорид.

Исследование противовирусной активности композиционного препарата в культуре клеток показало, что титр ИФН в культуре клеток L929 после внесения композиции составил 1:2760, противовирусная активность на клетках L68 - 1:512. Как в том, так и другом случае эти показатели превышали показатели, зарегистрированные в ответ на препараты сравнения (1:1860 для субстанции дсРНК, 1:112 для ИФН- $\gamma$ ).

Результаты оценки функциональной активности альвеолярных макрофагов мышей, которым вводили композиционный препарат, в сравнении с активными компонентами, входящими в его состав, представлены в таблице.

Таблица. Показатели функциональной активности альвеолярных макрофагов мышей ICR после однократного интраназального введения препаратов дсРНК и ИФН- $\gamma$

Препарат, доза	Время после введения, ч	Фагоцитарная активность	Фагоцитарный индекс
Контроль	-	36,7 $\pm$ 2,42	2,03 $\pm$ 0,24
Субстанция дсРНК, 2,5 мг/кг	3	37,5 $\pm$ 3,0	3,01 $\pm$ 0,52 *
ИФН- $\gamma$ , 5000 МЕ/кг	3	59,6 $\pm$ 0,2 * **	2,00 $\pm$ 0,34
Композиция дсРНК- ИФН- $\gamma$ , 2,5 мг/кг (по дсРНК), 5000 МЕ/кг (по ИФН- $\gamma$ )	3	50,8 $\pm$ 6,5 * **	2,13 $\pm$ 0,17
Субстанция дсРНК, 2,5 мг/кг	24	47,2 $\pm$ 3,09 *	2,31 $\pm$ 0,11
ИФН- $\gamma$ , 5000 МЕ/кг	24	43,1 $\pm$ 6,88	2,11 $\pm$ 0,16
Композиция дсРНК- ИФН- $\gamma$ , 2,5 мг/кг (по дсРНК), 5000 МЕ/кг (по ИФН- $\gamma$ )	24	48,0 $\pm$ 2,31 *	2,22 $\pm$ 0,17

Примечание. Данные представлены как среднее значение и стандартная ошибка средней ( $M \pm m$ ); количество животных в группе – 10. Различия статистически значимы: \* - с контролем,  $p \leq 0,05$ ; \*\* - с группой, которой вводили субстанцию дсРНК,  $p \leq 0,05$ .

Видно, что интраназальное введение композиции дсРНК и ИФН- $\gamma$ , как и индивидуальное введение дсРНК и рекомбинантного ИФН- $\gamma$ , вызывало повышение активности фагоцитов. При этом эффект композиционного препарата сохранялся в течение более длительного времени по сравнению с его компонентами.

**Заключение.** Проведенные исследования позволили разработать рецептуру и получить новую лекарственную форму композиционного препарата, содержащего дсРНК и рекомбинантный интерферон гамма человека для интраназального применения. В культурах клеток установлено, что композиционный препарат обладает противовирусной активностью, более выраженной по сравнению с его компонентами. Композиция дсРНК и ИФН- $\gamma$  вызывала повышение функциональной активности альвеолярных макрофагов мышей, которое сохранялось в течение более длительного времени по сравнению с эффектом индивидуальных препаратов дсРНК и ИФН- $\gamma$ . Полученные данные подтверждают перспективность дальнейшей разработки новой лекарственной формы дсРНК и интерферона для интраназального применения в качестве средств профилактики и лечения гриппа и ОРВИ.

#### **Литература.**

1. Сологуб Т.В., Цветков В.В., Деева Э.Г. Интерферон гамма - цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова.* 2014;3:56-60.

2. Киселев О.И., Ершов Ф.И., Деева Э.Г. Интерферон-гамма: новый цитокин в клинической практике. ИНГАРОН. М.: Димитрейд График Групп; 2007. 348 с.
3. Wall L, Burke F, Barton C, Smyth J, Balkwill F. IFN-gamma induces apoptosis in ovarian cancer cells in vivo and in vitro. *Clin Cancer Res.* 2003;9(7):2487-2496.
4. Иммуноterapia: руководство для врачей. Под ред. Р.М. Хаитова, Р.И. Атауллаханова, А.Е. Шульженко. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020. 768 с.
5. Полосков В.В., Ершов Ф.И. Активаторы синтеза эндогенных интерферонов. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2017;1(18):188–192.
6. Сборник материалов «Круглого стола» научной конференции «Применение ридостина для лечения вирусных и бактериальных инфекций и перспективы использования при заболеваниях неинфекционной природы». Бердск; 1998.
7. Ершов Ф.И. Антивирусные препараты: справочник. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2006. 312 с.
8. Saravolac E.G., Sabuda D., Crist C., Blasetti K., Schnell G., Yang H., Kende M., Levy H.B., Wong J.P. Immunoprophylactic strategies against respiratory influenza virus infection. *Vaccine.* 2001;19:2227-2232. DOI: 10.1016/s0264-410x(00)00450-3.
9. Государственная фармакопея РФ XIV изд. ОФС.1.7.2.0002.15 Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток; 2018. Т. 2. С. 2740-2749. [Электронный ресурс]. – URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения 15.06.2022).
10. Матичин А.А., Кательникова А.Е., Крышень К.Л. Особенности отбора бронхоальвеолярного лаважа у лабораторных животных. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2019;4:37-43. DOI: 10.29296/2618723X-2019-04-06.

## ПРИРОДНЫЕ ХЛОРИНЫ КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТЕРАНОСТИКОВ В ОНКОЛОГИИ

М.А. Грин

Институт тонких химических технологий, ФГБОУ ВО «МИРЭА - Российский технологический университет», г. Москва, Россия  
e-mail: michael\_grin@mail.ru

**Ключевые слова:** фотосенсибилизатор, фотодинамическая терапия, азобензолы, фотофармакология

Природные хлорины, являясь гидрированными производными порфиринов, обладают, с одной стороны, фотодинамической активностью за счет способности генерировать активные формы кислорода, с другой стороны, являются флуорофорами, реализующими флуоресцентную диагностику в онкологии. При этом учитывая туморотропность данного класса соединений, последние можно рассматривать как перспективные лидерные соединения, химическая модификация которых позволит получить инновационные препараты как в онкологии, так и в других областях медицины.

В Российском технологическом университете разработки ведутся по следующим направлениям:

- создание высокоэффективных фотосенсибилизаторов, поглощающих свет в дальней красной и инфракрасной области спектра, для лечения глубокозалегающих и пигментированных опухолей;
- разработка таргетных препаратов для лечения опухолей определенных нозологий, локализаций, гистогенеза (РПЖ, меланома и др.);
- получение препаратов для реализации комбинированной фотодинамической и химиотерапии;
- синтез таргетных радиофармпрепаратов для радионуклидной диагностики ( $^{99m}\text{Tc}$ ) и терапии (Lu) онкологических заболеваний;

- разработка препаратов для нейтронозахватной терапии опухолей на основе конъюгатов природных хлоринов с борными кластерами и комплексами гадолиния;
- получение субстанций на основе катионных природных хлоринов для антимикробной фотодинамической терапии.

Кроме того, новым направлением научных исследований Университета является создание фотопереключаемых блокаторов  $\text{Na}_v$  каналов на основе азобензолов для управляемой светом местной анестезии. Все соединения, полученные в рамках вышеперечисленных направлений, охарактеризованы набором физико-химических методов анализа, их чистота и индивидуальность подтверждены хромато-масс спектрометрией, а биологические испытания проведены как на клеточном, так и на организменном уровне, в том числе, на животных-опухоленосителях.

*Работа была выполнена в рамках проекта «Радиофармпрепараты 2023» в ходе реализации программы развития РТУ МИРЭА стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».*

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГРАМИЦИДИНА С В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСА ВКЛЮЧЕНИЯ С И ГИДРОКСИПРОПИЛ- $\beta$ -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

А.А. Дранников<sup>1\*</sup>, А. Ди Мартино<sup>1</sup>, М.В. Белоусов<sup>2</sup>, М.Е. Трусова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия

e-mail: aad12@tpu.ru

**Ключевые слова:** грамицидин С,  $\beta$ -циклодекстрин, гемолиз.

**Введение.** Антимикробный пептид грамицидин С обладает активностью в отношении грамположительных бактерий, благодаря чему широко применяется в терапии местных заболеваний полости рта [1]. В то же время системное применение грамицидина С ограничено по причине гемолитической активности в концентрации ( $T_{50}$ ) от 13 до 35,2 мкг/мл [2, 3]. Механизм грамицидин-индуцированного гемолиза изучен и соответствует общепринятой модели антимикробной активности пептида, заключающейся в формировании пор в мембране клеток, что приводит к нарушению ионного обмена и гибели микроорганизмов [2].

Хотя в желудочно-кишечном тракте грамицидин С всасывается в минимальных количествах и не оказывает системного действия на организм пациента [4], известны случаи, когда гемолиз может иметь отложенный во времени характер [5] или возникать у пациентов, имеющих легкую форму анемии, в то время как для здоровых пациентов в ходе клинических исследований данный эффект не установлен [6].

В рамках настоящей работы, нами предпринята попытка добиться снижения грамицидин-индуцированного гемолиза, применяя подход, предусматривающий инкапсулирование действующего вещества в полость гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина.

Применение гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина для комплексообразования с грамицидином С известно из работ J. Pitha, где раскрывается способ инкапсулирования антибиотика в присутствии этанола и гидроксида аммония в качестве соразтворителя [7]. В то же время, в более поздней работе установлено оптимальное стехиометрическое соотношение для формирования комплекса включения [8].

**Цель.** Оценка уровня грамицидин-индуцированного гемолиза в составе комплекса включения с гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрином.

**Материалы и методы.** Комплекс включения грамицидина С и гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина получали посредством смешивания 5 % раствора грамицидина С дигидрохлорида (АО «ПФК Обновление», Россия) в этиловом спирте с 2 % раствором гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина (Roquette Frères, Франция) в воде очищенной со

скоростью 500 об/мин в течение 30 минут, затем фильтровали раствор комплекса через шприцевые фильтры рейтингом 0,45 мкм (Gluvech, Россия). Далее реакционную массу замораживали и удаляли растворитель с использованием лиофильной сушилки TFD8503 (ilShinBioBase Co Ltd, Южная Корея). Структуру комплекса подтверждали методами ЯМР  $^1\text{H}$ -спектроскопии, ИК-спектроскопии, дифференциальной сканирующей калориметрии и термогравиметрии.

Исследование гемолитических свойств проводили с использованием образца свежееотобранной крови в количестве 3 мл. На первом этапе проводили промывку крови путем добавления отобранного образца к 14 мл фосфатного буфера с рН 5,7 и перемешивания на орбитальном шейкере, после чего центрифугировали полученную суспензию в течение 10 минут при 500 g и температуре 4 °С. Удаляли супернатант и повторяли указанную последовательность операций 4 раза, после чего готовили концентрированный раствор крови с концентрацией 2 % посредством отбора 0,2 мл крови со дна виалы и добавления ее к 9,8 мл фосфатного буфера с рН 5,7. Отдельно готовили испытуемые водные растворы грамицидина С дигидрохлорида, комплекса грамицидина С дигидрохлорида и гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина методом серийных разведений, получая значения концентрации действующего вещества в растворе от 500 мкг/мл до 15,625 мкг/мл. Для определения уровня гемолиза добавляли 50 мкл 2 % раствора крови к 100 мкл испытуемых растворов в разных концентрациях и инкубировали в течение 30 минут при 37 °С в термостате, после чего образцы центрифугировали при 2500 g в течение 6 минут, отбирали 0,1 мл супернатанта и разбавляли раствором фосфатного буфера с рН 5,7 для проведения анализа. Анализировали полученные пробы на УФ-спектрофотометре, оценивая поглощение образцов при длине волны 541 нм и сравнивая сигнал с уровнем лизиса.

**Результаты.** Результат исследования гемолитических свойств грамицидина С в составе полученного комплекса, а также отдельных компонентов комплекса представлена на рисунке 1.

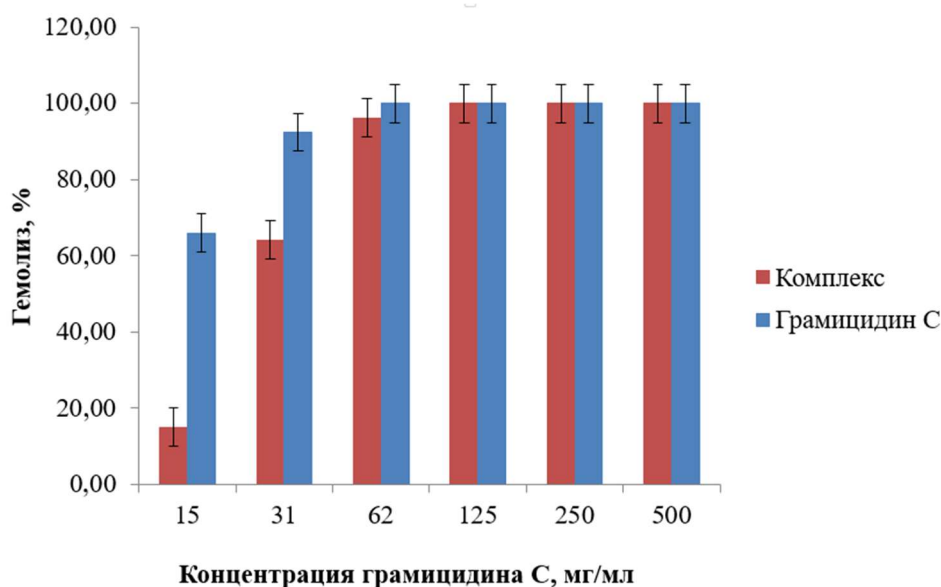


Рисунок 1. Результаты исследования гемолиза

Согласно данным рисунка 1, грамицидин-индуцированный гемолиз снижается при инкапсулировании пептида в полость гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина. Наблюдаемый результат может быть обусловлен особенностями взаимодействия между грамицидина С дигидрохлоридом и эритроцитами.

Большинство бактерий несут на поверхности своей оболочки слабый отрицательный заряд. При этом считается, что начальной стадией взаимодействия между грамицидином С и микроорганизмами является именно электростатическое взаимодействие между

протонированной аминогруппой  $\text{NH}^{3+}$  L-орнитина и внешней оболочкой фосфолипидного слоя бактерий, что приводит к разупорядочиванию последнего [9]. В составе полученного комплекса именно аминогруппа L-орнитина находится в полости гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина, что обуславливает сниженный уровень грамицидин-индуцированного гемолиза и способствует значительному повышению безопасности препаратов на основе разработанной композиции, не снижая при этом антимикробных свойств пептида.

В то же время отмечается, что данный эффект особенно хорошо проявляется при низкой концентрации пептида, а дальнейший рост концентрации пептида приводит к полному разрушению фосфолипидного слоя [10].

**Заключение.** В результате проведенного исследования установлено, что формирование комплекса грамицидина С и гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина позволяет снизить гемолитический эффект от применения пептида в 2 раза, что открывает перспективы к разработке лекарственных форм пептида, обладающих более низким уровнем побочных эффектов.

#### **Литература.**

1. Свистушкин В. М., Никифорова Г. Н., Мокоян Ж. Т. Место топических антимикробных лекарственных средств в фармакотерапии инфекционно-воспалительных заболеваний глотки. *Российский медицинский журнал*. 2017; 23(25): 1739-1743.

2. Semrau S., Monster M. W. L., Van Der Knaap M., Florea B. I., Schmidt T., Overhand M. Membrane lysis by gramicidin S visualized in red blood cells and giant vesicles. *Biochimica et biophysica acta: Biomembranes*. 2010; 11(1798): 2033-2039. DOI: 10.1016/j.bbamem.2010.07.001.

3. Swierstra J., Kapoorchan V., Knijnenburg A., van Belkum A., Overhand M. Structure, toxicity and antibiotic activity of gramicidin S and derivatives. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2016; 5(35): 763-769. DOI: 10.1007/s10096-016-2595-y.

4. Grotenbreg G. M., Buizert A. E., Llamas-Saiz A. L., Spalburg E., van Hooft P. A., de Neeling A. J., Noort D., van Raaij M. J., van der Marel G. A., Overkleeft H. S., Overhand M.  $\beta$ -Turn modified gramicidin S analogues containing arylated sugar amino acids display antimicrobial and hemolytic activity comparable to the natural product. *Journal of the American chemical society*. 2006. 23(128): 7559-7565. DOI: 10.1021/ja0588510.

5. Wu Y., Wu Y., Ji Y., Liu Y., Wu D., Liang J., Guo G., Chen B. Case report: oral cimetidine administration causes drug-induced immune hemolytic anemia by eliciting the production of cimetidine-dependent antibodies and drug-independent non-specific antibodies. *Frontiers in medicine*. 2021;8: 723167. DOI: 10.3389/fmed.2021.723167.

6. Agarwal S. P., Ali A., Dua Y., Ahuja S. Determination of artemisinin in bulk and pharmaceutical dosage forms using HPTLC. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. 2009; 71(1): 98. DOI: 10.4103/0250-474X.51948.

7. Pitha J., Hoshino T., Torres-Labandeira J., Irie T. Preparation of drug: hydroxypropylcyclodextrin complexes by a method using ethanol or aqueous ammonium hydroxide as co-solubilizers. *International journal of pharmaceuticals*. 1992; 1-3(80): 253-258. DOI: 10.1016/0378-5173(92)90282-7.

8. Drannikov A. A., Vatlin I. S., Trusova M. E., Di Martino A., Krivoshchekov S. V., Guriev A. M., Belousov M. V. Investigation of the influence of formulation method on technological parameters of Gramicidin S and  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *Drug development & registration*. 2022; 11(2): 102-108. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-102-108.

9. Zidovetzki R., Banerjee U., Harrington D. W., Chan S. I. NMR study of the interactions of polymyxin B, gramicidin S, and valinomycin with dimyristoyllecithin bilayers. *Biochemistry*. 1988; 15(27): 5686-5692. DOI: 10.1021/bi00415a044.

10. Zuckerkandl E., Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. *Evolving genes and proteins*. 1965: 97-166. DOI: 10.1016/B978-1-4832-2734-4.50017-6.

# РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПЛЕНОК С НПВС СЕЛЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ

А.А. Ковалева\*, Ю.Ю. Жидкова

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия

e-mail.ru: kovaleva.a.al@mail.ru

**Ключевые слова:** лекарственные пленки, эторикоксиб, купирование боли.

**Введение.** Болевой синдром и воспаление - наиболее частые причины обращения населения за медицинской помощью. Данный факт способствует тому, что фармакологами и фармацевтическими специалистами активно разрабатываются новые лекарственные формы, обладающие противовоспалительным и анальгезирующим действием.

В качестве действующего вещества была выбрана субстанция эторикоксиба. Механизм действия эторикоксиба заключается в высокоселективном ингибировании циклооксигеназы-2, что обуславливает его противовоспалительный, анальгезирующий и жаропонижающий эффекты. Соотношение ингибирующей концентрации ЦОГ-1/ЦОГ-2 *in vitro* составляет 344, что существенно выше в сравнении со всеми «коксибами» [1]. Благодаря своим характеристикам он зарекомендовал себя как эффективное средство для купирования острой боли и острого подагрического артрита [2]. Достоинством также является и удобство его применения - его однократный прием (период полувыведения 22 часа) вне зависимости от приема пищи [3].

Пленки лекарственные обладают рядом преимуществ перед другими пероральными лекарственными формами. Так, в отличие от таблеток пленки не требуют запивания водой, поскольку растворяются в полости рта; обладают высокой биодоступностью, так как действующее вещество попадает сразу в системный кровоток; исключают риск возникновения побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта.

**Цель.** Целью работы являлась разработка и стандартизация лекарственных пленок с НПВС селективного действия.

**Материалы и методы.** Материалами исследования являлись: эторикоксиб (производитель — Alembic Pharmaceuticals Ltd, Индия, серийный номер 2102010991), желатин пищевой (ГОСТ 23058-89), глюкоза (ФС 42-0004-00), какао порошок (ГОСТ 108-214), глицерин дистиллированный (ФС 43-2202-99), натрия бензоат (ГОСТ 32777-2014), вода очищенная (ФС 42-2619-97).

Для проведения стандартизации пленок использовалось следующее оборудование: микрометр, весы аналитические, рН-метр А4100, иономер универсальный ЭВ-74. Для стандартизации модельных образцов использовались физико-химические методы и органолептические испытания.

**Результаты.** В ходе научного исследования проводилась работа по изучению и подбору ингредиентов для определения оптимального состава разрабатываемой лекарственной формы. Критериями для отбора состава послужили: способность основы качественно образовывать полимерную пленку, внешний вид, легкость отделения от подложки, целостность и однородность пленки.

Наиболее оптимальным получился следующий состав: желатин — 7,14%; эторикоксиб — 2,14%; глицерин — 10%; какао — 4,29%; глюкоза — 2,86%; вода очищенная — 71,43%. Данный состав полностью удовлетворяет требованиям, поэтому был использован для дальнейших испытаний.

**Описание.** Внешний вид пленок оценивали визуально. Полученные пленки представляют собой эластичные пластинки прямоугольной формы коричневого цвета с характерным запахом какао.

**Размер пленок.** Геометрические показатели модельных образцов измерялись при помощи микрометра. Длина пленки 23 ( $\pm 0,2$ ) мм, ширина 19 ( $\pm 0,1$ ) мм, толщина 0,3 ( $\pm 0,1$ ) мм.

**Микробиологическая чистота.** Испытание на микробиологическую чистоту проводилось в соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота» 1.2.4.0002.18. ГФ XIV издания. Параллельно с определением показателя микробиологической чистоты вели подбор количества консерванта. Было изготовлено три образца пленок с различным содержанием консерванта натрия бензоата, который по литературным данным является оптимальным для данной лекарственной формы. Состав №1 — 0%, состав №2 — 1,5%, состав №3 — 3,0%.

Результаты испытания оказались следующими: образец под №1 имел завышенные допустимые показатели числа аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов, *Escherichia coli*. У образцов под №2 и №3 показатели укладывались в норму, прописанную в ГФ XIV издания. По итогам испытания было решено включить в состав натрия бензоат в дозировке 1,5%, так как этой концентрации оказалось достаточно, чтобы предотвратить микробную контаминацию пленки.

**рН раствора.** Так как в одной лекарственной пленке концентрация действующего вещества составляет 3%, то для приготовления испытуемого раствора было взято 4 пластинки, которые растворяли в горячей воде. Раствор охлаждали до комнатной температуры, после чего начинали проводить измерения. Проведение испытания по показателю рН проводилось на основании ОФС «Ионометрия» 1.2.1.0004.15. ГФ XIV издания. Выполнено 9 измерений, на основании которых рассчитано среднее значение рН=5,63. Референтные значения рН слюны человека варьируются в диапазоне 6,4 — 7,4. Полученный результат говорит о допустимости энтерального применения лекарственной пленки [4].

**Заключение.** Разработан состав лекарственной пленки с эторикоксибом на желатиновой основе, а также проведены испытания на некоторые показатели качества в соответствии с требованиями ОФС 1.4.1.0035.18 «Пленки».

#### **Литература.**

1. Каратеева А.Е. Эторикоксиб: оценка эффективности и безопасности. *Эффективная фармакотерапия*. 2009; 19:38-47.
2. Каратеев А.Е. Терапевтический потенциал эторикоксиба в клинической практике. *Современная ревматология*. 2020; 4(1): 108–117.
3. Алексеев В.В. Эторикоксиб (Аркоксиа) в терапии болевых синдромов. *Эффективная фармакотерапия*. 2012; 1:10-15.
4. Жидкова Ю.Ю., Ковалева А.А., Гармашова И.В. Определение показателей качества пленок лекарственных с НПВС селективного действия. *Актуальные вопросы развития российской фармации — Ильинские чтения*. Санкт-Петербург, 09–10 января 2023: 48-51.
5. ОФС «Микробиологическая чистота» 1.2.4.0002.18. *Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. – XIV изд.* (1):1128-1200.
6. ОФС «Ионометрия» 1.2.1.0004.15. *Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. – XIV изд.* (1): 532-541.
7. ОФС 1.4.1.0035.18 «Пленки». *Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. – XIV изд.* (2):2044-2048.

## ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГЕЛЕЙ ПРОПРАНОЛОЛА ГИДРОХЛОРИДА

Н.С. Голяк, А.О. Михнюк

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

e-mail: artemmihnuk@gmail.com

**Ключевые слова:** инфантильные гемангиомы, пропранолол, гель.

**Введение.** Инфантильные гемангиомы (ИГ) – сосудистые доброкачественные опухоли детского возраста. В первый год жизни их распространенность составляет 4-12%, в 3-5 раз чаще встречаются у девочек, чем у мальчиков.

Пропранолол для лечения ИГ был одобрен в США в марте 2014 г. В Российской Федерации зарегистрирован французский лекарственный препарат Гемангиол, раствор для перорального приема, содержащий 3,75 мг/мл пропранолола гидрохлорида. При пероральном применении пропранолола у части пациентов проявляются следующие побочные эффекты: гипотензия, брадикардия, бронхоспазм, одышка, нарушение сна, холодные конечности. Перечисленные нежелательные реакции практически не наблюдаются при местном использовании мягких лекарственных форм пропранолола.

**Цель:** предложить состав, технологию изготовления геля пропранолола и стандартизировать полученный гель.

**Материалы и методы.** Технология получения гелей. Предварительно готовили концентрированный раствор 5,0% м/м пропранолола гидрохлорида в воде очищенной. Затем суспензировали гидроксиэтилцеллюлозу (ГЭЦ) в пропиленгликоле. К полученной суспензии добавляли концентрированный раствор пропранолола гидрохлорида и рассчитанное количество воды очищенной. Конечная концентрация пропранолола гидрохлорида составляла 3 % м/м, ГЭЦ - 1,5% м/м, пропиленгликоля – 25 % м/м. В качестве усилителя проницаемости добавляли 5,0% м/м транскутола. Для исследования также были приготовлены гели с добавлением других веществ – 10,0% м/м ДМСО, 0,05% м/м ментола, 1,0% м/м масла мяты, 1,0% м/м масла календулы, 1,0% м/м масла облепихи. Помимо гелей была приготовлена суспензионная мазь с концентрацией пропранолола гидрохлорида 3 % м/м (основа вазелин: ланолин – 9:1).

Стандартизацию гелей проводили по описанию (визуально), подлинности, количественному содержанию пропранолола гидрохлорида, микробиологической чистоте. Чтобы количественно определить пропранолол гидрохлорид, навеску исследуемого образца геля массой 1,25 г растворяли в 40 мл воды очищенной в мерной колбе, доводили до 50 мл водой очищенной, перемешивали. Полученный раствор разбавляли в 25 раз и измеряли оптическую плотность при  $290 \pm 2$  нм в кюветах с толщиной рабочего слоя 10 мм на спектрофотометре Varian Cary®50, в качестве раствора сравнения использовали воду очищенную. Вспомогательные вещества геля не влияли на максимум спектра пропранолола гидрохлорида. Концентрацию пропранолола гидрохлорида рассчитывали с использованием калибровочного графика. Каждый образец исследовали в трех повторностях.

Либерацию пропранолола гидрохлорида *in vitro* изучали с помощью ячеек Франца с площадью  $0,785 \text{ см}^2$ . Использовали полупроницаемую мембрану Visking dialysis tubing. Мембрану использовали из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 25 Å. Вырезали круг диаметром 1,5 см, предварительно замачивали в воде очищенной на 10 минут. На мембрану помещали образец геля в количестве 0,2 г и закрепляли между донорной и акцепторной средой. Среда высвобождения — фосфатный буферный раствор с pH=7,4, температура —  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Температуру поддерживали с помощью термостата. Объем среды высвобождения 8 мл. Высвобождение изучали в течение 24 ч. Частота отбора проб для анализа с восполнением среды высвобождения составила 1 ч; 2 ч; 3 ч, 6 ч, 24 ч. Объем отбора 2 мл. При необходимости пробы разбавляли водой очищенной. Измеряли оптическую плотность на спектрофотометре Varian Cary®50 при длине волны  $290 \pm 2$  нм в кюветах с толщиной рабочего слоя 10 мм. Концентрацию высвободившегося пропранолола гидрохлорида с помощью калибровочного графика учитывая разбавление. Каждый образец исследовали в трех повторностях.

Так как между приготовленными гелями не наблюдали разницу в либерации действующего вещества, для дальнейшего изучения выбрали гель без энхансеров и гель с маслом мяты из-за приятного запаха. Гели были расфасованы в тубы по 15,0 г и заложены в климатическую камеру при температуре  $25^\circ\text{C}$  и относительной влажности 60% для испытания на стабильность. Через 1, 2, 3 и 6 месяцев проводили стандартизацию гелей по описанию, подлинности, количественному содержанию пропранолола гидрохлорида и микробиологической чистоте.



Валидацию методики количественного определения пропранолола гидрохлорида проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Евразийского экономического союза по критериям: специфичность, линейность, правильность, сходимость и воспроизводимость.

**Результаты.** Высвобождение пропранолола гидрохлорида протекает равномерно и через 6 часов пропранолол полностью высвобождается из всех гелей. Для мази, изготовленной на абсорбционной основе (вазелин: ланолин 9:1), показатель либерации действующего вещества значительно ниже:  $(9,62 \pm 0,39)$  % через 6 часов и  $(16,89 \pm 0,33)$  % через 24 часа (таблица 1).

Таблица 1. Либерация пропранолола гидрохлорида из мягких лекарственных форм.  
% высвобождения пропранолола гидрохлорида,

Характеристика геля	$(\bar{x} \pm \Delta\bar{x}) (n=3)$				
	1 час	2 часа	3 часа	6 часов	24 часа
Гель № 1 (без транскутола)	18,23±0,36	45,60±0,65	77,74±0,75	99,81±1,42	
Гель № 3 (5,0% транскутола)	17,28±0,35	44,66±1,30	76,55±1,66	98,36±0,98	
Гель №4 (10,0% ДМСО)	16,36±0,03	44,50±0,42	77,68±1,54	97,72±0,94	
Гель №5 (0,05% ментола и 10% изопропанола)	18,81±0,54	45,34±0,59	74,30±0,83	97,78±1,96	
Гель №6 (1,0% масла мяты)	18,00±1,03	44,76±0,59	79,67±0,35	98,46±1,18	
Гель №7 (1,0% масла календулы)	17,74±1,01	44,50±0,42	77,68±1,54	97,72±0,94	
Гель №8 (1,0% масла облепихи)	16,96±0,71	45,27±0,53	74,84±1,43	96,47±1,29	
Мазь (основа вазелин: ланолин 9:1)	1,87±0,07	3,83±0,07	6,11±0,09	9,62±0,39	16,89±0,33

Через 1, 2, 3 и 6 месяцев хранения геля без энхансеров и геля с маслом мяты в климатической камере при температуре 25°C и относительной влажности 60% гели были стандартизированы по описанию, подлинности, количественному содержанию пропранолола гидрохлорида, микробиологической чистоте и выявлено, что содержание пропранолола гидрохлорида не изменилось и составило  $29,75 \pm 0,46$  мг/г и  $29,80 \pm 0,58$  мг/г через 6 месяцев соответственно, микробиологическая чистота соответствовала фармакопейным требованиям, но гель с маслом мяты приобрел бледно-оранжевую окраску.

Была разработана и валидирована методика количественного определения пропранолола гидрохлорида в гелях методом спектрофотометрии. Доказана специфичность методики (спектр раствора плацебо не имел максимума при длине волны  $290 \pm 2$  нм), линейность (квадрат коэффициента корреляции ( $R^2$ ) составил 0,9979), правильность (процент восстановления для пропранолола гидрохлорида имеет среднее значение 99,89%), сходимость методики (коэффициент вариации для 6 определений составил 0,37%, что удовлетворяет условию не более 5%), внутрилабораторная воспроизводимость приемлемая, так как коэффициент вариации равен 0,64 в один день и 0,90 во второй день.

### **Заключение.**

На сегодняшний день на мировом фармацевтическом рынке существуют лишь пероральные лекарственные формы пропранолола гидрохлорида и нет ни одного препарата для местного применения.

Гели пропранолола гидрохлорида 3 % м/м, приготовленные с использованием 1,5 % м/м гидроксиэтилцеллюлозы и 25 % м/м пропиленгликоля, а также этот же гель с разными добавками (транскутол, масло мяты и др.) высвобождают весь пропранолол гидрохлорид через 6 часов. Либерация пропранолола гидрохлорида из мази на абсорбционной значительно хуже:  $(9,62 \pm 0,39)$  % через 6 часов и  $(16,89 \pm 0,33)$  % через 24 часа.

После хранения 2-х составов гелей в климатической камере при температуре 25°C и относительной влажности 60% в течении 6 месяцев содержание пропранолола гидрохлорида не изменилось и составило  $29,75 \pm 0,46$  мг/г и  $29,80 \pm 0,58$  мг/г соответственно, но гель с мятным маслом приобрел бледно-оранжевую окраску, микробиологическая чистота гелей соответствовала требованиям фармакопеи.

Была разработана и валидирована методика количественного определения пропранолола гидрохлорида в гелях методом спектрофотометрии.

### **Литература.**

1. Kaneko, T. Efficacy and safety of oral propranolol for infantile hemangioma in Japan / T. Kaneko [et al.]. *Pediatrics International*. 2017;59:869-877.
2. Kashiwagura, Y. Topical Formulations of Propranolol for Infantile Hemangiomas: Characteristics of Formulations and Three Cases of Infants Administered Topical Propranolol Cream / Y. Kashiwagura [et al.] *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2022;70: 277-282.
3. Nagata, E. Efficacy and safety of propranolol cream in infantile hemangioma: A prospective pilot study / E. Nagata [et al.] *Journal of Pharmacological Sciences*. 2022; 149: 60-65.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ IN VITRO КАК КЛЮЧЕВОЙ ЭЛЕМЕНТ РАЗРАБОТКИ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

А.М. Павлов

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский  
Университет), г. Москва, Россия  
e-mail: zurianov2009@gmail.com

**Ключевые слова:** исследование высвобождения in vitro, интраназальный путь введения.

**Введение.** Интраназальный путь является надежным альтернативным путем введения активных фармацевтических субстанций в организм человека. Однако рекомендуемых фармакопейных тестов на диффузию и растворение in vitro для исследования интраназальных составов лекарственных средств не существует, что затрудняет фармацевтическую разработку и делает невозможным сравнение результатов различных исследований для предсказания поведения тестируемых лекарственных форм.

**Целью** настоящего исследования является научно-обоснованный выбор метода исследования высвобождения in vitro для разработки интраназального лекарственного средства.

**Материалы и методы.** Методологической основой исследования служили литературные данные, представленные в библиографической базе национальной медицинской библиотеки (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), а также в российских научных онлайн-библиотеках (<http://elibrary.ru/defaultx.asp> и <http://cyberleninka.ru/>).

**Результаты.** В открытых литературных данных встречаются результаты исследований высвобождения in vitro лекарственных средств для интраназального введения, которые проводились авторами с использованием фармакопейных и нефармакопейных методов, рекомендуемые для иных лекарственных форм. Среди

используемых фармакопейных методов, упоминаемых в литературных источниках – вращающаяся корзинка, лопастная мешалка, проточная ячейка [9,10].

Нефармакопейные методы оценки высвобождения интраназальных лекарственных средств в основном используются для исследования высвобождения *in vitro* из гелей [5], микро- наночастиц [1, 2], наноэмульсий [3], липосом [8], мицеллярных растворов и суспензионных растворов [4] и наноструктурированных липидных носителей [6], представляя собой технически «модифицированные» условия проведения фармакопейных тестов растворения с оценкой диффузии при помощи диализного мешка или мембраны.

Из-за различий в «конструкции» состава интраназальной лекарственной формы невозможно использовать единую тест-систему для изучения свойств высвобождения активных фармацевтических субстанций из назальных систем, поэтому достаточно часто в литературных данных встречается различное оборудование, процедуры и методы в зависимости от характеристик состава лекарственной формы, в каждом конкретном случае.

Следует отметить, что выбор метода исследования высвобождения *in vitro* имеет большое значение для упрощения и ускорения проведения доклинических исследований.

Система диффузионных ячеек Франца является официальным фармакопейным методом, в первую очередь для исследования диффузии трансдермальных препаратов, но это один из наиболее часто используемых методов для исследования интраназальных лекарственных форм, упоминаемых в литературе [7].

**Заключение.** Тест на мембранном высвобождении принципиально отличается от немембранного теста, поскольку проникновение активной фармацевтической субстанции в акцепторную среду ограничивается не только ее высвобождением из состава и растворением в акцепторной жидкости, но и диффузией вещества через полупроницаемую мембрану. Применяемая мембрана удерживает активную фармацевтическую субстанцию в донорском отсеке, но позволяет переносить растворенные/высвобождаемые молекулы в акцепторную среду постепенно, что практически приближает моделируемый процесс к условиям *in vivo*.

На наш взгляд, на современном этапе исследований метод исследования высвобождения с мембраной следует признать наиболее целесообразным для оценки высвобождения активных фармацевтических субстанций из лекарственных средств интраназального введения, тогда как методы, основанные на непосредственном введении лекарственной формы в акцепторную среду (вращающаяся корзинка, лопастная мешалка и проточная ячейка), могут играть лишь вспомогательную роль в подтверждении или верификации полученных результатов, в основном при корреляции количества действующего вещества, при «взрывном» эффекте высвобождения (эффекта быстрого высвобождения значительной фракции действующих веществ), с их количеством, определяемым в интерфазе высвобождения.

#### **Литература.**

1. A.D. Kulkarni, D.B. Bari, S.J. Surana, C. V. Pardeshi, In vitro, ex vivo and in vivo performance of chitosan-based spray-dried nasal mucoadhesive microspheres of diltiazem hydrochloride. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 31 (2016): 108–117.

2. H.S. Mahajan, B. V. Tatiya, P.P. Nerkar. Ondansetron loaded pectin based microspheres for nasal administration: In vitro and in vivo studies. *Powder Technol.* 221 (2012): 168–176.

3. R. Pathak, R. Prasad Dash, M. Misra, M. Nivsarkar, Role of mucoadhesive polymers in enhancing delivery of nimodipine microemulsion to brain via intranasal route. *Acta Pharm. Sin. B.* 4 (2014): 151–160.

4. S. Jose, C.R. Ansa, T.A. Cinu, A.J. Chacko, N.A. Aleykutty, S. V. Ferreira, E.B. Souto, Thermosensitive gels containing lorazepam microspheres for intranasal brain targeting. *Int. J. Pharm.* 441 (2013): 516–526.

5. S. Shelke, S. Shahi, S. Jalalpure, D. Dhamecha, S. Shengule, Formulation and evaluation of thermoreversible mucoadhesive in-situ gel for intranasal delivery of naratriptan hydrochloride, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 29 (2015): 238–244.

6. Swamy, N.G.N.; Abbas, Z. Mucoadhesive in situ gels as nasal drug delivery systems: An overview. *Asian J. Pharm. Sci.* 2012; 7: 168–180.
7. Watts, P.; Smith, A. PecSys: In situ gelling system for optimised nasal drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2009; 6: 543–552.
8. Xu, X.; Khan, M.A.; Burgess, D.J. A two-stage reverse dialysis in vitro dissolution testing method for passive targeted liposomes. *Int. J. Pharm.* 2012; 426: 211–218.
9. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV изд. – В 4-х тт.: утверждена приказом Министерства здравоохранения 31 октября 2018 г. № 749. – Москва, 2018. – Текст: непосредственный.
10. Фармакопея ЕАС. Об утверждении Требований к исследованию стабильности лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций: решение коллегии ЕЭК от 10 мая 2018 г. [в ред. от 30.06.2020 г.]. – Текст электронный. – URL: [https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-10052018\\_9/trebovaniia-k-issledovaniu-stabilnosti-lekarstvennykh](https://sudact.ru/law/reshenie-kollegii-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-10052018_9/trebovaniia-k-issledovaniu-stabilnosti-lekarstvennykh). (дата обращения: 27.08.2023). – Режим доступа: свободный.

## ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ СЕЛЕНИЗИРОВАННОЙ ЛАМИНАРИИ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Н.Э. Струппуль<sup>1\*</sup>, В.Е. Силантьев<sup>1,2</sup>, Н.В. Пучкова<sup>3</sup>, Т.Ю. Дубская<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины и наук о жизни,  
г. Владивосток, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химии ДВО РАН, Россия

<sup>3</sup>НИИФирМ имени Е.Д. Гольдберга, отдел лекарственной токсикологии, г. Томск, Россия;

<sup>4</sup>«Приморский океанариум» - филиал ННЦМБ ДВО, г. Владивосток, Россия  
e-mail: struppul.nye@dvfu.ru

**Ключевые слова:** селен; морские водоросли; динамика накопления

**Введение.** Начало применения препаратов селена первого поколения относится к 70-м годам XX века. Это были в основном неорганические соли селена - селенаты и селениты, которые легко всасываются в кишечнике человека, но являются довольно опасными с точки зрения их дальнейших преобразований. В процессе метаболизма селенат- и селенит-ионы вступают во взаимодействие с глутатионом и при избыточном поступлении в организм селенита натрия образуют высокотоксичный гидроселенид ион (Полубояринов и др., 2019).

Токсичность селеноводорода заключается в инактивации металлсодержащих ферментов (цитохромоксидазы, каталазы, пероксидазы) и повреждение молекул ДНК в результате накопления перекисных радикалов - супероксид-ионов, пероксида водорода и полиселенидов (Reugoché et al., 2012). Органические формы селена менее токсичны, чем неорганические. Поэтому для профилактики селенодефицитных состояний с 1984 года во Франции начали применять органические формы селена, такие как селенометионин и селеноцистеин. Селенометионин – это основной пищевой источник селена, который также имеет возможность образовать токсичные формы в результате ферментативных реакций, но основным метаболитом этой аминокислоты является селеноцистеин, играющий ключевую роль в обеспечении антиоксидантной защиты организма (Lazard et al., 2015). Наиболее успешным решением проблемы селенодефицита может стать увеличение содержания селена в продуктах питания растительного происхождения, в том числе и морского генеза. Растения активно накапливают этот элемент из окружающей среды и в процессе метаболизма переводят его в биодоступную форму селенометионина. Морские водоросли являются перспективным сырьем в данном направлении в силу удобства добычи, культивирования, обработки и использования. Кроме того, водоросли имеют широкий диапазон условий выживаемости, включая минеральный состав воды, что делает их перспективным сырьем для различных биотехнологических разработок.

**Целью** работы являлась разработка технологии производства селенобогатых бурых водорослей с возможностью дальнейшего получения фармацевтических препаратов на их основе. Основным вопросом являлось технико-экономическое обоснование процесса накопления с условием получения биомассы водорослей, отвечающим требованиям безопасности пищевого сырья, но при этом имеющих уровень селена достаточный для производства функциональных продуктов питания.

**Материалы и методы.** Обогащение водорослевой массы селеном производили на базе ЦКП «Приморский океанариум», ННЦМБ ДВО РАН (Владивосток). В работе использовали бурые 2х-летние водоросли *Saccharina japonica*, предоставленные АО «Южморрыбфлот» ГК «Доброфлот» (зал. Петра Великого, Японское/Восточное море). Концентрацию селена в талломах водорослей определяли ежедневно флуориметрическим способом с 2,3-диаминонафталином по ГФ XIV (ОФС.1.2.2.2.0006.15). Безопасность селенизированной ламинарии определяли путем оценки острой токсичности на двух видах животных в группе лекарственной токсикологии ИЦ на базе НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ согласно ГОСТ 32664.

**Результаты.** Анализ данных показал, что кинетические кривые процесса накопления селена талломами *S. japonica* представляют собой параболу, проходящую через максимум на 6–7 сутки эксперимента. В этот момент накопление селена наиболее эффективно: в процессе задействованы все имеющиеся центры связывания. По мере их насыщения процесс замедляется и дальнейший представляется нецелесообразным. Данное предположение подтверждали методом построения логистических кривых Фергельста-Перля вида  $dN/dt = bN ((K - N)/K)$ , где  $N$  – концентрация селена в клетках водоросли,  $t$  – время,  $b$  и  $K$  – константы. Коэффициент  $K$  представляет собой максимальную концентрацию селена, полученную в данных условиях;  $b$  – «парциальный потенциал», т.е. ускорение процесса аккумуляции при отсутствии сопротивления среды в строго определенных условиях (табл. 1).

Таблица 1. Рост концентрации селена в *S. japonica* в воде с градиентом концентраций селена:  $b = 10$ ,  $K = 63,8$

	Время экспозиции, сутки			
	0	3	6	10
$N$ – концентрация селена, мкг/г	1,34	10,64	41,92	54,50
$bN$ – потенциальный прирост селена	13,4	106,4	491,2	545,0
$(K - N)/K$ – степень реализации потенциального прироста	0,979	0,833	0,343	0,146
$[1 - (K - N)/K]$ – сопротивление организма	0,021	0,167	0,657	0,854
$dN/dt = bN (K - N)/K$ – скорость аккумуляции	13,1	88,6	168,5	79,6
$(bN - dN/dt)/(dN/dt)$ – интенсивность процесса	0,023	0,201	1,915	5,847

Величина  $(K - N)/K$  показывает степень реализации потенциальной скорости роста концентраций. Значение этого показателя стремится к нулю по мере увеличения содержания селена в клетках. Сопротивление клетки внедрению селена можно измерить той частью потенциального прироста, который не произошел: эту величину можно получить, вычитая  $(K - N)/K$  из единицы. Сопротивление увеличивается по мере увеличения концентрации селена в клетках, и его значение стремится к единице. Это значит, что потенциальный прирост концентрации селена почти полностью оказывается нереализованным. В случае дальнейшего увеличения селена в среде наблюдается увеличение сопротивления организма, что неизбежно сопровождается снижением потенциальной возможности накопления элемента (рис. 1).

Обогащенные слоевища водорослей сушили при температуре 50...60 °С до влажности 10 %. Безопасность селенизированной ламинарии определяли методом оценки

острой токсичности на лабораторных животных. Результаты показали, что однократное внутрижелудочное введение препарата селенизированной ламинария в дозе 2000 мг/кг в течение 24 часов после поступления и 14 дней после отмены препарата, не вызвало гибели животных, каких-либо патологических изменений их общего состояния, внешнего вида, аппетита, поведения и двигательной активности животных. Согласно ГОСТ 32644-2014 (схема А4) препарат можно отнести к 5 классу опасности с низким уровнем острой токсичности, что позволяет использовать его как сырье при производстве функциональных продуктов питания.

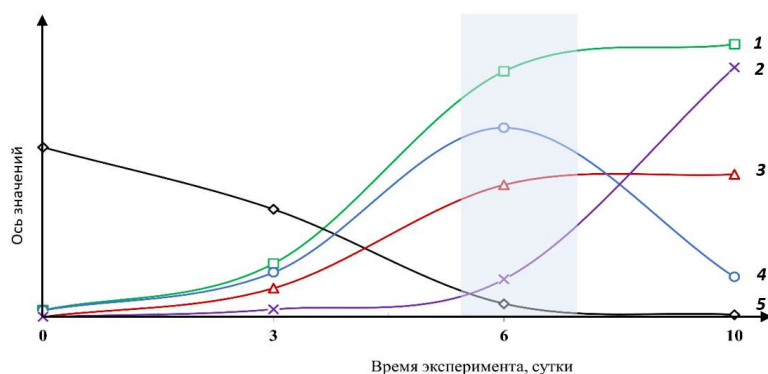


Рисунок 1. Характеристики процесса накопления селена *S. Japonica* в экспериментальных условиях: 1 – рост концентрации селена; 2 – интенсивность процесса внедрения селена; 3 – сопротивление клеток; 4 – скорость накопления селена; 5 – степень реализации потенциального прироста. Выделенная область – оптимальный период процесса

**Заключение.** Проведен анализ кинетики процесса накопления селена талломами бурых водорослей в экспериментальных условиях. Показано, что на 10-е сутки эксперимента достигается максимальный уровень селена в клетках водоросли. Определено время максимально эффективного включения селена в клеточные структуры водоросли (6-7 сутки), при котором наблюдается оптимальное соотношение между степенью реализации данного процесса и сопротивляемостью живой системы. Показана нецелесообразность дальнейшего процесса аккумуляции. Полученный продукт может быть использован как сырье для производства функциональных продуктов питания и фармацевтических препаратов.

*Работа выполняется в рамках реализации проекта «Науки о жизни: Биомедицина» программы стратегического академического лидерства «Приоритет – 2030», инициативная тематика №22-01-3.04-0010 «Биофармацевтические технологии для персонализированной медицины и здоровьесбережения» с использованием оборудования ЦКП «Приморский океанариум», ННЦМБ ДВО РАН (Владивосток).*

#### **Литература.**

1. ГОСТ 32644-2014. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность - метод определения класса острой токсичности (OECD, Test №423:2001, IDT). М.: Стандартинформ; 2015. 15 с.
2. Полуобояринов П. А., Елистратов Д.Г., Швец В.И. Метаболизм и механизм токсичности селенсодержащих препаратов, используемых для коррекции дефицита микроэлемента селена *Тонкие химические технологии*. 2019; 14(1):5-24. DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-1-5-24. – EDN YZNOXR.
3. Peyroche G., Saveanu C., Dauplais M., Lazard M., Beuneu F., Decourty L., Malabat C., Jacquier A., Blanquet S., Plateau P. Sodium selenide toxicity is mediated by O<sub>2</sub>-dependent DNA breaks. *PLoS One*. 2012; 7(5): 1-10. DOI: 10.1371/journal.pone.0036343.
4. Lazard M., Dauplais M., Blanquet S., Plateau P. Trans-sulfuration Pathway Seleno-amino Acids Are Mediators of Selenomethionine Toxicity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolism*. 2015; 290(17): 10741-10750. DOI: 10/1074/jbc.M115.640375.

## НОВЫЙ ВОДОРАСТВОРИМЫЙ ИК-ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР В РЯДУ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА А

Н.В. Суворов<sup>1</sup>, П.В. Островерхов<sup>1</sup>, В.А. Погорилый<sup>1</sup>, С.И. Тихонов<sup>1</sup>, Е.А. Плотникова<sup>2</sup>,  
Н.Б. Морозова<sup>2</sup>, А.Д. Плютинская<sup>2</sup>, А.А. Панкратов<sup>2</sup>, М.А. Грин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт тонких химических технологий, ФГБОУ ВО «МИРЭА - Российский  
технологический университет», г. Москва, Россия

<sup>2</sup>МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский  
исследовательский центр радиологии», г. Москва, Россия

e-mail: suvorov.nv@gmail.com

**Ключевые слова:** ФДТ, бактериохлорофилл, фотосенсибилизатор

**Введение.** Фотодинамическая терапия (ФДТ) является эффективным неинвазивным методом лечения злокачественных новообразований. Использование этого метода включает введение в организм лекарственного препарата – фотосенсибилизатора (ФС), который селективно накапливается в опухолевых клетках. Дальнейшее облучение пораженных тканей светом определенной длины волны приводит к генерации активных форм кислорода, способствующих эрадикации опухолевых клеток. В настоящее время наиболее перспективными соединениями, используемыми в фотодинамической терапии, являются производные хлоринов и бактериохлоринов. Однако использование указанных фотосенсибилизаторов в клинической практике ограничено из-за их малой растворимости в биологических жидкостях. В данной работе был синтезирован водорастворимый конъюгат дипропоксибактериопурпуринимида (ДПБИ) с плюронином F-127 и изучены его биологические свойства.

**Цель.** Получение водорастворимого фотосенсибилизатора бактериохлорофиллового ряда и оценка его биологической активности *in vitro* и *in vivo*.

**Материалы и методы.** О-пропилоксим-N-пропоксибактериопурпуринимид был получен по методике, разработанной на кафедре ХТБАСМиОХ из биомассы бактерий *Rhodobacter capsulatus*. Для присоединения плюрониона F127 применяли EDC и DMAP в дихлорметане. В качестве ФС сравнения использовали О-пропилоксим-N-пропоксибактериопурпуринимид в форме эмульсии в Kolliphor ELP. Исследования *in vitro* проводили на культуре опухолевых клеток мыши - саркома S37. Световое воздействие проводили галогеновой лампой через широкополосный фильтр КС-19 с пропусканием света  $\geq 720$  нм в дозе 10 Дж/см<sup>2</sup>. Плотность мощности составляла 21,0±2,0 мВт/см<sup>2</sup>. Исследования *in vivo* проводили на мышах-гибридах первого поколения F<sub>1</sub> (СВА × С57Bl/6j), самках, полученных из Научного центра биомедицинских технологий РАМН (филиал НЦБТ «Андреевка») весом 19 – 24 г. В качестве опухолевой модели использовали саркому мягких тканей мыши S37. Фотосенсибилизаторы вводили внутривенно в дозе 5,0 мг/кг (по активному веществу). Изучение острой токсичности ФС проводили у интактных мышей F<sub>1</sub>, самок и самцов при дробном внутривенном введении ФС в дозах от 10 до 50 мг/кг (по активному веществу).

**Результаты.** В настоящей работе в качестве лидерного соединения был выбран О-пропилоксим-N-пропоксибактериопурпуринимид (ДПБИ), имеющий максимум поглощения в области 800 нм и обладающий высоким фотодинамическим потенциалом. ДПБИ 1 был присоединен к плюрониону F-127 2 карбодимидным методом в соответствии со схемой (рисунок 1). Очистку полученных продуктов от низкомолекулярных соединений проводили диализом в течение 24 ч в дистиллированной воде, используя диализные мешки с размером пор 6-8 кДа. Вода была удалена с помощью лиофильной сушки.

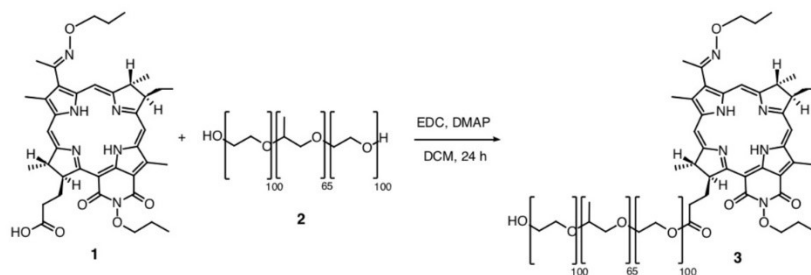


Рисунок. 1. Схема присоединения плуроника F-127 к *O*-пропилоксим-*N*-пропоксикарбионпурпуринимиду

Для получения монозамещенного полимера нами были подобраны условия реакции и соотношения реагентов, приводящие к присоединению только одной молекулы пигмента (3).

Изучение фотоиндуцированной активности соединения 3 в системе *in vitro* на клеточной культуре саркомы мыши S37 проводили в сравнении с эмульсией ДПБИ в 4%-ном растворе Kolliphor ELP (таблица 1). Показано, что величина ИК<sub>50</sub> уменьшалась при увеличении времени инкубации ФС с клетками. Максимальная фотоиндуцированная активность соединения 3 наблюдалась через 2 ч инкубации с клетками (ИК<sub>50</sub>=0,24±0,02 мкМ), тогда как для эмульсии ДПБИ через 4 ч инкубации (ИК<sub>50</sub>=0,15±0,01 мкМ) (таблица. 1).

Таблица 1. Фотоиндуцированная активность в системе *in vitro* на клетках S37 в зависимости от времени инкубации (концентрация раствора 0,5 мг/мл)

Время инкубации, ч	ИК <sub>50</sub> , мкМ			
	0,5	2	4	6
Соединение 3	1,11±0,05	0,24±0,02	0,25±0,02	0,24±0,02
Эмульсия ДПБИ	3,25±0,12	0,23±0,03	0,15±0,01	0,17±0,02

Методами МТТ и микроскопии установлено, что без облучения светом соединение 3 и эмульсия ДПБИ при концентрации соединений в среде меньше 30 мкМ и времени инкубации 24 ч не токсичны для клеток саркомы S37.

Исследования *in vivo* проводились на мышах с саркомой S37 в дозе 5,0 мг/кг в пересчете на активное вещество в составе ФС. Результаты исследования биораспределения, проведенного методом локальной флуоресцентной спектроскопии (ЛФС), соединения 3 сопоставимы с результатами, полученными при использовании эмульсии ДПБИ.

Оценку фотоиндуцированной противоопухолевой активности проводили у мышей с саркомой S37, когда опухоль достигала 150 ± 18 мм<sup>3</sup>. Фотосенсибилизаторы вводили однократно внутривенно в дозе 5,0 мг/кг, рассчитанной по активному веществу. Использовали однопозиционное облучение с полным захватом опухоли и окружающей ткани. Для поверхностного облучения использовали светодиодный источник с максимумом излучения 810 ± 21 нм. Размеры опухолей у животных фиксировали до лечения и в течение 20 суток после воздействия; наблюдение за выжившими животными проводили до 90-х суток после ФДТ. Анализ полученных результатов показал, что соединение 3 и эмульсия ДПБИ обладают выраженным противоопухолевым эффектом относительно саркомы мыши S37 при облучении светом с длиной волны 810 ± 21 нм. Эффективность обеих лекарственных форм была одинаковой: ТРО на все сроки наблюдения составило 100%, продолжительность жизни животных превышала 90 суток наблюдения, число полных ремиссий составило 100%.

Было проведено изучение острой токсичности соединения 3. Отмечено, что внутривенное введение соединения мышам в дозах, равных 10 – 50 мг/кг (соответствует 2 – 10 терапевтическим дозам для мышей, что превышает эквитерапевтическую дозу для



человека в 10 – 50 раз, соответственно), было удовлетворительно перенесено животными и их гибель не наблюдалась.

**Заключение.** В результате данной работы нами был получен конъюгат *O*-пропилоксим-*N*-пропоксибактериопуринимида с плуроником F-127. Конъюгирование с полоксамером не влияет на физико-химические и фотофизические свойства исходного ФС. В ходе биологических испытаний, проведенных *in vitro* и *in vivo*, показано, что полученный конъюгат обладает фотодинамическими и фармакокинетическими свойствами, аналогичными таковым у исходного пигмента. При изучении острой токсичности показаны преимущества полученного ФС, внутривенное введение которого 10 ТД (50 мг/кг) не вызывает гибель животных, в отличие от эмульсии ДПБИ (100% гибель животных).

Следует отметить, что соединение **3** представляет собой лиофилизат, из которого можно легко приготовить раствор для внутривенного введения в любом лечебном учреждении. Напротив, лекарственная форма ДПБИ на основе водной эмульсии сложна для получения.

Таким образом, предлагаемая лекарственная форма ФС на основе плуроника F-127 по фотофизическим и фармакокинетическим параметрам не уступает эмульсионной форме, а по ряду параметров превосходит ее.

*Работа была выполнена в рамках проекта «Радиофармпрепараты 2023» в ходе реализации программы развития РТУ МИРЭА стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».*

#### **Литература.**

1. Suvorov, N.V., Sapel'nikov, M.D., Plotnikova, E.A. *et al.* New Water-Soluble IR Photosensitizer in the Bacteriochlorophyll a Series. *Pharm. Chem. J.* 56, 736–741 (2022).

## ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ СОСТАВА СПРЕЯ С ЖИДКИМ ЭКСТРАКТОМ ПОЛЬНИ

О.А. Сушинская

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

e-mail: sushinskayaoa@gmail.com

**Ключевые слова:** полынь горькая; жидкий экстракт; высвобождение; флавоноиды; диффузия

**Введение.** Оценка высвобождения действующих веществ является важным этапом в фармацевтической разработке любых лекарственных форм, в том числе и наружных. На сегодняшний день стандартного метода оценки до сих пор не существует, и в разных случаях используются разные методы. Самым простым и удобным методом является метод *in vitro*, например, метод диффузии в гелевую среду, который позволяет спрогнозировать динамику высвобождения веществ в кожу и выбрать оптимальный состав наружной лекарственной формы.

**Цель.** Оценка высвобождения флавоноидов из состава комбинированного топического спрея с жидким экстрактом полыни горькой.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлся состав комбинированного спрея для наружного применения, содержащий 10% спиртового жидкого экстракта полыни горькой 1:1, полученного методом реперколяции. Для проведения анализа высвобождения флавоноидов из состава спрея были выбраны наиболее близкие к условиям *in vivo* методы - метод диффузии в 2% агаровый гель и 10% желатиновый гель.

Проводили по 2 параллельных испытания с разными средами и разными методами определения зоны диффузии. Для получения агарового геля агар заливали водой и оставляли для набухания на 30 минут, затем доводили до кипения до прозрачного раствора. В одну часть раствора добавляли 5% спиртовой раствор алюминия хлорида. В другую

часть 1% спиртовой раствор железа (III) хлорида. Разливали в чашки Петри следующим образом: сначала заливали 10,0 мл раствора, устанавливали стеклянные цилиндры диаметром 8,0 мм. Затем доливали еще 15,0 мл раствора. Оставляли в холодильнике до полного застывания. После застывания цилиндры вынимали и в образовавшиеся лунки помещали по 0,3 мл спрея. Затем чашки Петри помещали в термостат и наблюдали образование окрашенных зон через 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3 и 3,5 часа. Окончательное измерение зоны диффузии проводили через 24 часа. Для получения желатинового геля желатин заливали водой и оставляли для набухания на 30 минут, затем доводили до кипения до прозрачного раствора. Далее эксперимент вели аналогично предыдущему методу.

Путем измерения флуоресцирующих и окрашенных зон диффузии проводили сравнительную оценку динамики высвобождения флавоноидов из спрея. Появление флуоресцирующих зон происходит в результате взаимодействия флавоноидов, высвобождающихся из навески лекарственной формы, с алюминия хлоридом. Для облучения использовали облучатель хроматографический УФС<sub>254/365</sub>. Окрашенные зоны измеряли с помощью штангенциркуля. Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью пакета анализа данных Microsoft Excel.

**Результаты.** По результатам исследования в 2 экспериментах в гелях с железа хлоридом окраска была слабо выражена, четкий темно-зеленый контур был заметен только на краях лунок, что затрудняло оценку высвобождения и проведение измерений зоны диффузии.

В эксперименте с алюминия хлоридом наблюдалась выраженная видимая желтая окраска, флуоресцирующая при облучении УФ светом при длине волны 365 нм.

В таблице 1 представлены результаты исследования высвобождения флавоноидов из состава спрея с жидким экстрактом полыни горькой методом диффузии в агаровый гель.

Таблица 1. Размеры зон диффузии флавоноидов в агаровом геле

№	Время исследования, ч							
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	24
	Размер окрашенной зоны, мм							
	$(\bar{x} \pm SD, \bar{x}$ — среднее значение, SD — стандартное отклонение)							
1	3,9	4,6	4,9	5,2	5,4	5,9	6,1	6,2
2	3,6	4,5	4,8	4,9	5,3	5,8	6,0	6,0
3	3,9	4,5	4,8	5,1	5,3	5,9	6,1	6,2
4	4,0	4,5	4,9	5,1	5,3	5,9	6,1	6,1
5	4,0	4,5	5,0	5,1	5,2	5,7	5,9	6,0
6	4,2	4,5	5,0	5,1	5,4	5,9	6,0	6,1
	3,93±0,19	4,52±0,04	4,90±0,09	5,08±0,10	5,32±0,08	5,85±0,08	6,03±0,08	6,10±0,09

Из табличных значений видно, что среднее время высвобождения флавоноидов составило 3-3,5 часа и после 24 часов эксперимента значительного прироста окрашенной зоны не наблюдалось.

В таблице 2 представлены результаты исследования высвобождения флавоноидов методом диффузии в желатиновый гель.

Таблица 2. Размеры зон диффузии флавоноидов в желатиновом геле

№	Время исследования, ч							
	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	24
	Размер окрашенной зоны, мм							
	$(\bar{x} \pm SD, \bar{x}$ — среднее значение, SD — стандартное отклонение)							
1	3,8	4,3	4,8	5	5,2	5,6	5,8	5,8
2	3,9	5,0	5,3	5,5	5,6	5,7	5,8	5,8
3	3,6	4,5	5,1	5,3	5,6	5,7	5,7	5,9
4	4,2	5,0	5,3	5,5	5,6	5,8	5,8	5,8
5	3,9	4,9	5,2	5,4	5,6	5,8	6,0	6,0
6	3,8	4,5	4,8	5,0	5,3	5,7	5,8	5,9
	3,87±0,20	4,70±0,30	5,08±0,23	5,28±0,23	5,48±0,18	5,72±0,08	5,82±0,10	5,87±0,08

На рисунке 1 представлен сравнительный график оценки высвобождения флавоноидов в агаровом и желатиновом гелях.

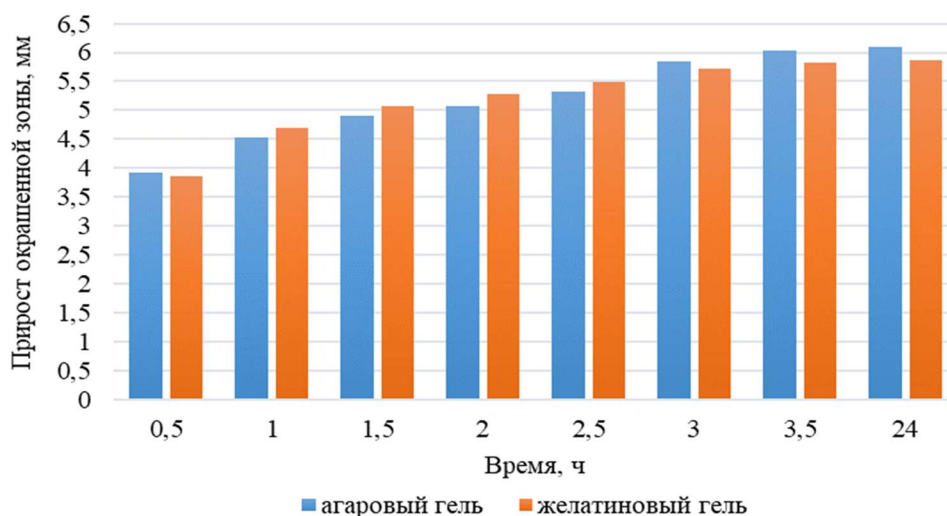


Рисунок 1. Динамика высвобождения флавоноидов из спрея в агаровый и желатиновый гели

При сравнении результатов можно сделать вывод, что средние значения окрашенных зон высвобождения флавоноидов в желатиновый гель через 24 часа наблюдения меньше по сравнению с результатами, полученными в эксперименте с агаровым гелем, различия в двух испытаниях статистически значимы при  $p \leq 0,05$  (критерий Стьюдента).

На рисунке 2 представлен характер окрашивания геля при образовании зон диффузии.

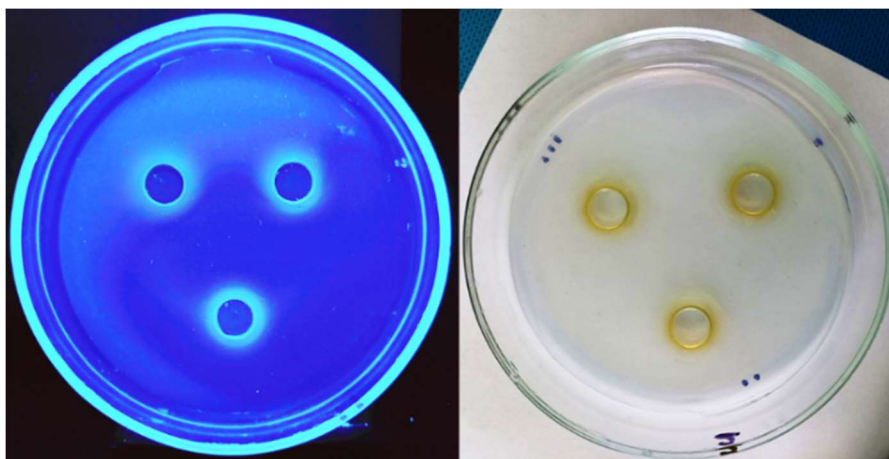


Рисунок 2. Образование флуоресцирующих и окрашенных зон диффузии

**Заключение.** Проведены исследования по оценке высвобождения флавоноидов из состава спрея, содержащего 10% жидкого экстракта полыни горькой 1:1, методом диффузии в 2% агаровый гель и 10% желатиновый гель с добавлением в состав геля индикаторов в виде железа хлорида и алюминия хлорида. Использование желатинового геля может быть предпочтительным для подбора более близких к коже условий. По результатам оценки высвобождения, диффузия флавоноидов из состава спрея, содержащего 10% жидкого экстракта полыни, достигает максимальных значений через 3,0-3,5 часа, через 24 часа исследования значительного прироста зон диффузии не наблюдается. Оптимальным индикатором является хлорид алюминия.

### **Литература.**

1. Теслев А. А., Загорулько Е. Ю. Подходы к изучению высвобождения действующих веществ из жидких лекарственных форм *in vitro*. В сб.: VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» 14–15 ноября 2018 г. Санкт-Петербург; 2018. С. 393-396.

2. Цибизова А. А., Пустохайлов И. В., Сальникова Д. А. Биофармацевтические аспекты выбора основы для геля с густым экстрактом *Robinia pseudoacacia*. *Тенденции развития науки и образования*. 2020;63(1):59-61. DOI: 10.18411/lj-07-2020-14.

## ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ЖИДКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ АЛБЕНДАЗОЛА

Ю.И. Тихомирова<sup>1\*</sup>, Н.О. Карабинцева<sup>1</sup>, А.В. Душкин<sup>2</sup>, В.И. Евсеенко<sup>2</sup>, Е.С. Метелева<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, г. Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия,  
*E-mail*: yulya.tikhomirova.93@bk.ru

**Ключевые слова:** албендазол, арабиногалактан, твердые дисперсии, механохимический метод, растворимость.

**Введение.** В структуре заболеваемости населения планеты паразитарные болезни занимают второе место в мире после гриппа и острых респираторных заболеваний (Кляритская и соавт., 2010). Одним из современных противопаразитарных средств широкого спектра действия является албендазол. Однако в настоящее время на фармацевтическом рынке представлен небольшой выбор жидких лекарственных форм албендазола, так как он практически нерастворим в воде, и плохо всасывается в желудочно-кишечном тракте. В НИИ химии твердого тела и механохимии СО РАН был предложен перспективный способ улучшения всасываемости албендазола за счет повышения его растворимости в воде посредством образования твердых дисперсий. Ранее было установлено, что твердые дисперсии албендазола с арабиногалактаном проявляют повышенную антигельминтную, а также противоописторхозную фармакологическую активность, не вызывая токсического действия на клетки печени (Душкин и соавт., 2019). Наиболее перспективной жидкой лекарственной формой для разработки препарата на основе твердой дисперсии албендазола с арабиногалактаном является суспензия, которая дает возможность вводить нерастворимые в дисперсионной среде вещества, увеличивая при этом суммарную поверхность лекарственного вещества и, следовательно, обеспечивая большую терапевтическую активность. Ввиду того, что суспензии обладают кинетической и агрегативной неустойчивостью, для повышения стабильности суспензий необходимо уменьшение размера частиц лекарственных веществ (Пантюхин и соавт., 2012), что в свою очередь достигается при получении твердых дисперсий механохимическим твердофазным синтезом с использованием шаровых мельниц. Следует отметить, что достаточно хорошие поверхностно-активные свойства арабиногалактана дают возможность использования данного полисахарида в качестве стабилизатора в составе суспензий (Медведева и соавт., 2003), а также в качестве загустителя в пищевой промышленности. Выбор оптимальной твердой дисперсии албендазола с арабиногалактаном в зависимости от времени механообработки, с точки зрения наибольшей растворимости албендазола в воде и подбор необходимых вспомогательных веществ позволит использовать полученные данные в разработке оригинального отечественного противопаразитарного препарата в форме суспензии.

**Цель.** Разработка состава суспензии на основе твердой дисперсии албендазола с арабиногалактаном, полученной механохимическим твердофазным синтезом.

### **Материалы и методы.**

**Материалы.** 1. Субстанция арабиногалактана (АГ) (с содержанием АГ 96,2%, производитель АО «Аметис» (ТУ 9325-008-70692 152-08))

2. Субстанция албендазола (АБЗ) (ООО «Агроветзащита» ТУ ВУ 100069735.018-2008)

3. Образцы твердых дисперсий (ТД) АБЗ и АГ, полученные механохимическим твердофазным синтезом в массовом соотношении 1:5 с продолжительностью механической обработки 2 часа, 8 часов и 24 часа.

4. Вспомогательные вещества: глицерин ФС.2.2.0006.15, метилцеллюлоза ГОСТ 33310-2015, карбоксиметилцеллюлоза ГОСТ 33310-2015, твин-80 ГОСТ 32770-2014, аэросил (кремния диоксид) ГОСТ 14922-77, поливиниловый спирт ГОСТ 10779-78, натрия бензоат ГОСТ 32777-2014, калия хлорид ФС.2.2.0009.15.

**Методы.** Твердые дисперсии АБЗ с АГ получали в пропорции 1:5. Механообработка смеси проводилась с применением ротационной (валковой) мельницы ВМ-1. В качестве мелющих тел использовались стальные шары диаметром 15 мм, загрузка шаров 675 г. Продолжительность механической обработки составляла 2 часа, 8 часов и 24 часа. Исследование растворимости албендазола из твердых дисперсий оценивали по содержанию АБЗ в водной среде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ацетонитрил/ацетатный буфер рН 3,4, 45/55, скорость потока 1 мл/мин., объем пробы 5 мкл) с помощью жидкостного хроматографа «Милихром А-02». Модельные составы суспензий получали дисперсионным методом из ТД АБЗ с добавлением вспомогательных веществ. Выбор оптимального состава осуществляли в соответствии с ОФС.1.4.1.0014.15 Суспензии РФ XIV издания по показателям: описание лекарственной формы, седиментационная устойчивость, размер частиц, значение рН. Размер частиц определяли визуально, анализируя цифровые микрофотографии образцов суспензий. Результаты исследования обработаны методами первичной и вторичной статистической обработки данных.

**Результаты.** Результаты исследования растворимости АБЗ из твердых дисперсий продемонстрировали значительное увеличение растворимости АБЗ в воде в составе ТД по сравнению с исходной субстанцией АБЗ (Рисунок 1). Максимальная концентрация высвободившегося АБЗ наблюдается при 8 часах механообработки.

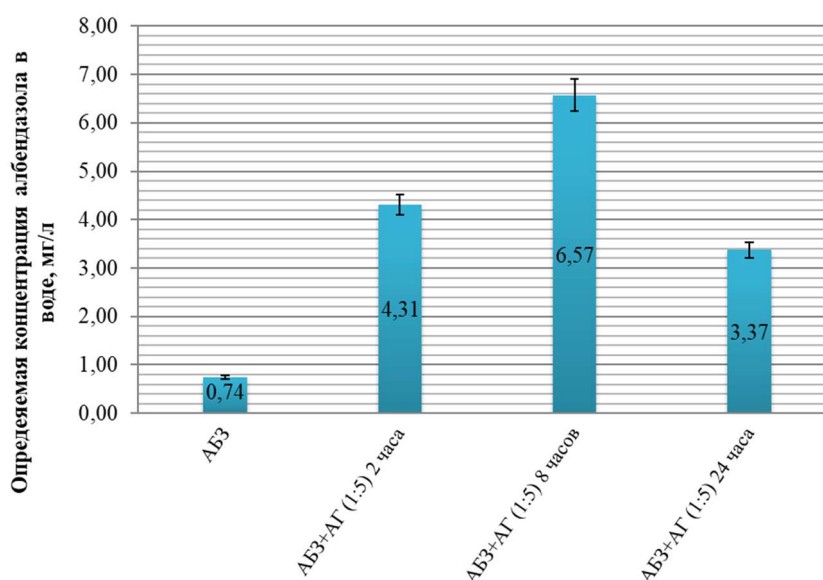


Рисунок 1. Сравнительные значения определяемой концентрации албендазола в воде в чистом виде и в составе твердых дисперсий

Далее было получено 6 модельных составов суспензий на основе выбранной ТД с различными комбинациями вспомогательных веществ. По результатам технологических

испытаний были исключены составы № 4, 5, 6, в которых присутствовали недопустимые частицы размером более 100 мкм, а также значение рН и времени выпадения осадков превышали нормируемый предел. При этом составы №2, 4, 5, 6 имели неудовлетворительные характеристики по показателю описание (Таблица 2).

Таблица 2. Результаты технологических испытаний модельных суспензий

Образец	Описание	Седиментационная устойчивость		рН
		Время ресуспендирования, сек	Время выпадения осадка	
Состав №1	+	3	>3 мин	5,1
Состав №2	-	4	>3 мин	5,0
Состав №3	+	4	>3 мин	4,8
Состав №4	-	53	2,9 сек	5,9
Состав №5	-	60	3 сек	5,8
Состав №6	-	47	1,2 сек	5,7

На основе проведенных технологических испытаний модельных суспензий было установлено, что оптимальными составами являются составы №1 и №3 (Таблица 3)

Таблица 3. Модельные составы пероральной суспензии твердой дисперсии албендазола

Составы	Состав №1	Состав №3
Группы веществ		
Действующее вещество	Твердая дисперсия АБЗ+АГ (1:5) 8ч	Твердая дисперсия АБЗ+АГ (1:5) 8ч
Растворитель	Вода очищенная	Вода очищенная
Стабилизатор (Загуститель)	Глицерин (соразтворитель)	Глицерин (соразтворитель)
Стабилизатор (ПАВ)	Метилцеллюлоза	
Консервант	Твин-80	Твин-80
Регулятор рН	Бензоат натрия	Бензоат натрия
	Калия хлорид	Калия хлорид

**Заключение.** На основании проведенных исследований разработан состав пероральной суспензии на основе твердой дисперсии албендазола с арабиногалактаном. Твердая дисперсия была получена механохимическим твердофазным синтезом в соотношении 1:5 со временем механообработки 8 часов. В качестве вспомогательных веществ в составе использовались: метилцеллюлоза, глицерин, твин-80, калия хлорид, натрия бензоат, вода очищенная.

#### **Литература.**

1. Государственная фармакопея РФ XIV изд. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>
2. Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Поляков Н.Е., Ляхов Н.З. Супрамолекулярные системы доставки молекул лекарственных веществ на основе водорастворимых растительных метаболитов. Физико-химические, фармакологические свойства и особенности механохимического получения *Химия в интересах устойчивого развития*. 2019;27(3233-244).
3. Медведева Е.Н. и др. Арабиногалактан лиственницы - свойства и перспективы использования (Обзор). *Химия растительного сырья*. 2003;1:27-37.
4. Кляритская И. Л., Вильцанюк И. А., Григоренко Е. И., Чернуха С. Н. Современные представления о лечении и диагностике гельминтозов *Крымский терапевтический журнал*. 2010; 2 (15).
5. Пантюхин, А. В. Методологические этапы разработки фармацевтических суспензий *Фундаментальные исследования*. 2012; 4-2: 415-419.

# РАЗДЕЛЕНИЕ МЕТОКСИПРОИЗВОДНЫХ ПСОРАЛЕНА МЕТОДОМ ПОЛУПРЕПАРАТИВНОЙ СВЕРХКРИТИЧЕСКОЙ ФЛЮИДНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

М.И. Чуркин\*, Н.Г. Базарнова, И.В. Микушина  
ФГБОУ ВО Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Росси  
e-mail: mad\_max99@icloud.com

**Ключевые слова:** сверхкритическая флюидная хроматография, фурукумарины, метоксипсоралены, полупрепаративное разделение соединений, скрининг сорбентов.

**Введение.** Фурукумарины представляют собой класс кислородсодержащих гетероциклических конденсированных соединений, замещенных фуранопроизводных бензопиранона. Они являются основными источниками препаратов, которые обладают фотосенсибилизирующим действием [1]. Наиболее востребованы: 5-метоксипсорален (5-МОП, бергаптен), 8-метоксипсорален (8-МОП, ксантотоксин) и 5,8-диметоксипсорален (5,8-диМОП, изопимпинеллин). Однако при приеме внутрь суммы фурукумаринов возникают не только побочные действия, но и существует риск невоспроизводимости состава препарата. Таким образом, лекарственные средства на основе фурукумаринов являются не самыми эффективными при лечении кожных заболеваний.

Согласно ГФ РФ [2], для определения фурукумаринов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения используют три метода: высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), спектрофотометрия в УФ-области, флуориметрия. В настоящее время в ГФ РФ [3] рекомендован для использования метод сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ), однако необходима разработка методик СФХ разделения и анализа. Сверхкритическая флюидная хроматография (СФХ) – вид элюентной хроматографии, где в качестве основного компонента подвижной фазы применяется вещество в сверх- или околокритическом состоянии.

Актуальность нашего исследования обусловлена необходимостью разработки качественного и количественного определения фурукумаринов методом СФХ. Кроме того, данный метод позволит эффективно проводить разделение суммы метоксипсораленов с целью получения индивидуальных соединений, на основе которых могут быть приготовлены лекарственные препараты без сопутствующих побочных действий.

**Целью** данной работы являлась разработка высокоэффективного полупрепаративного СФХ-метода разделения метоксипроизводных псоралена, который может быть использован для накопления индивидуальных фурукумаринов.

**Материалы и методы.** Из литературного обзора работ [4-5], направленных на оптимизацию СФХ-методик разделения фурукумаринов, нами выбрано для исследования три сорбента: немодифицированный силикагель, силикагель с привитыми октадецильными группами и гибридный органо-неорганический сорбент, модифицированный пентафторфенильными группами. В ходе исследования использовали следующие хроматографические колонки: Viridis Silica; XBridge C<sub>18</sub>; XSelect CSH Fluoro-Phenyl. Все колонки производства компании Waters. Колонки заполнены сорбентом, частицы которого имели диаметр 5 мкм. Геометрические размеры колонок составляли 150 мм по длине и 4.6 мм по внутреннему диаметру. Средний диаметр пор сорбентов составлял 100 Å.

Для исследования использовали сумму фурукумаринов, выделенных из препарата “Аммифурин” производства ЗАО «Вилар» в виде сухого вещества и идентифицированных методом УФ-спектроскопии. Исследование проводили на полупрепаративном сверхкритическом флюидном хроматографе Investigator (Thar, Waters Corp.). В исследовании применяли следующий состав подвижной фазы: углекислый газ, находящийся в сверхкритическом состоянии, и изопропанол, используемый в качестве модификатора.

**Результаты.** СФХ разделение на гибридном органо-неорганическом сорбенте, модифицированном пентафторфенильными группами, происходит в следующих условиях:

давление – 120 бар, температура – 30°C, скорость потока – 3 мл/мин, содержание соразтворителя изопропанола – 8%. Детектирование сигналов проводили при длинах волн от 190 до 400 нм, выбрав в качестве основной длины волны  $\lambda = 250$  нм.

Идентификацию пиков на хроматограмме проводили с использованием внешнего стандарта 8-метоксисорален. Определили по времени удерживания ( $t_r$  (8-МОП) = 2,98 мин), что первый пик соответствует 8-метоксисоралену. Идентификацию двух других пиков проводили на хроматограммах, полученных при других длинах волн (рисунок 1).

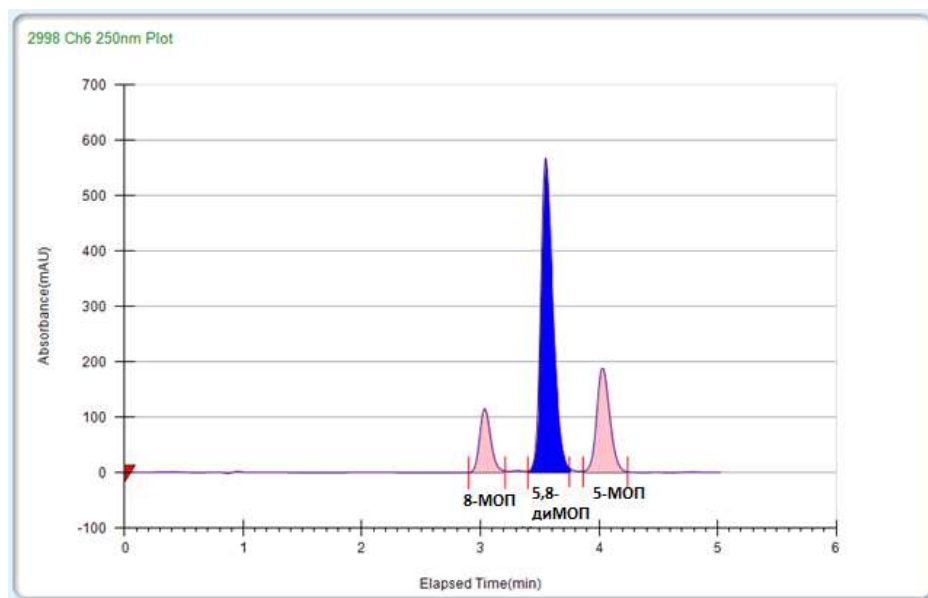


Рисунок 1. Хроматограмма разделения метоксисораленов на гибридном органо-неорганическом сорбенте, модифицированном пентафторфенильными группами

В результате было выявлено, что порядок элюирования метоксисораленов на гибридном органо-неорганическом сорбенте, модифицированном пентафторфенильными группами:  $t_r$  (8-МОП) = 3,01 мин <  $t_r$  (5,8-диМОП) = 3,51 мин <  $t_r$  (5-МОП) = 4,03 мин. Коэффициенты удерживания:  $k_{8-МОП} = 2,54$ ;  $k_{5,8-диМОП} = 3,13$ ;  $k_{5-МОП} = 3,74$ .

Построенный калибровочный график зависимости площади пика от концентрации 8-метоксисоралена (СО), полученный на данном сорбенте, позволит определять содержание исследуемого вещества в смеси. В растворе смеси метоксисораленов, выделенных из препарата “Аммифурин” с концентрацией 0,5 мг/мл содержится 0,027 мг/мл 8-метоксисоралена.

При использовании в качестве сорбента немодифицированного силикагеля, были подобраны условия: давление – 150 бар, температура – 30°C, скорость потока – 4 мл/мин, содержание соразтворителя – 2%. Исследование проводили при различных длинах волн в диапазоне от 190 до 400 нм, выбрав в качестве основной длины волны  $\lambda = 250$  нм.

Идентификацию пиков на хроматограмме проводили аналогично с использованием внешнего стандарта 8-метоксисоралена (Sigma Aldrich). Удалось определить по времени удерживания ( $t_r$  (8-МОП) = 4,68 мин), что средний пик соответствует 8-метоксисоралену. Идентификацию двух других пиков проводили на хроматограммах, полученных при других длинах волн.

На немодифицированном силикагеле порядок элюирования метоксисораленов:  $t_r$  (5-МОП) = 4,05 мин <  $t_r$  (8-МОП) = 4,68 мин <  $t_r$  (5,8-диМОП) = 5,22 мин. Коэффициенты удерживания:  $k_{5-МОП} = 4,06$ ;  $k_{8-МОП} = 4,85$ ;  $k_{5,8-диМОП} = 5,56$ .

Селективность разделения смеси метоксисораленов на силикагеле с привитыми октадецильными группами очень мала. Поскольку при использовании данного сорбента не удалось добиться разделения всех трех компонентов, качественное и количественное определение не проводили.



**Заключение.** В результате проведенной работы был разработан полупрепаративный способ разделения трех метоксипроизводных псоралена методом сверхкритической флюидной хроматографии. Для накопления индивидуальных метоксипсораленов рекомендуется использовать как гибридный органо-неорганический сорбент, модифицированный пентафторфенильными группами, так и немодифицированный силикагель с подобранными нами условиями. Однако предпочтительней проводить накопление на гибридном органо-неорганическом сорбенте, модифицированном пентафторфенильными группами, поскольку достигаются меньшие времена удерживания и большие интенсивности пиков при исследовании идентичных растворов смеси фурукумаринов.

**Литература.**

1. Георгиевский В.П., Комисаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, 1990. с. 101–103.
2. Государственная фармакопея РФ XIV изд. Том III. ОФС. «Количественное определение кумаринов в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения». [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.
3. Государственная фармакопея РФ XIV изд. Том I. ОФС. 1.2.1.2.0006.15 «Сверхкритическая флюидная хроматография». [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.
4. Desmorteux C., Rothaupt M., West C., Lesellier E. Improved separation of furocoumarins of essential oils by supercritical fluid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2009; 1216: 7088–7095.
5. Pokrovskii O.I., Krutikova A.A., Ustinovich K.B. et al. Preparative separation of methoxy derivatives of psoralen using supercritical-fluid chromatography. *Russian Journal of Physical Chemistry*. 2013;7: 901–915.

# Организационные и регуляторные вопросы фармацевтической разработки и фармацевтической деятельности

## ОБЗОР КЛИНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ИНСУЛИНОТЕРАПИИ

А.А. Гражданкина\*, Е.В. Каракулова  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
г. Томск, Россия  
e-mail: 7918735927@yandex.ru

**Ключевые слова:** фармакоэкономический анализ, инсулиноterapia, многократные инъекции инсулина, инсулиновая помпа, обзор литературы

**Введение.** На сегодняшний день единственным методом лечения сахарного диабета 1 типа (СД1) является интенсифицированная инсулиноterapia в режиме многократных инъекций (МИИ) с использованием шприц-ручек или постоянной подкожной инфузии (ППИИ). Преимущества ППИИ по сравнению с МИИ у пациентов с СД1 включают улучшенный гликемический контроль, более низкие потребности в инсулине и лучшее качество жизни, связанное со здоровьем [1].

В условиях ограниченности ресурсного обеспечения системы здравоохранения оценка экономической эффективности инсулиноterapia позволяет определить пути рационального распределения средств.

**Целью** данного исследования является изучение данных отечественных и зарубежных исследований, посвященных оценке экономической эффективности инсулиноterapia при сахарном диабете 1 типа.

**Материалы и методы.** Поиск зарубежных исследований был проведен по базе данных PubMed, базе данных медицинских и биологических публикаций Национальной библиотеки медицины США с использованием ключевых слов: «continuous subcutaneous insulin infusion», «multiple daily injection», «type 1 diabetes», «pharmacoeconomic», «cost-effectiveness», «cost-utility». Для обзора русскоязычных публикаций был проведен информационный поиск по базам данных «eLIBRARY» и «CYBERLITNICA». Поисковым запросом включал следующие ключевые слова: «сахарный диабет 1 типа», «инсулиноterapia», «инсулиновая помпа», «фармакоэкон\*», «клинико-экон\*», «затраты-эффективность», «затраты-полезность».

**Результаты.** В связи с хроническим характером течения диабета и быстрой эволюцией устройств введения инсулина, оценка экономической эффективности инсулиноterapia базируется на статистическом моделировании. Для оценки долгосрочной эффективности данные, полученные в клинических исследованиях, включаются в модели диабета (Шеффилдская модель диабета, IQVIA CORE (CDM)), где экономическая эффективность оценивается временным горизонтом в человеческую жизнь.

В зарубежных исследованиях встречаются противоречивые данные об экономической эффективности ППИИ в сравнении с МИИ. По результатам клинико-экономического анализа в исследовании REPOSE было выявлено, что рутинное использование инсулиновых помп у взрослых без непосредственной клинической необходимости, определенной в соответствии с национальными стандартами здравоохранения, не будет оправдано экономически [2]. В исследовании взрослых пациентов в Мексике напротив получение инсулиноterapia в помповом режиме признано доминирующей стратегией за счет более позднего развития осложнений и увеличения продолжительности жизни, несмотря на более высокие затраты [3]. Отечественные клинико-экономические исследования также являются фармакоэкономическим моделированием и базируются на данных об эффективности проводимой терапии и частоте развития осложнений, заимствованных из зарубежных рандомизированных клинических исследований. В фармакоэкономическом исследовании Ягудиной Р.И., Костиной Е.О

установлено, что режим инсулинотерапии путем ППВИ является затратно-эффективной стратегией в сравнении с МИИ [4].

Исследований педиатрической практики немного. В течение первого года после постановки диагноза СД1 у детей ППВИ не показала преимуществ как в клинической, так и экономической эффективности [5]. Однако, в исследовании, проведенном в Китае, с имитацией прогрессирования диабета в модели, рентабельность ППВИ достигается за счет снижения затрат на лечение долгосрочных осложнений [6]. При этом установлено, суточные дозы инсулина были ниже у пациентов на помповой инсулинотерапии, что согласуется с результатами отечественных исследований [7].

В исследовании Pozzilli P et al. обсуждаются проблемы оценки экономической эффективности ППВИ у пациентов с диабетом. Авторы указали на различия в системах здравоохранения и стоимости лечения между различными странами, которые приводят к различным результатам. Важным аспектом оценки экономической эффективности инсулиновой помпы признан учет долгосрочных последствий лечения на здоровье пациентов и их качество жизни [1].

**Заключение.** Сложности, связанные с построением моделей, подчеркивают необходимость проведения крупных обсервационных исследований реальной клинической практики, где эффективность режимов инсулинотерапии можно более качественно оценить. При проведении фармакоэкономической оценки необходимо учитывать, что прямой перенос параметров затрат из зарубежных исследований невозможен ввиду различий в доступности фармакотерапии и медицинских услуг, популяции пациентов, что актуализирует необходимость оценки структуры и величины затрат в практике российского здравоохранения.

#### **Литература.**

1. Pozzilli P, Battelino T, Danne T, Hovorka R, Jarosz-Chobot P, Renard E. Continuous subcutaneous insulin infusion in diabetes: patient populations, safety, efficacy, and pharmacoeconomics. *Diabetes Metab Res Rev.* 2016;32(1):21-39. doi: 10.1002/dmrr.2653.

2. Heller S., White D., Lee E., Lawton J., Pollard D., Waugh N., Amiel S., Barnard K., Beckwith A., Brennan A., Campbell M., Cooper C., Dimairo M., Dixon S., Elliott J., Evans M., Green F., Hackney G., Hammond P., Hallowell N., Jaap A., Kennon B., Kirkham J., Lindsay R., Mansell P., Papaioannou D., Rankin D., Royle P., Smithson W. H., Taylor C. A cluster randomised trial, cost-effectiveness analysis and psychosocial evaluation of insulin pump therapy compared with multiple injections during flexible intensive insulin therapy for type 1 diabetes: the REPOSE Trial. *Health Technol Assess.* 2017;21(20):1-278. doi: 10.3310/hta21200.

3. Doubova S. V., Roze S., Ferreira-Hermosillo A., Pérez-Cuevas R., Gasca-Pineda R., Barsoe C., Baran J., Ichihara B., Gryzbowski E., Jones K., Valencia J.E. Cost-effectiveness of the use of the continuous subcutaneous insulin infusion pump versus daily multiple injections in type 1 diabetes adult patients at the Mexican Institute of Social Security. *Cost Eff Resour Alloc.* 2019;3:17:19. doi: 10.1186/s12962-019-0187-2.

4. Ягудина Р. И., Костина Е. О. Фармакоэкономический анализ непрерывной подкожной инфузии инсулина в сравнении с многократными инъекциями инсулина в лечении пациентов с сахарным диабетом 1 типа в условиях здравоохранения Российской Федерации. *Фармакоэкономика: теория и практика.* 2019;7(2):16-21.

5. Blair J. C., McKay A., Ridyard C., Thornborough K., Bedson E., Peak M., Didi M., Annan F., Gregory J. W., Hughes D. A., Gamble C; SCIP investigators. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injection regimens in children and young people at diagnosis of type 1 diabetes: pragmatic randomised controlled trial and economic evaluation. *BMJ.* 2019; 3;365:11226. doi: 10.1136/bmj.11226.

6. Hu S., Yang H., Chen Z., Leng X., Li C., Qiao L., Lv W., Li T. Clinical Outcome and Cost-Effectiveness Analysis of CSII Versus MDI in Children and Adolescent With Type 1 Diabetes Mellitus in a Public Health Care System of China. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;30:12:604028. doi: 10.3389/fendo.2021.604028.

7. Толкушин, А. Г. Обзор фармакоэкономических исследований помповой инсулинотерапии сахарного диабета. *Фарматека*. 2016; 5(318):89-95.

## МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ИНФОРМАЦИОННОЙ АСИММЕТРИИ ПРИ МЕЖПРОФЕССИОНАЛЬНОМ СОТРУДНИЧЕСТВЕ УЧАСТНИКОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА

Е.И. Грибкова<sup>1\*</sup>, Е.О. Лефанд<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский университет дружбы народов, Москва, РФ

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, РФ

e-mail: gribkova\_ei@pfur.ru

**Ключевые слова:** Информационная асимметрия, перечень взаимозаменяемых, нормативные документы

**Введение.** в современном мире рациональное использование лекарственных средств (ЛС) является одним из ключевых аспектов в обеспечении качественного медицинского обслуживания. Рациональная фармакотерапия позволяет снизить заболеваемость, смертность и оптимизировать затраты на здравоохранение. Однако эффективность рационального использования лекарств во многом зависит от достоверной информации, которой должен быть обеспечен любой участник фармацевтического рынка. Но, к сожалению, во время профессиональной деятельности встречается несоответствие предоставляемой информации и ее достоверности, тем самым провоцируется появление информационной асимметрии, устранение которой позволит повысить качество оказания фармацевтической помощи.

В качестве изучения информационной асимметрии нами выбран анализ перечня взаимозаменяемых лекарственных препаратов (ЛП). Взаимозаменяемость лекарственных средств становится все более актуальной проблемой в современном мире, поскольку неграмотная замена одного препарата на другой может привести к снижению эффективности и безопасности лечения. Врачам и провизорам необходимо иметь доступ к точной и полной информации о взаимозаменяемых препаратах для обеспечения качественного лечения пациентов.

Перечень взаимозаменяемых лекарственных препаратов является одним из информационных источников. Анализ этого перечня с точки зрения удобства его использования, актуальности, достоверности и полноты информации представляется актуальным и важным направлением исследования. В рамках этой работы проводился опрос врачей, провизоров и фармацевтов для определения их осведомленности о перечне, его использовании в работе, удобстве, отдельно нами был проведён анализ достоверности и полноты информации, содержащейся в перечне.

**Цель:** Разработать методический подход, определяющий информационную асимметрию при взаимодействии участников фармацевтического рынка

**Материалы и методы.** в качестве основных методов исследования были использованы: сравнительный анализ, контент-анализ, графический, социологический, статистический. Работа проводилась над следующими материалами: перечень взаимозаменяемых лекарственных препаратов для медицинского применения в отношении референтных лекарственных препаратов для медицинского применения и воспроизведенных лекарственных препаратов для медицинского применения, в регистрационных досье на которые имеются результаты исследований биоэквивалентности или исследований терапевтической эквивалентности по отношению к референтному лекарственному препарату, а также анкетами сотрудников аптечных организаций и медицинских работников.

**Результаты.** Перечень взаимозаменяемых лекарственных препаратов является важным информационным источником для медицинских специалистов, позволяющим определить возможные альтернативы для назначения определенного лекарственного

средства. Именно качественная информация о взаимозаменяемости ЛП помогает облегчить процесс госзакупок, регулировать цены на лекарственные средства и позволяет произвести замену ЛП без потери эффективности и безопасности. Появление воспроизведённых ЛП также помогает увеличить доступность медикаментов для всех слоёв населения.

Согласно Федеральному закону Российской Федерации от 22.12.2014 № 429-ФЗ взаимозаменяемый ЛП определяется как «лекарственный препарат с доказанной терапевтической эквивалентностью или биоэквивалентностью в отношении референтного лекарственного препарата, имеющего эквивалентные ему качественный состав и количественный состав действующих веществ, состав вспомогательных веществ, лекарственную форму и способ введения». Перечень взаимозаменяемых лекарственных препаратов был впервые опубликован на сайте Минздрава 29 июня 2020 года, для анализа мы использовали последнюю его версию, выпущенную 7 ноября 2022. На данный момент из перечня взаимозаменяемых ЛП можно узнать следующую информацию: номер регистрационного удостоверения, дату регистрации, страну, торговое наименование, лекарственную форму, дозировку, является ли препарат взаимозаменяемым, является ли препарат референтным, исключение для отдельных групп пациентов.

В результате анализа перечня взаимозаменяемых ЛП нами были выявлены следующие неточности: это, в основном, касается словосочетаний, используемых в качестве международного непатентованного наименования (МНН) для лекарственных препаратов растительного происхождения. Например, для корневищ с корнями Валерианы лекарственной в перечне присутствуют два МНН: "Валерианы лекарственной корневища с корнями" (под которым указаны как настойка, так и экстракт) и "Валерианы лекарственной корневищ с корнями настойка" (под которым указаны только настойки валерианы). Аналогичная ситуация обнаружена с препаратами на основе плодов боярышника: в перечне присутствуют два МНН - "Боярышника плодов настойка" и "Боярышника плоды". Под обоими наименованиями указаны настойки плодов боярышника.

Также в перечне в качестве взаимозаменяемых лекарственных препаратов указаны ЛС с различными дозировками, хотя в Ф3-61 «Об обращении лекарственных средств» одним из критериев взаимозаменяемости указана «эквивалентность качественных и количественных характеристик».

Также нами было изучено насколько специалистам необходим в работе данный перечень и степень их доверия к данному источнику. Большая часть врачей и фармацевтов/провизоров считают, что перечень взаимозаменяемых ЛП необходим в их профессиональной деятельности. Оценка этого критерия среди врачей и фармацевтов оказались схожими:

- Средняя оценка необходимости перечня в работе у врачей составила 4,12
- Средняя оценка необходимости перечня в работе у фармацевтических специалистов достигла 4,2

Следующим критерием, предложенным для оценки, стал уровень доверия специалистов к перечню взаимозаменяемых ЛП. В данном случае, оценка «5» означала, что специалист полностью уверен и не будет искать дополнительную информацию. Врачи чаще доверяют перечню взаимозаменяемых ЛП, выставляя оценки «4» и «5». В то же время, фармацевтические специалисты показывают меньшее доверие к перечню. У них преобладала средняя оценка «3» балла.

Также специалисты утверждают, что предпочли бы другой формат использования перечня. В настоящий момент, он представлен в виде таблицы Excel и является неудобным. Вторая по распространенности причина связана с тем, что специалисты считают проще искать препараты по МНН, не проверяя их взаимозаменяемость. Этот вариант ответа указывает, что проведение образовательной работы среди специалистов по вопросам взаимозаменяемости может увеличить процент специалистов, пользующихся перечнем. Другой распространенной причиной отказа является отсутствие в перечне некоторых препаратов с определенным МНН. Последние две причины ("искать информацию в перечне неудобно" и "проверка занимает много времени") были указаны с одинаковой частотой. Мы

предполагаем, что изменение структуры или формата перечня (или оба этих элемента) может улучшить удобство использования перечня и, следовательно, сократить время, необходимое для поиска информации в нем.

**Заключение.** Проведенный анализ перечня взаимозаменяемых лекарственных препаратов позволил выявить некоторые недочёты в его содержании, которые приводят к информационной асимметрии данного ресурса. Опрос медицинских и фармацевтических специалистов показал, что степень осведомленности и использования перечня взаимозаменяемых ЛП в работе варьируется. Это подчеркивает необходимость освещения темы взаимозаменяемости у специалистов и улучшения качества информации в перечне. На основе проведенного исследования были сформулированы рекомендации по снижению уровня информационной асимметрии. Их реализация позволит повысить качество оказания фармацевтической помощи.

#### **Литература.**

1. Ковальская Г. Н., Михалевич Е. Н. Государственный реестр лекарственных средств: референтные и взаимозаменяемые лекарственные препараты. *Инновационные технологии в фармации*. 2019; 375-379.

2. Перечень взаимозаменяемых лекарственных препаратов для медицинского применения в отношении референтных лекарственных препаратов для медицинского применения и воспроизведенных лекарственных препаратов для медицинского применения, в регистрационных досье на которые имеются результаты исследований биоэквивалентности или исследований терапевтической эквивалентности по отношению к референтному лекарственному препарату. [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения РФ. – 2022. – URL: <https://base.garant.ru/405677475/>

3. Российская федерация. Законы. Федеральный закон № 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» (принят Гос. Думой 18 ноября 2020 года) [Электронный ресурс]. URL: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_370097/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_370097/)

4. Российская федерация. Законы. Федеральный закон № 475-ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» (принят Гос. Думой 22 декабря 2021 года) [Электронный ресурс]. URL: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_405484/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_405484/)

5. Российская федерация. Законы. Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (принят Гос. Думой 24 марта 2010 года) [Электронный ресурс]. URL: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_99350/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/)

## ОБЗОР НОРМАТИВНОГО ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВА, РЕГЛАМЕНТИРУЮЩЕГО КОНКУРЕНТНЫЕ ЗАКУПКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГОСУДАРСТВЕННЫХ И МУНИЦИПАЛЬНЫХ НУЖД

И.В. Девальд<sup>1,2\*</sup>, Е.В. Каракулова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской  
академии наук», г. Томск, Россия  
e-mail: [inna.devald@gmail.com](mailto:inna.devald@gmail.com)

**Ключевые слова:** закупки, лекарственные препараты, нормативные документы, государственные и муниципальные нужды.

**Введение.** Закупка лекарственных препаратов для обеспечения государственных и муниципальных нужд регламентируется значительным количеством федеральных законов, постановлений правительства, ведомственных приказов и разъяснительных писем. Обилие нормативных актов становится серьезной проблемой при закупках медикаментов в связи с тем, что отсутствие навигации в правом русле и четких алгоритмов действий при закупках

медикаментов для государственных и муниципальных нужд ставят под угрозу качество и своевременность оказания медицинской помощи.

Многочисленные статьи по данной теме не отображают целостную картину взаимодействия и взаимопроникновения законодательства различных сфер деятельности при закупках медикаментов: медицины, фармации и контрактной системы.

**Цель.** Целью данного исследования является определение последовательного алгоритма применения нормативных документов при закупках лекарственных препаратов для государственных и муниципальных нужд.

**Материалы и методы.** Поиск нормативных документов проведен по базам данных Государственной системы правовой информации (pravo.gov.ru) и справочно-правовой системы «КонсультантПлюс». Для обзора публикаций выполнен информационный поиск в базах данных «eLIBRARY» и «CYBERLENINKA» по ключевым словам: «закупки лекарственных препаратов», «государственные и муниципальные закупки».

**Результаты.** основополагающим документом, регламентирующим принцип проведения закупок для государственных и муниципальных нужд является Федеральный закон от 05.04.2013 г. №44-ФЗ «О контрактной системе в сфере закупок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд». Обращаться к положениям Федерального закона №44-ФЗ следует на всех этапах закупочной процедуры от формирования лота до заключения контракта.

Блок А (формирование лота). На начальном этапе закупочной процедуры при формировании лота в первую очередь следует руководствоваться Постановлением Правительства РФ от 17.10.2013 г. №929 «Об установлении предельного значения НМЦК, при превышении которого не могут быть предметом одного контракта (одного лота) лекарственные средства с различными МНН или при отсутствии таких наименований с химическими, группировочными наименованиями». В ПП РФ №929 установлено предельное значение НМЦК (цены лота) в зависимости от годового объема денежных средств, потраченных заказчиком на приобретение медикаментов в предыдущем году, при превышении которого не могут быть предметом одного контракта (одного лота) ЛП с различными МНН. При этом сумма лота при закупке ЛП с одним МНН не ограничивается.

Блок Б (подготовка технического задания). Наибольшая сложность при закупках медикаментов заключается в составлении технического задания. В соответствии с Постановлением Правительства РФ от 15.11.2017 г. №1380 «Об особенностях описания лекарственных препаратов для медицинского применения, являющихся объектом закупки для обеспечения государственных и муниципальных нужд» заказчик обязан указывать наименование, лекарственную форму, дозировку и остаточный срок годности требуемого к закупке ЛП. Этот документ является основным нормативным актом в описании объекта закупки и налагает на заказчика значительное количество ограничений при составлении технического задания. Вместе с тем при составлении технического задания важно учитывать положения статьи 27.1 Федерального закона от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», Постановления Правительства РФ от 04.09.2020 г. №1357 «Об утверждении Правил использования информации о взаимозаменяемых лекарственных препаратах для медицинского применения и дачи разъяснений по вопросам взаимозаменяемости лекарственных препаратов для медицинского применения, а также о внесении изменения в особенности описания лекарственных препаратов для медицинского применения, являющихся объектом закупки для обеспечения государственных и муниципальных нужд» и Постановления Правительства РФ от 05.09.2020 г. №1360 «О порядке определения взаимозаменяемости лекарственных препаратов для медицинского применения», в которых указаны критерии и порядок определения взаимозаменяемости лекарственных препаратов.

При подготовке описания объекта закупки заказчики обязаны использовать информацию из каталога товаров, работ, услуг в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 08.02.2017 г. №145 «Об утверждении Правил формирования и ведения в единой информационной системе в сфере закупок каталога товаров, работ, услуг

для обеспечения государственных и муниципальных нужд и Правил использования указанного каталога».

Блок В (обоснование НМЦК). В соответствии со статьей 22 №44-ФЗ заказчик обосновывает начальную (максимальную) цену контракта, цену контракта, заключаемого с единственным поставщиком (НМЦК). Порядок определения и обоснования НМЦК при закупках лекарственных препаратов регламентирует приказ МЗ РФ от 19.12.2019 г. №1064н «Об утверждении порядка определения начальной (максимальной) цены контракта, цены контракта, заключаемого с единственным поставщиком (подрядчиком, исполнителем), начальной цены единицы товара, работы, услуги при осуществлении закупок лекарственных препаратов для медицинского применения». Далее определяем относится ЛП к списку ЖНВЛ или нет. С этой целью необходимо обратиться к актуальной версии Распоряжения Правительства РФ от 12.10.2019 г. №2406-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2020 год, перечня лекарственных препаратов для обеспечения отдельных категорий граждан, перечня дорогостоящих лекарственных препаратов и минимального ассортимента лекарственных препаратов для медицинского применения, необходимых для оказания медицинской помощи». Следует учитывать, что ЛП, включенные в Перечень ЖНВЛП подлежат государственному регулированию цен в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 29.10.2010 г. №865 «О государственном регулировании цен на лекарственные препараты, включенные в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов». Таким образом, при расчете НМЦК препаратов списка ЖНВЛП цена дополнительно обосновывается тарифным методом с использованием информации Государственного реестра предельных отпускных цен производителей на лекарственные препараты, включенные в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, размещенной на официальном сайте <https://grls.rosminzdrav.ru>. Для иных лекарственных препаратов (не-ЖНВЛП) тарифный метод не применяется.

Блок Г (ограничения допуска). В случае, если ЛП входит в Перечень ЖНВЛП и закупка проводится в формате открытого аукциона в электронной форме (монолог), то в порядке действия ограничительных мер следует указать Постановления Правительства РФ от 30.11.2015 г. №1289 «Об ограничениях и условиях допуска происходящих из иностранных государств лекарственных препаратов, включенных в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, для целей осуществления закупок для обеспечения государственных и муниципальных нужд».

**Заключение.** Антимонопольные органы ежегодно указывают на многочисленные ошибки при закупках ЛП, которые допускают заказчики на различных этапах закупочных процедур. Значительное количество нарушений наблюдается при подготовке технического задания, обусловленное необходимостью соблюдения требования контрактной системы без потери качества ЛП и четкого соответствия приобретаемых медикаментов потребностям заказчика. В свою очередь, ошибки при проведении закупки приводят к пролонгации сроков закупочной процедуры за счет внесения изменений в документы о закупке или к отмене закупки. Вышеперечисленное подтверждает необходимость разработки и внедрения простого и понятного алгоритма использования нормативных актов при проведении закупки лекарственных препаратов для государственных и муниципальных нужд с целью обеспечить население страны своевременной медицинской и фармацевтической помощью.

#### **Литература.**

1. Федеральный закон от 05.04.2013 г. № 44-ФЗ «О контрактной системе в сфере закупок товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд» (в ред. от 04.08.2023 г.) // Собрание законодательства РФ. — 2013. — № 14. — Ст. 1652.
2. Постановление Правительства РФ от 17.10.2013 г. №929 «Об установлении предельного значения НМЦК, при превышении которого не могут быть предметом одного контракта (одного лота) лекарственные средства с различными МНН или при отсутствии



- таких наименований с химическими, группировочными наименованиями» // Собрание законодательства РФ. — 2013. — № 43. — Ст. 5555.
3. Постановление Правительства РФ от 15.11.2017 г. №1380 «Об особенностях описания лекарственных препаратов для медицинского применения, являющихся объектом закупки для обеспечения государственных и муниципальных нужд» (в ред. от 01.12.2021 г.) // Собрание законодательства РФ. — 2017. — № 47. — Ст. 7006.
4. Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (в ред. от 04.08.2023 г.) // Собрание законодательства РФ. — 2010. — № 16. — Ст. 1815.
5. Постановление Правительства РФ от 04.09.2020 г. №1357 «Об утверждении Правил использования информации о взаимозаменяемых лекарственных препаратах для медицинского применения и дачи разъяснений по вопросам взаимозаменяемости лекарственных препаратов для медицинского применения, а также о внесении изменения в особенности описания лекарственных препаратов для медицинского применения, являющихся объектом закупки для обеспечения государственных и муниципальных нужд» // Собрание законодательства РФ. — 2020. — № 37. — Ст. 5731.
6. Постановление Правительства РФ от 05.09.2020 г. №1360 «О порядке определения взаимозаменяемости лекарственных препаратов для медицинского применения» // Собрание законодательства РФ. — 2020. — № 37. — Ст. 5733.
7. Постановление Правительства РФ от 08.02.2017 г. №145 «Об утверждении Правил формирования и ведения в единой информационной системе в сфере закупок каталога товаров, работ, услуг для обеспечения государственных и муниципальных нужд и Правил использования указанного каталога» // Собрание законодательства РФ. — 2017. — № 7. — Ст. 1084.
8. Об утверждении порядка определения начальной (максимальной) цены контракта, цены контракта, заключаемого с единственным поставщиком (подрядчиком, исполнителем), начальной цены единицы товара, работы, услуги при осуществлении закупок лекарственных препаратов для медицинского применения: [приказ Министерства здравоохранения РФ №1064н от 19.12.2019 г.: зарег. в Минюсте России 20.12.2019 N 56926] // Справочно-правовая система «КонсультантПлюс». – URL: <http://www.consultant.ru/> (дата обращения 17.08.2023 г.).
9. Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения на 2020 год, перечня лекарственных препаратов для обеспечения отдельных категорий граждан, перечня дорогостоящих лекарственных препаратов и минимального ассортимента лекарственных препаратов для медицинского применения, необходимых для оказания медицинской помощи: [Распоряжение Правительства РФ от 12.10.2019 № 2406-р] // Справочно-правовая система «КонсультантПлюс». – URL: <http://www.consultant.ru/> (дата обращения 17.08.2023 г.).
10. Постановление Правительства РФ от 29.10.2010 г. №865 «О государственном регулировании цен на лекарственные препараты, включенные в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов» // Собрание законодательства РФ. — 2010. — № 45. — Ст. 5851.
11. Постановление Правительства РФ от 30.11.2015 г. №1289 «Об ограничениях и условиях допуска происходящих из иностранных государств лекарственных препаратов, включенных в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, для целей осуществления закупок для обеспечения государственных и муниципальных нужд» (в ред. от 16.05.2022 г.) // Собрание законодательства РФ. — 2015. — № 49. — Ст. 6981.

# ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ ОСНОВЫ НОРМИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ (НА ПРИМЕРЕ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ ИМЕНИ С.М. КИРОВА)

И.А. Лихогра\*, А.В. Добровольский  
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова», г. Санкт-Петербург,  
Россия  
e-mail: lihilya1@yandex.ru

**Ключевые слова:** нормы снабжения, лекарственные препараты, медицинские изделия.

**Введение.** Президентом России утверждена Стратегия развития системы здравоохранения России до 2025 года (Указ от 6 июня 2019 г. № 254), которая определила цели, задачи, перечень приоритетных направлений развития медицины, определены этапы и механизмы реализации. Данный документ формирует скоординированную политику в сфере охраны здоровья граждан, в том числе в военном здравоохранении. Одной из основных задач развития здравоохранения является разработка, внедрение и применение новых медицинских технологий и лекарственных препаратов. Реализация указанных задач в Военно-медицинской академии будет осуществляться посредством нормирования лекарственных средств и медицинских изделий.

**Цель.** Целью работы является создание оптимальных условий, в части оснащения медицинскими изделиями и лекарственными препаратами, в Военно-медицинской академии для осуществления функций по предназначению, включая проведение научных исследований в области разработки новых лекарственных препаратов.

**Материалы и методы.** В ходе проведенного исследования использовались методы логико-математического моделирования, экспертных оценок (прежде всего метод анализа иерархий), вариационной статистики, теории массового обслуживания, математического моделирования.

**Результаты.** Разработка, внедрение и применение новых медицинских технологий и лекарственных препаратов должно осуществляться по следующим приоритетным направлениям:

- совершенствование материально-технической базы медицинских организаций;
- оснащение современным лабораторным оборудованием;
- разработка новых медицинских технологий и их внедрение в систему здравоохранения, позволяющих сократить цикл создания нового продукта - от его разработки до вывода на рынок [1].

Выполнение возложенных задач должно осуществляться с помощью медицинского оборудования, подобранного в соответствии с базисным принципом - планового нормированного натурального довольствия. Его сущность заключается в том, что обеспечение производится в натуральных единицах с плановой периодичностью по установленным нормам снабжения. Главной целью нормирования является приведение использования медицинского имущества к общественно необходимому уровню. В результате норма приобретает значение стандарта, который имеет следующие положительные моменты: 1) четко определены и научно-обоснованы номенклатура и количество лекарственных средств и медицинских изделий, что ведет к гарантированному обеспечению ими; 2) возможен маневр запасами в различных условиях обстановки; 3) унификация управленческих решений обеспечения лекарственными средствами и медицинскими изделиями [3].

Поэтому результатом исследования будет проект приказа МО РФ «Об утверждении Норм снабжения медицинским имуществом Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова».

Один из традиционных методов исследования при разработке норм снабжения – метод анализа иерархий. Основной целью выбора – результативность фармакотерапии,

для достижения которой лекарственные средства в каждой фармакотерапевтической группе оцениваются по ряду критериев:

1. Терапевтический эффект;
  2. Безопасность;
  3. Режим применения;
  4. Форма выпуска ЛС;
  5. Стоимость курса лечения;
- и другие критерии [2, 4].

В результате применения научного подхода к выбору номенклатура медицинских изделий сократилась на 46 % от имеющейся в наличии.

В проекте приказа Министра обороны Российской Федерации об утверждении норм снабжения будут отражены следующие данные: номенклатура и количество медицинского имущества. В подразделении имущество должно быть разделено на 3 вида согласно основной деятельности академии: клиническая, образовательная, научная, представленные в таблице 1.

Таблица 1. Структура нормы снабжения медицинских изделий

Наименование медицинского имущества	Ед. изм.	Подразделение академии (Кафедра/Клиника/НИО и др.) Центр (крови и тканей)			
		Всего (кол-во)	Клиническая	Образовательная	Научная
Микроскоп биологический бинокулярный	шт.	8	6	-	2

Например, при нормировании медицинских изделий для Центра (крови и тканей), положено 8 аппаратов микроскоп биологический бинокулярный, из них для клинической работы 6, образовательной деятельности в подразделении не предусмотрено, для научной деятельности 2.

В результате в Военно-медицинской академии будут нормированы лекарственные средства и медицинские изделия для порядка 120-и подразделений, систематизированных на группы: теоретические кафедры, клинические, подразделения обеспечения, научные подразделения, и другие.

Кроме того, в целях систематизации, рационализации, оптимизации учета, мы выделяем обобщенную номенклатуру медицинских изделий. Например, для клиники нормируется Облучатель бактерицидный для обеззараживания воздуха помещений настенный, который может быть разных производительности, изготовителей и др. Однако, для Норм снабжения следует использовать обобщенную номенклатуру.

**Заключение.** Внедрение в практическую деятельность Военно-медицинской академии имени С.М.Кирова научно обоснованных Норм снабжения медицинским имуществом будет способствовать повышению качества профессиональной деятельности медицинских и фармацевтических специалистов, формированию инновационного потенциала в системе оказания медицинской помощи, образовательного процесса и научной деятельности.

#### **Литература.**

1. Лихогра И.А., Добровольский А.В., Голубенко Р.А. Разработка норм снабжения лекарственными средствами и медицинскими изделиями как инновационная составляющая обеспечения клинической деятельности медицинской организации. СПб: в сборнике: Инновационные технологии диагностики и лечения в многопрофильном медицинском стационаре. Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 30-летию со дня образования СПб ГБУЗ "Городская многопрофильная больница №2". Под редакцией В.А. Волчкова. Санкт-Петербург, 2023. С. 200-202.

2. Кононов В.Н., Лихогра И.А., Лебедь Р.А., Добровольский А.В. Применение метода анализа иерархий для оптимизации лекарственных средств, применяемых в учебном процессе Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Современная организация лекарственного обеспечения. 2021. Т. 8. № 1. С. 59-61.

3. Кононов В.Н., Лихогра И.А. Нормирование учебного медицинского имущества как необходимая составляющая качественной подготовки специалистов. В сборнике: Опыт применения сил и средств медицинской службы вооруженных сил министерства обороны РФ (МО СССР) при ликвидации медико-санитарных последствий ЧС. Материалы всероссийской научно-практической конференции. 2016. С. 149-150.

4. Мирошниченко Ю.В., Кононов В.Н., Лихогра И.А. Определение факторов, влияющих на процесс обеспечения учебным медицинским имуществом ВМедА имени С.М. Кирова. Фармакоэкономика: теория и практика. 2017. Т. 5. № 1. С. 91-92.

## ВЫБОР УНИФИЦИРОВАННЫХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ПРОЕКТА ПОЛНОГО ЦИКЛА РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

А.М. Пятигорский  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России  
(Сеченовский Университет), г. Москва, Россия  
zurianov2009@gmail.com

**Ключевые слова:** унифицированные параметры оценки проекта, УГП – уровни готовности производства, УГТ– уровни готовности технологий.

**Введение.** Для комплексной оценки текущего состояния готовности научно-технологического проекта полного цикла разработки инновационного продукта используются унифицированные параметры, которые наилучшим образом смогут решить задачи, поставленные разработчиками проекта. Это – технологическая, производственная, инженерная, организационная, оценка рисков и рыночные параметры готовности. Причем разработчики-исследователи сами решают, какие параметры готовности им выбрать для проведения своего исследования. Учитывая быстрые темпы развития фармацевтической промышленности, стремление к диверсификации производства при одновременной сегментации отрасли в целом, построение системы оценки технологической и производственной готовности, позволяющей разрабатывать конкурентоспособный продукт, в ограниченные сроки, является важным аспектом в данной сфере.

УГТ – инструмент для практического применения, устанавливающий согласованную терминологию и единообразную оценку текущего уровня зрелости и технологий для различных инновационных объектов. Является характеристикой соответствия конкретной технологии уровню ее зрелости от идеи до серийного производства, выражающаяся в определенном научном, научно-техническом или производственном результате, измеряемая соответствующими показателями результативности и соответствующая определенному диапазону вкладываемых финансовых средств.

УГП – это показатель для оценки зрелости данной технологии, компонента или системы с точки зрения производства. Используется для обеспечения лиц, принимающих решения на всех уровнях, общим пониманием относительной зрелости и сопутствующих рисков, связанных с рассматриваемыми производственными технологиями, продуктами и процессами.

**Целью** настоящего исследования является выбор унифицированного параметра для комплексной оценки проекта полного цикла разработки лекарственного препарата.

**Материалы и методы.** Метод определения уровня готовности технологий – УГТ, метод определения уровня готовности производства – УГП, планирование эксперимента, метод «Блок-схема процесса принятия решений», диаграмма взаимосвязей, параллельное проектирование, методы управления рисками.

**Результаты.** При принятии решений о готовности проекта используется оценка соответствующих специалистов – исследователей, разработчиков, специализирующихся в данной области знаний, научно-исследовательских организаций и компаний. При этом на начальных уровнях готовности доминирующую роль играют ученые, а на последующих – представители фармацевтической промышленности. После проведения обзора шести унифицированных параметров готовности проекта полного цикла, нами были выбраны два параметра, как наиболее подходящие для нашего исследования – это технологическая готовность и производственная. Обычно готовность к производству определяется технологической готовностью или стабильностью показателей.

Производственные процессы не смогут развиваться до тех пор, пока технология и дизайн продукта не станут стабильными. По этим причинам критерии УГП были разработаны таким образом, чтобы включать номинальный уровень технологической готовности в качестве предварительного условия для каждого уровня производственной готовности.

Несмотря на то, что шкала УГП нумеруется от 1 до 10, сами номера не имеют особого значения, но определяют, степень зрелости в зависимости от того, на каком этапе жизненного цикла находится проект.

Основной целью оценки взаимосвязи параметров УГТ и УГП является не глубокое понимание проекта, а выявление синергетических эффектов и сближений, обеспечивающих стандартизированный, повторяемый процесс оценки анализируемого проекта. Установление и сбор показателей этих параметров могли бы предоставить промышленности и регулирующим органам более полное представление о состоянии качества на производственном предприятии и позволить заинтересованным сторонам лучше предвидеть и решать проблемы, одновременно снижая ненужную нагрузку на регулирующие органы.

Важно понимать, что степень готовности фармацевтического производства зависит от технологической готовности. Поэтому критерии УГП должны включать необходимый уровень технологической готовности в качестве предварительного условия для каждого уровня производственной готовности. Хорошо структурированные, четко сформулированные характеристики УГТ и УГП могут стать важнейшим компонентом обеспечения сопоставимости между научно-исследовательскими структурами, производственными организациями и фармацевтическими продуктами, и будут играть важную роль в снижении рисков и обеспечении требований и ожиданий регулирующих органов и рынка.

**Заключение.** Оценка готовности к производству с использованием параметров УГП была разработана для управления производственными рисками, одновременно учитывая все уровни готовностей, но в первую очередь – УГТ.

Выбранные параметры оценки уровня готовности инновационного проекта, позволят определить динамику и сбалансированность его развития, используя унифицированные подходы для сравнения технологий и производственных возможностей, а также сократить ресурсы и время при проведении полной оценки готовности проекта.

Возможности производственного процесса, достигнутые в лабораторных и опытно-промышленных условиях, должны обеспечивать необходимый уровень качества и связанные с ними затраты, преимущества и риски уже в условиях полномасштабного производства.

### **Литература.**

1. Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации от 06.02.2023 № 107 «Об утверждении Порядка определения уровней готовности разрабатываемых или разработанных технологий, а также научных и (или) научно-технических результатов, соответствующих каждому уровню готовности технологий». – Текст электронный. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=446066&cwi=131>. (Дата обращения: 27.08.2023 г.). – Режим доступа: свободный.

2. Петров А.Н., Сартори А.В., Филимонов А.В. Комплексная оценка состояния научно-технических проектов через уровень готовности технологий (ФГБНУ «Дирекция НТП» Минобрнауки России, г. Москва, Россия).
3. Мирошкин В. Л. Оценка уровней готовности: проблемы / Вторая научно-практическая конференция «Управление созданием научно-технического задела в жизненном цикле высокотехнологичной продукции». Сборник докладов. Москва. (2017)
4. Гранич В.Ю., Дутов А. В., Мирошкин В. Л., Сыпало К. И. Об уровнях готовности технологий и применении Калькулятора УГТ для их оценивания. *Экономика науки*. 2020;. 1–2 (6): 6–10.
5. Mankins J. C. Technology readiness levels. *Artemis Innovation*. 1995. [http://www.artemisinnovation.com/images/TRL\\_White\\_Paper\\_2004-Edited.pdf](http://www.artemisinnovation.com/images/TRL_White_Paper_2004-Edited.pdf).
6. Design Development Test and Evaluation (DDT&E) Considerations for Safe and Reliable Human Rated Spacecraft Systems (2007) NASA Engineering and Safety Center Technical Report. 133 p.
7. Mavris D. N., Bandte O., Brewer J. T. (1995) A Method for the Identification and Assessment of Critical Technologies Needed for an Economically Viable HSCT / 1st AIAA Aircraft Engineering, Technology, and Operations Congress. Los Angeles.

## АНАЛИЗ СПРОСА НА ЭНТЕРОСОРБЦИОННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

А.В. Бондарев, Е.Т. Жилиякова, М. Риффи, Н.Б. Новикова  
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия  
E-mail: riffimohammed68@gmail.com

**Ключевые слова:** индекс Вышковского, адсорбционный кишечный препарат, смектит диоктаэдрический.

**Введение.** В настоящее время основным методом профилактики и лечения интоксикационных процессов является метод энтеросорбции [1]. Энтеросорбенты – это широко используемая в мире группа лекарственных препаратов с сорбционно-детоксическим действием. Термин «энтеросорбент» произошел от слова «*sorbens*» – «поглощающий». Энтеросорбенты способны связывать в желудочно-кишечном тракте экзогенные и эндогенные токсические соединения, патогенные микроорганизмы, а также обладают опосредованным эффектом – устраняют токсико-аллергические реакции и способствуют коррекции процессов обмена веществ, стимуляция моторики кишечника [2-4]. В России и в мире присутствует широкий спектр лекарственных средств, относящихся к группе энтеросорбентов, однако, детальное рассмотрение данного вопроса показывает, что существует ограниченное количество аналитических работ, посвященных сравнительному обзору энтеросорбентов России, европейских и арабских стран [5-7].

**Цель** Анализа спроса на адсорбционные кишечные препараты по использованию индекса Вышковского, а также сравнить полученные результаты с результатами 2014 года.

**Материалы и методы** В качестве материалов для исследования использовали информационно-аналитическую систему «Индекс Вышковского®». Методология работы базируется на теоретическом анализе Индекса Вышковского. Индекс Вышковского (ИВ) – это отношение количества информационных запросов к описанию определенного лекарственного препарата к общему числу запросов ко всем брендам в системе «*rlsnet.ru*» за определенный срок. Чем больше собирается информации о лекарстве, тем выше ИВ и, соответственно, уровень продажи данного препарата [8].

**Результаты.** На основании информационных ресурсов [8-10] была составлена таблица 1.

Таблица 1. Лекарственные препараты с адсорбционным фармакологическим действием

№ п/п	Торговое наименование	Производитель, страна производства	ИВ, ‰	Месяцы максимального спроса в группе	Результаты анализа спроса 2014г. [11]
АТХ-группа А07ВА- Активированный уголь, $\sum_{ИВ} = 0,131 ‰$					$\sum_{ИВ} = 0,325 ‰$
1	Уголь активированный	АО "Татхимфармпрепараты"	0,130‰	Май - Июнь	
2	Карбопект®	АО "Медисорб"	0,001‰		
АТХ-группа А07ВС05- Диосмектит, $\sum_{ИВ} = 0,430 ‰$					$\sum_{ИВ} = 2,988 ‰$
3	Смекта®	Ипсан Консьюмер Хелскеа САС	0,412‰	Июнь - Август	
4	Диосмектит	ООО "Фармакор Продакшн"	0,010‰		
5	Неосмектин®	АО "Отисифарм"	0,004‰		
6	Смектит диоктаэдрический	ООО "Вест"	0,004‰		
АТХ-группа А07ВС - Прочие кишечные адсорбенты, Кремния диоксид коллоидный, $\sum_{ИВ} = 0,297 ‰$					$\sum_{ИВ} = 1,332 ‰$
7	Полисорб МП	АО "Полисорб"	0,297‰	Март - Сентябрь	
АТХ-группа А07ВС - Прочие кишечные адсорбенты, Лигнин гидролизный, $\sum_{ИВ} = 0,064 ‰$					$\sum_{ИВ} = 0,815 ‰$
8	Полифепан	ООО "Восток"	0,026‰	Июль-Август	
9	Лактофилтрум	Авва рус ОАО	0,025‰		
10	Филтрум®-сти	ОАО "Авва рус "	0,013‰		
АТХ-группа А07ВС - Прочие кишечные адсорбенты, Повидон, $\sum_{ИВ} = 0,020 ‰$					$\sum_{ИВ} = 0,5172$
11	Энтеродез	ОАО "Красфарма"	0,013‰	Июль	
12	Повидон	ООО "Вест"	0,007‰		
АТХ-группа А07ВС - Прочие кишечные адсорбенты, Полиметилсилоксана полигидрат, $\sum_{ИВ} = 0,262 ‰$					$\sum_{ИВ} = 1,299 ‰$
13	Энтеросгель®	ООО "Фармасил"	0,262‰	Июль	

Всего было исследовано 56 уникальных препаратов [9], 13 из которых дали положительные результаты поиска. В таблице 1 представлен перечень лекарственных препаратов с адсорбционным фармакологическим действием по АТХ-группам, указан ИВ в промилле и месяцы максимального спроса в АТХ-группе. Как видно из таблицы 1, наиболее высокий ИВ и соответственно высокий спрос имеют лекарственные препараты Смекта®, Полисорб МП и Энтеросгель®. На наш взгляд, это связано с тем, что ассортимент препаратов-аналогов в АТХ-группах, к которым относятся указанные препараты, слабо выражен и они являются монополистами в своей АТХ-группе.

Средний показатель ИВ для АТХ-группы А07В Адсорбционные кишечные препараты составляет 1,204‰ или 0,12% от всех запросов в поисковой системе. Эти данные говорят о стабильном спросе на эту АТХ-группу. Лекарственный препарат Смекта® имеет максимальный ИВ из всех лекарственных препаратов – 0,412‰, что составляет 0,04% от всех запросов в поисковой системе. На наш взгляд, это связано с полифункциональностью препарата, он оказывает адсорбционное и антидиарейное фармакологическое действие, обладает гастроцитопротекторным действием, способен к обмену необходимыми микроэлементами между организмом и минеральной матрицей препарата.

Также полученные данные можно использовать для анализа конъюнктуры рынка при выводе нового препарата на фармацевтический рынок. Наиболее востребованной АТХ-группой среди адсорбционных кишечных препаратов является группа А07ВС05 Диосмектит, лекарственные препараты которой в России являются зарубежными или изготовлены на основе фармацевтической субстанции зарубежного производства [9]. Следовательно, разработка отечественного лекарственного препарата из АТХ-группы А07ВС05 Диосмектит будет востребована на фармацевтическом рынке.

Если сравнить результаты этого исследования с результатами, полученными в 2014 г. [11], то отчетливо видно исчезновение некоторых лекарственных препаратов, таких как: энтеромин, карбосорб, полифан; и появление новых препаратов, таких как: смектит диоктаэдрический. Средний показатель ИВ для АТХ-группы А07В Адсорбционные кишечные препараты в 2014 составляет 6,7612% или 0,67% от всех запросов в поисковой системе, который в пять раз больше, чем средний показатель в нашем исследовании (1,204% или 0,12%). Это можно объяснить более тщательным подбором препаратов на основе глины при симптоматическом лечении острой диареи у детей в возрасте до 2 лет [12].

**Заключение.** Таким образом, средний показатель ИВ для АТХ-группы А07В Адсорбционные кишечные препараты составляет 0,12% от всех запросов в поисковой системе. Максимальным информационным спросом пользуются лекарственные препараты Смекта®, Полисорб МП и Энтеросгель® в летние месяцы с мая по сентябрь. Наиболее востребованной АТХ-группой является группа А07ВС05 Диосмектит, а лекарственный препарат Смекта® имеет максимальный ИВ из всех лекарственных препаратов – 0,04% от всех запросов в поисковой системе. Разработка отечественного лекарственного препарата из АТХ-группы А07ВС05 Диосмектит будет востребована на фармацевтическом рынке.

#### **Литература.**

1. Жилиякова Е.Т., Бондарев А.В. Анализ российского фармацевтического рынка энтеросорбционных лекарственных средств. *Российский и зарубежный рынки*. 2014; 3: 40-47.

2. Урсова, Н. И. Место энтеросорбентов в терапии синдрома эндогенной интоксикации. *Вопр. современ. педиатрии*. 2012; 11(6):26-31.

3. Николаев, В.Г. Анализ медицинского применения угольных адсорбентов в Китае и дополнительные возможности в этой области, достигнутые в Украине. *Арטיפ. Клетки Наномед. Биотехнолог.* 2014; 1: 1-5. DOI: 10.3109/21691401.2013.856017.

4. Панфилова Виктория Николаевна, Таранушенко Т. Е. Применение энтеросорбентов в клинической практике // ПФ. 2012; №6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/primenenie-enterosorbentov-v-klinicheskoy-praktike> (дата обращения: 25.10.2022).

5. Бондарев А.В. Анализ российского фармацевтического рынка энтеросорбционных лекарственных препаратов. *Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук*. 2013; 10(2): 259-261.

6. Фатуллаева С. Обзор энтеросорбентов и их применение в клинической практике: Удаление токсичных металлов. *Сообщения о коллоидах и интерфейсах*. 2021; 45: 1-11.

7. Михаловский С. Энтеросорбция при лечении отравлений тяжелыми металлами. *Химический журнал Молдовы. Общая, промышленная и экологическая химия*. 2021; 16(2), 9-27.

8. Регистр лекарственных средств России. [Электронный ресурс] / URL: <http://www.rlsnet.ru/> (дата обращения 22.06.2023).

9. Бондарев, А.В. Энтеросорбенты России, Евросоюза и арабских стран / А.В. Бондарев, Е.Т. Жилиякова, М. Риффи // От биохимии растений к биохимии человека: сборник научных трудов X Международной научной конференции молодых ученых, (Москва), 15-16 декабря 2022 г. – С. 236-242. DOI:10.52101/9785870191058\_236.

10. Государственный Реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. – URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/> (дата обращения 14.10.2022).

11. Бондарев, А.В. Анализа спроса на адсорбционные кишечные препараты при помощи индекса вышковского. *Фармация и фармакология*. 2014; 6(7), 114-116.

12. Национальное агентство по безопасности лекарственных средств и изделий медицинского назначения (ANSM). Препараты на основе глины в симптоматическом лечении острой диареи у детей. [Электронный ресурс] / URL: <https://ansm.sante.fr/actualites/medicaments-a-base-dargile-dans-le-traitement-symptomatique-de-la-diarrhee-aigue-chez-lenfant> (дата обращения 25.06.2023).



# СОЦИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ В АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЯХ Г. НОВОСИБИРСКА И НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

И.А. Харина, И.А. Джупарова  
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, г. Новосибирск, Россия  
e-mail: uefmft@yandex.ru

**Ключевые слова:** лекарственное обеспечение, сахарный диабет, фармацевтические работники, анкетирование.

**Введение.** Лекарственное обеспечение отдельных категорий граждан, в том числе больных сахарным диабетом (СД), является одним из приоритетных направлений в системе здравоохранения РФ. При этом аптечные организации (АО), являясь конечным институтом лекарственного обеспечения населения, играют важную роль в продвижении качественной, эффективной и доступной фармацевтической помощи. Анализ состояния системы лекарственного обеспечения больных СД с точки зрения фармацевтических работников не менее важен, чем с точки зрения медицинских работников и самих пациентов.

**Цель.** Провести социологическое исследование льготного лекарственного обеспечения больных СД в АО г. Новосибирска и Новосибирской области (НСО).

**Материалы и методы.** В рамках исследования было проведено анонимное анкетирование 43 фармацевтических работников г. Новосибирска (22 чел.) и НСО (21 чел.) посредством специально разработанной анкеты. Для обеспечения достоверности исследования использовали формулу бесповторной выборки. Все респонденты являлись сотрудниками АО ГКУ НСО Новосибироблфарм (78 пунктов отпуска ЛП (ЛП) и медицинских изделий декретированным группам населения на льготных условиях).

**Результаты.** Обработка результатов анкетирования позволила получить данные, характеризующие мнение фармацевтических работников об организации лекарственного обеспечения пациентов, страдающих СД в г. Новосибирске и НСО.

Все опрошенные являлись женщинами (100%). Большинство из них (66%) старше 50-ти лет. 38% респондентов имели высшее фармацевтическое образование, 52% - среднее фармацевтическое образование, 7% - среднее фармацевтическое и среднее медицинское образование, 3% - высшее медицинское образование. Распределение респондентов по должностям и стажу работы по специальности «Фармация» представлено на рисунке 1.



Рисунок 1. Распределение респондентов по должностям и стажу работы по специальности «Фармация»

Одной из важнейших функций АО, в том числе участвующих в льготном лекарственном обеспечении населения, является фармацевтическое информирование пациентов. Респондентам было предложено оценить по 5-балльной шкале

заинтересованность в фармацевтическом информировании пациентов с СД, получающих ЛП и медицинские изделия на льготных условиях. Результаты представлены на рисунке 2.

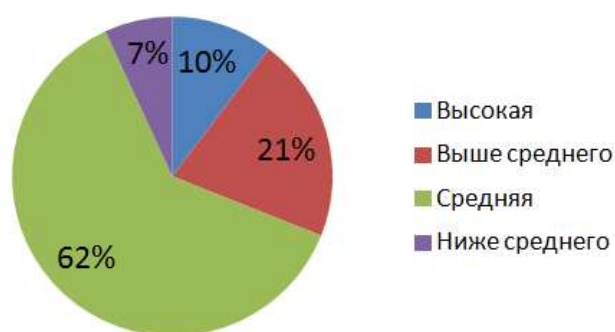


Рисунок 2. Результаты оценки фармацевтическими работниками заинтересованности пациентов с сахарным диабетом в фармацевтическом информировании

Заинтересованность пациентов в фармацевтическом информировании проявляется в наиболее часто задаваемых вопросах: о способе применения ЛП или медицинского изделия (83%), об условиях хранения ЛП в домашних условиях (38%), о взаимодействии ЛП с другими ЛП и пищей (14%).

На вопрос «Испытываете ли Вы трудности при проведении фармацевтического информирования пациентов с СД?» 45% опрошенных фармацевтических работников ответили положительно. При этом наиболее часто трудности при фармацевтическом информировании обусловлены недостатком информации об анамнезе пациента (54%), а также недостаточным количеством времени для информирования каждого пациента (46%).

93% опрошенных отметили, что в их АО разработана и утверждена стандартная операционная процедура «Отпуск ЛП и товаров аптечного ассортимента населению». При этом 66% респондентов на вопрос «Необходима ли, по Вашему мнению, разработка алгоритма фармацевтического информирования пациентов с СД для включения в стандартную операционную процедуру?» ответили положительно, 14% считают, что в разработке такого алгоритма нет необходимости, 20% затруднились ответить.

90% респондентов отметили, что пациенты с СД обращаются с жалобами в их АО по вопросам, связанным с льготным лекарственным обеспечением. Среди наиболее частых жалоб больных СД были отмечены: отсутствие в АО ЛП с желаемым торговым наименованием (88%), отсутствие в АО выписанного ЛП или медицинского изделия (31%), невозможность получения необходимого ЛП или медицинского изделия по причине неправильно оформленного рецепта (12%), а также долгое ожидание электронной подписи лечащего врача (4%).

В числе прочих вопросов анкеты, фармацевтическим работникам было предложено оценить эффективность организации льготного лекарственного обеспечения пациентов с СД в г. Новосибирске и НСО по 5-балльной шкале. 14% опрошенных затруднились ответить, 24% оценили организацию лекарственного обеспечения на 5 баллов (система эффективна и не нуждается в изменении), 62% дали оценку в 4 балла и отметили, что организация лекарственного обеспечения нуждается в изменениях. Замечания и предложения, сформулированные фармацевтическими работниками, включали в себя следующее:

- Помещения аптечных пунктов и аптек должны быть значительно большими по площади для соблюдения фармацевтического порядка и качественного осуществления льготного лекарственного обеспечения граждан.
- Обеспечение пациентов ЛП следует организовывать на срок от 3-х месяцев.
- Необходимо разработать и утвердить программу льготного лекарственного обеспечения для пациентов с СД.

- Обеспечить возможность медицинским организациям формировать заявки на сахароснижающие препараты по персонифицированным спискам больных СД, с указанием ЛП, дозировки и его количества для каждого пациента.

- Ограничить возможность деления упаковок ЛП (в т.ч. инсулинов) и упаковок медицинских изделий (игл для шприц-ручек). Это ускорит процесс выдачи ЛП или медицинского изделия пациенту, а также позволит пациенту получать целую, невскрытую упаковку, что удобнее и гигиеничнее.

- Обеспечить контроль остатков ЛП и медицинских изделий в АО ответственными за формирование заявок в медицинских организациях.

- Осуществлять поставки в пункты отпуска, располагающиеся в НСО, два раза в месяц.

- Расширить льготный перечень ЛП за счет ампульных и мазевых лекарственных форм.

- Повысить компетентность фармацевтических работников, в особенности молодых специалистов) в пунктах отпуска (аптеках) за счет проведения дополнительных обучающих мероприятий, наставничества.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что с точки зрения фармацевтических работников система лекарственного обеспечения больных СД в г. Новосибирске и НСО нуждается в оптимизации. Наиболее приоритетными направлениями являются: совершенствование процесса формирования заявки ЛП и медицинских изделий посредством взаимодействия аптечных и медицинских организаций, снижение нагрузки на один пункт отпуска для обеспечения возможности проведения фармацевтического информирования каждого пациента в надлежащем объеме, повышение качества фармацевтического информирования пациентов с СД за счет включения соответствующего алгоритма в стандартную операционную процедуру, а также проведения мероприятий и разработки материалов обучающего характера для фармацевтических работников.

#### **Литература.**

1. Косякова Н.В. Организационно-экономическая оценка льготного лекарственного обеспечения пациентов, страдающих сахарным диабетом: региональные особенности. // *Фармакоэкономика: теория и практика.* 2022;10(2):13-16.

2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021. // *Сахарный диабет.* 2021;24(3):204-221.

3. Дедов И.И. Калашникова М.Ф., Белоусов Д.Ю., и др. Фармакоэпидемиологические аспекты мониторинга здоровья пациентов с сахарным диабетом 2 типа: результаты Российского наблюдательного многоцентрового эпидемиологического исследования ФОРСАЙТ-СД 2. // *Сахарный диабет.* 2016;19(6):443–456.

## ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ПОВЫШЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ РЕГИОНАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ МЕДИЦИНЫ КАТАСТРОФ В УСЛОВИЯХ ВНУТРЕННИХ РИСКОВ И ВНЕШНИХ УГРОЗ

Л.Ю. Черникова<sup>1,2</sup>, Д.А.Болдышев<sup>1</sup>, Н.Л. Денисов<sup>1,2</sup>, Е.В. Каракулова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ОГБУЗ Территориальный центр медицины катастроф Томской области, г. Томск, Россия  
e-mail: lachernik@rambler.ru

**Ключевые слова:** резервы медицинского имущества, доступность лекарственного обеспечения в чрезвычайных ситуациях

**Введение.** В настоящее время лекарственная безопасность страны является одной из приоритетных задач государственной политики в области здравоохранения. Ключевые компоненты лекарственной безопасности – это национальная лекарственная независимость, физическая и экономическая доступность лекарственных препаратов в необходимом ассортименте и количестве, а также гарантии качества. Сохраняющиеся угрозы возникновения ЧС требуют поддерживать в постоянной готовности резервы ЛС на всех уровнях Единой государственной системы предупреждения и ликвидации ЧС, в том числе ее территориальных подсистем, поскольку оперативность экстренной доставки лекарственных средств в режиме ЧС определяется оснащенностью и эффективностью функционирования региональной службы медицины катастроф [1-3].

**Цель.** Разработка подходов к повышению лекарственной безопасности системы лекарственного обеспечения региональной службы медицины катастроф.

**Материалы и методы.** контент-анализ нормативно-правовых документов, структурный, ABC-анализ, корреляционный и кластерный анализ.

**Результаты.** В настоящее время для эффективной и своевременной лекарственной помощи при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций создается резерв материальных ресурсов Томской области (ТО) для предупреждения и ликвидации ЧС на 500 пострадавших (далее – резерв). Установлено, что номенклатура резерва включает 154 международных непатентованных наименований (МНН) лекарственных средств, входящих в 12 классификационных групп по анатомо-терапевтическо-химической (АТХ) классификации [4]. Проведенный анализ номенклатуры резерва показал, что лидером в структуре лекарственных средств являются противомикробные препараты для системного использования (код АТХ J) -18,8% (29 МНН). Далее следуют препараты, влияющие на кроветворение и кровь (код АТХ B) и препараты для лечения заболеваний нервной системы (код АТХ N), доля которых составила по 14,9% (по 23 МНН). Класс препаратов, влияющих на пищеварительный тракт и обмен веществ (код АТХ A) составляет 13,0% (20 МНН) в общем количестве МНН ЛС. Анализ параметров доступности лекарственных препаратов, необходимых для формирования регионального резерва в условиях внешних угроз для фармацевтического рынка РФ, показал, что по состоянию на 30.04.2022 года в Государственном реестре лекарственных средств (ГРЛС) зарегистрировано 1910 торговых наименования (ТН), которые могут использоваться для формирования резерва. Доля зарегистрированных отечественных ТН составила 73,1 %, а уровень импортозависимости производства отечественных препаратов от иностранных активных фармацевтических субстанций (АФС) – 62,8 %. Выявлено, что из 80 предприятий, расположенных на территории РФ, 9 производителей синтезируют от 5 до 32 АФС для отечественных ЛП, входящих в номенклатуру резерва ТО. На основе систематизации полученных данных, была разработана классификация лекарственных средств по стратегической доступности для пополнения резерва лекарственных средств, которая может использоваться для анализа и пересмотра номенклатуры резерва, а также организации закупок лекарственных препаратов.

На втором этапе исследования был проведен анализ климатогеографических факторов, создающих внутренние риски для системы лекарственного обеспечения службы медицины катастроф Томской области, который показал, что практически вся территория области находится в пределах таежной зоны, что создает условия для возникновения природных пожаров и увеличивает вероятность ЧС. К иным факторам, способствующим возникновению ЧС природного характера на территории ТО, могут быть также отнесены гидрологические опасные явления. Разветвленная речная сеть во время весеннего половодья может создать угрозу наводнения, нарушая работу водных переправ.

Численность населения ТО на 2023 год составила 1 052,1 тыс. человек, плотность населения низкая – 3,4 человека на 1 кв. км, более 85% территории ТО относится к труднодоступным районам, приравненным по климатическим условиям к местностям Крайнего Севера, что формирует риски для системы лекарственного обеспечения. На основе данных, полученных из геоинформационных сервисов: «Яндекс карты» и

«Конструктор карт Яндекс» установлено, что доступность районов ТО автотранспортом из областного центра осуществляется в Восточном и Северном направлениях, включающих 5 и 11 районов соответственно. Прямое взаимодействие между районами относящимся к этим направлениям, минуя областной центр, крайне затруднено. В более удаленных районах возрастают риски морозов, водных и зимних переправ. Такие районы имеют большую площадь, с меньшим количеством населенных пунктов и менее развитой транспортной сетью. Типологизация районов по степени транспортной доступности проведена с помощью кластерного анализа. По направлению «Восток» определена одна группа с высокой степенью транспортной доступности между 3 районами (Асиновский район, Первомайский район, Зырянский район), но отдаленными от областного центра. По направлению «Север» выделены две группы районов. Группа с высокой транспортной доступностью включает 5 территорий (Томск, Томский р-н, Шегарский р-н, Кожевниковский р-н, Бакчарский р-н), в том числе областной центр. Группа с низкой транспортной доступностью включает 6 районов (Кивошеинский р-н, Молчановский р-н, Чаинский район, Колпашевский район, Парабельский р-н, Каргасокский р-н).

**Заключение.** Проведенный анализ позволил предложить организационные механизмы, направленные на повышение физической доступности лекарственной помощи в условиях ЧС на территории Томской области, в частности сформировать алгоритм анализа ассортимента и пополнения резерва лекарственных препаратов в условиях импортозамещения, а также с использованием геоинформационных технологий разработать модель децентрализации резерва для повышения транспортной доступности лекарственной помощи.

#### **Литература.**

1. Гончаров С.Ф., Титов И.Г., Бобий Б.В., Акиншин А.В. Основные итоги деятельности Всероссийского центра медицины катастроф «Защита» ФМБА России в 2020 г. и задачи на 2021 год. *Медицина катастроф*. 2021;1:10-17. DOI:10.33266/2070-1004-2021-1-10-17.

2. Толузаков А.К. Современные тенденции и угрозы в обеспечении лекарственными препаратами населения. *Kant*. 2021;39(2):106-110. DOI 10.24923/2222-243X.2021-39.20.

3. Черникова Л.Ю., Дмитрук В.Н., Денисов Н.Л., Морозова Э.Г., Ратькин А.В., Каракулова Е.В. Вопросы национальной лекарственной безопасности при формировании резерва антибактериальных средств, предназначенного для ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):231-237. DOI:10.33380/2305-2066-2022-11-3-231-237.

4. Распоряжение Департамента Здравоохранения Томской области от 05.03.2018 № 150 "Об утверждении номенклатуры и объема медикаментов и медицинского имущества резерва материальных ресурсов Томской области для предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций межмуниципального и регионального характера". Доступно по: <https://www.tcmk-tomsk.ru/pages/normativnyie-dokumentyi/>

## Контроль качества лекарственных средств и специализированных продуктов питания

### РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ПОДЛИННОСТИ, ДОБРОКАЧЕСТВЕННОСТИ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ ПОРОШКА БАДЯГИ (SPONGILLA) ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПОСТАВЩИКОВ И НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ

В.М. Дубейко\*, Е.В. Акульшина, О.В. Евдокимова  
Рязанский государственный медицинский университета имени академика И.П.Павлова  
(ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России), г. Рязань, Россия  
e-mail: ackulshina.elena2015@yandex.ru

**Ключевые слова:** порошок бадяги, оценка подлинности, доброкачественности, микробиологической чистоты.

**Введение.** Лекарственные препараты из сырья животного происхождения сохраняют свою актуальность в комплексном лечении различных заболеваний. У потребителей имеется интерес и спрос на препараты из сырья животного происхождения. Бадяга официальна в современной научной медицине как местнораздражающее средство природного происхождения. Представляет собой высушенные колонии кишечнорастворимых животных пресноводных губок-бадяг (речных губок) – Spongilla, следующих видов: бадяга обыкновенная – Spongilla lacustris Carter; S. fragilis Leidy; эфидатия – Ephydatia fluviatilis Lieberkuhn, сем. Бодяговых – Spongillidae. Показания к применению – ушибы и кровоподтеки, боли в мышцах и суставах ревматического характера, невралгия, радикулит. На отечественном рынке представлено лекарственное средство – порошок бадяги для наружного применения. Косметическая промышленность производит мази, крема, гели, пилинги на основе бадяги. Кроме того, изучаются лечебные свойства бадяги и морских губок, в том числе делается вывод, что морские губки перспективны для открытия новых лекарственных средств с противовоспалительными, противоопухолевыми, противомаларийными свойствами [1,2].

Порошок бадяги, приобретаемый потребителем в розничной аптечной сети для самостоятельного приготовления суспензий для наружного применения, стал в настоящей работе объектом оценки подлинности и доброкачественности и дальнейшего определения направлений совершенствования методов оценки подлинности и доброкачественности этого препарата, представляемого отечественными поставщиками.

**Цель.** Дать оценку подлинности, доброкачественности и микробиологической чистоты порошка бадяги, представленного разными отечественными поставщиками, согласно действующей нормативной документации, отметить направления совершенствования нормативной документации на препарат.

**Материалы и методы.** Изучение отечественной и зарубежной нормативной документации и научной литературы по оценке качества порошка бадяги. Определение организаций-поставщиков лекарственного препарата – порошок бадяги по ГРЛС (<http://grls.rosminzdrav.ru>) в 2022 году. Анализ проб порошка бадяги, приобретенного в аптеках г. Рязани: ООО «Тульская фармацевтическая фабрика» (пакет 10г) - серия А; ООО Фирма "Здоровье"(Московская обл., Красногорск) (пакет бумажный ламинированный в картонных упаковках 10 и 20г)-серия Б (1) и серия Б (2); ООО «Биолайн» (Самарская обл., Чапаевск) (пакет 10г)-серия В по ФС 42-1564-00 на бадягу и ОФС: 1.1.0005.15; 1.2.4.002.18; 1.4.2.0007.15; 1.4.2.0009.15; 1.5.3.0003.15; 1.5.3.0004.15; 1.5.3.0007.15.

**Результаты.** Отмечено семь действующих поставщиков лекарственных препаратов бадяги на отечественном рынке. В рязанской аптечной сети три.

Анализ внешних и микроскопических признаков проб порошка бадяги подтвердил подлинность во всех четырёх сериях. Однако наблюдались различия в цвете порошков. При

микроскопическом анализе обнаружена крупночешуйчатая сеть, состоящая из иголок кремнезёма. Также видны отдельные иголочки, кусочки каркасных пластин, частицы кремнезёма различной формы.

Испытания на доброкачественность проб порошка бадяги (Таблица 1): влажности - серия А 7,3%, серия Б (1) 5,9%, серия Б (2) 5,8%, серия В 4,7% (требование ФС 42-1564-00 не более 10%); частиц, не проходящих сквозь сито с размером отверстий 0,5 мм - серия А 0,4%, серия Б (1) 1,0%, серия Б (2) 3,9%, серия В 0,5% (требование не более 10%), подтвердили соответствие во всех сериях.

Определение массы порошка в потребительской упаковке (бумажный пакет) - серия А +0,4%, серия Б (1) +0,5%, серия Б (2) -2,6%, серия В +2,2% \ показало соответствие нормативу (7,5% для порошков для наружного применения 300мг и более).

Таблица 1. Результаты анализа доброкачественности проб порошка бадяги

Серия	Влажность	Измельченность	Средняя масса (объем) содержимого упаковки
Требования ФС	не более 10 %	Частиц, не проходящих сквозь сито с размером отверстий 0,5 мм – не более 10 %	Отклонение не более 7,5 %
Серия А	7,3	0,44	+ 0,4
Серия Б (1)	5,9	0,97	+ 0,5
Серия Б(2)	5,8	3,85	- 2,6
Серия В	4,7	0,47	+ 2,2

Результаты исследования микробиологической чистоты (Таблица 2): содержание аэробных микроорганизмов - серия А -  $5,8 \times 10^6$  КОЕ/г, серия Б (1) -  $0,4 \times 10^5$  КОЕ/г, серия Б (2) -  $6,9 \times 10^5$  КОЕ/г, серия В -  $4,4 \times 10^5$  КОЕ/г. Серия Б (2) показала превышение общего числа аэробных микроорганизмов от нормы в 1,4 раза, серия А - в 11,6 раза. Дрожжевые и плесневые грибы во всех сериях проб порошка бадяги отсутствовали. Микробиологическое исследование подтвердило отсутствие *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, содержание которых в лекарственных средствах не допустимо. Вместе с тем порошок бадяги серии Б (2) и серии А содержали повышенную концентрацию энтеробактерий устойчивых к желчи – более  $10^3$  КОЕ/г, что не соответствует требованиям микробиологической чистоты для лекарственных препаратов применяемых без использования кипящей воды.

Таблица 2. Результаты определения микробиологической чистоты проб порошка бадяги

Серия	Общее число аэробных микроорганизмов	Общее число дрожжевых и плесневых грибов	Общее число энтеробактерий, устойчивых к желчи	<i>Esherichia coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>	
Требования ОФС	не более $5 \times 10^5$ КОЕ/г	Не более $10^4$ КОЕ/г	Не более $10^3$ КОЕ/г	Отсутствие в 1 г	Отсутствие в 25 г	
Серия А	$5,8 \times 10^6$	отсутствие	более $10^3$	отсутствие	отсутствие	
Серия Б (1)	$0,4 \times 10^5$	отсутствие	отсутствие	отсутствие	отсутствие	
Серия Б (2)	$6,9 \times 10^5$	отсутствие	более $10^3$	отсутствие	отсутствие	
Серия В	$4,4 \times 10^5$	отсутствие	отсутствие	отсутствие	отсутствие	

### Заключение.

1. На отечественном фармацевтическом рынке на 2022 год отмечено 7 действующих поставщиков препаратов бадяги, в основном это порошок бадяги массой 5, 6, 10, 15 и 20г в бумажных пакетах или пакетах бумажных ламинированных в картонных упаковках. Также отмечена лекарственная форма: гранулы гомеопатические (20 г - флакон-капельницы - пачки картонные).

2. В аптеках города Рязани отмечено 3 поставщика: ООО Тульская фармацевтическая фабрика (пакет 10г), ООО Фирма "Здоровье» "(Московская обл., Красногорск) (пакет бумажный ламинированный в картонных упаковках 10 и 20г), ООО «Биолайн» (Самарская обл., Чапаевск) (пакет 10г).

3. Анализ по фармакопейным статьям порошков бадяги в потребительской упаковке, приобретенного в аптеках г.Рязани, показал соответствие подлинности по внешним признакам и микроскопии, доброкачественности по влажности, количеству частиц превышающих 0,5 мм и средней массе порошка в упаковке нормативным требованиям для всех производителей.

4. Серия Б2 ООО Фирмы «Здоровье» и серия А ООО «Тульская фармацевтическая фабрика» – показали превышение общего числа аэробных микроорганизмов и повышенное содержание энтеробактерий. При повторных исследованиях, подтверждающих полученные результаты, важным является поиск причин нарушения в цикле производства порошка бадяги в местах контакта с внешней средой. Несоответствие требованиям микробиологической чистоты может быть связано и с отсутствием у бадяги четкого определения принадлежности к категории лекарственного препарата по ОФС 1.2.4.002.18. «Микробиологическая чистота».

5. Изучение нормативной документации и другой литературы по оценке подлинности и доброкачественности препаратов бадяги [3, 4] показывает, что возможно проведение дальнейших научных исследований для предложения методик качественного и количественного анализа порошка бадяги для отечественной нормативной документации.

6. Изучение литературы [4] по определению подлинности порошка бадяги микроскопическим методом и наш микроскопический анализ позволяет говорить о необходимости дальнейших научных исследований для более точного установления микроскопических признаков порошка бадяги.

#### ***Литература.***

1. Коноплева М.М. Лекарственное сырьё животного происхождения и природные продукты. *Вестник фармации.* 2012, 55, 1, 74-82.

2. Кароматов И.Д., Мавлонов С.С. Бадяга, морская губка. *Биология и интегративная медицина*, no. 6, 2016, pp. 257-262.

3. Badiaga-PPH. Badiagapourpréparationshoméopathiques. ANSM. Pharmacopée française. 1989. Les prescriptions general esetles monographies general esdela Pharmacopée uropéenneainsiquele préambul edela Pharmacopée françaises'appliquent.

4. Ю.С. Целюба В.С. Кисличенко. Сравнительный анализ порошка бадяги украинской и китайской. *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация.* 2013. № 25 (168). Выпуск 24/1. С. 61-67.

## РАЗРАБОТКА НОВОГО МОДИФИЦИРОВАННОГО МЕЗОПОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО СЕНСОРА ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛОВАСТАТИНА

В.М. Богословский

Национальный исследовательский томский политехнический университет, г. Томск,

Россия

e-mail: vmb3@tpu.ru

***Ключевые слова:*** вольтамперометрия, сенсор, методика, модификатор, ловастатин.

***Введение.*** За последние десятилетия в области медицинских и фармацевтических наук наблюдался значительный прогресс в разработке инновационных подходов к доставке лекарств и интеграции медицинского оборудования. Среди этих достижений интеграция фармацевтических агентов в костные имплантаты стала многообещающей стратегией улучшения результатов лечения пациентов в ортопедии и стоматологии.



Существующие методы количественного определения ловастатина, такие как ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС, ГХ позволяют определять ловастатина в пределах  $10^{-6}$ – $10^{-4}$ , но при количественном определении ловастатина при релизе из импланта, возникают существенные трудности из-за высвобождающихся сополимеров в процессе биодеградации покрытия. Это приводит к большим сложностям с определением вышеописанных методов. В то же время электрохимические методы анализа, в частности инверсионная вольтамперометрия является более чувствительным методом, который позволяет определять ловастатин в пределах  $10^{-7}$ – $10^{-5}$ , с влиянием сополимера. В литературе для определения ловастатина имеются незначительные данные по применению различных типов электродов. Имеются данные на основе графитовых электродов с пределом обнаружения  $10^{-6}$ – $10^{-5}$ М [1-2], ртутных электродов («висячая капля») с пределом обнаружения  $10^{-7}$ – $10^{-6}$ М [3-4], на основе стеклоуглеродных электродов, модифицированные поверхностно-активными веществами с пределом обнаружения  $10^{-7}$  М и модифицированные нанотрубками (предел обнаружения  $10^{-8}$  М) [5-6]. Нами предложен новый способ получения модифицированного графитового электрода, полученный при добавлении мезопористого углерода в процессе импрегнирования спектрального чистого графита в смеси парафина и полиэтилена низкого давления.

**Цель.** При изготовлении имплантов требуется контроль вносимых препаратов и прогнозирование их последующего высвобождения после имплантации. Данная методика предназначена для определения концентраций как на модельных растворах, так и в биологических жидкостях.

Разработка новых высокочувствительных сенсоров для вольтамперометрического определения статинов из костных имплантов позволит создать альтернативный способ определения препаратов из группы статинов.

Целью данного исследования являлась разработка нового модифицированного мезопористым углеродом электрохимического сенсора для вольтамперометрического определения ловастатина

**Материалы и методы.** Исследования проведены с использованием вольтамперометрического компьютеризированного комплекса типа СТА. В качестве электродов сравнения использованы хлорид серебряные электроды. Рабочими электродами служили импрегнированные графитовые электроды. Для улучшения чувствительности и расширения диапазона определения применяется поверхностно активный модификатор на основе наноматериалов увеличивающий активную поверхность электрода создавая на ней систему микроэлектродов.

Используемый поверхностно активный модификатор с различным содержанием мезопористого углерода и многостенных углеродных нанотрубок. В качестве матрицы использовался поливинилиденфторид трифторэтилен растворённый в ацетоне. В Данную матрицу вмешивались наполнители мезопористого углерода с многостенными углеродными нанотрубками с различными соотношениями материалов. Смесь нагревалась до 50°C при ультразвуковом перемешивании для диспергирования частиц. Далее следовало нанесение на поверхность методом drop casting, с последующей сушкой под стеклянным колпаком при комнатной температуре в течение 30 минут.

**Результаты.** Проведены исследования по влиянию концентрации мезопористого углерода в смеси на аналитический сигнал ловастатина. На рисунке представлена градуировочная зависимость ловастатина на графитовых электродах с различным содержанием мезопористого углерода, из которого видно, что при увеличении содержания модификатора, чувствительность аналитического сигнала ловастатина значительно увеличивается, предел определения аналита составляет  $0.005 \text{ мг/дм}^3$  с погрешностью определения, не превышающей 15%.

Нами проведена проверка правильности определения ловастатина в модельных растворах. Проверка проведена в широком диапазоне определяемых концентраций от  $0.01 \text{ мг/дм}^3$  до  $1,0 \text{ мг/дм}^3$ . Исследовано катионно-анионный состав и влияние pH фонового электролита, выбраны основные параметры вольтамперометрического определения

ловастатина – потенциал и время электронакопления, диапазон развертки потенциала при получении вольтамперных кривых. Подобраны условия методики вольтамперометрического определения ловастатина при релизе его из импланта, определены основные метрологические параметры.

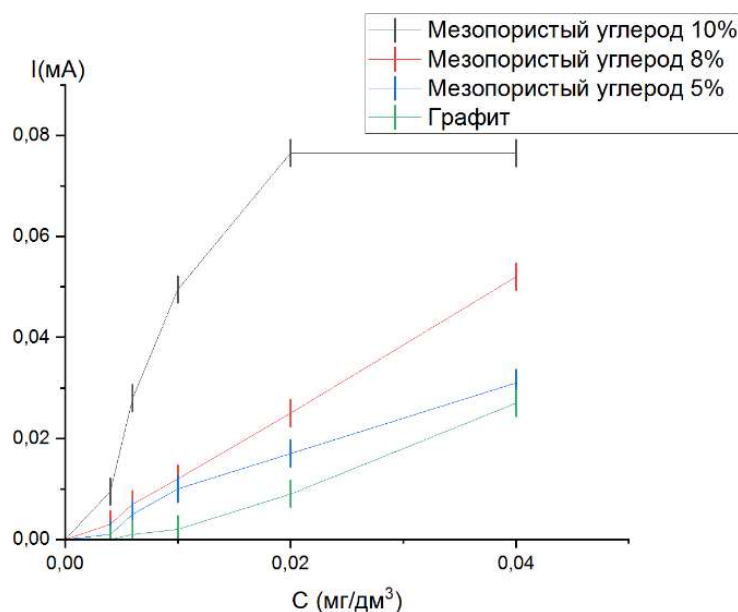


Рисунок. Градуировочная зависимость ловастатина, полученного на электродах с различным содержанием мезопористого углерода и сравнение с графитовым электродом

**Заключение.** Модифицированные электрохимические сенсоры можно использовать для определения низких концентраций статинов по сравнению с широко применяемыми графитовыми электродами. Данный подход позволит разработать методику определения ловастатина при его экстракции из различных объектов. Данный метод является альтернативой ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС, ГХ, которые наряду с высокой стоимостью анализа, требуют более трудоемкой пробоподготовки для исключения влияния сополимеров, высвобождаемых в процессе биодеградации полимерной матрицы с препаратом.

*Разработка фундаментальных основ создания материалов, изделий, средств доставки, устройств контроля и визуализации для персонализированной медицины и онкологии 0.0007.ГЗБ.2023.*

#### **Литература.**

1. Nigović B., Sertić M., Mornar A. Simultaneous determination of lovastatin and citrinin in red yeast rice supplements by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food chemistry*. – 2013; 138(1):531-538.
2. Eren T. et al. A sensitive molecularly imprinted polymer based quartz crystal microbalance nanosensor for selective determination of lovastatin in red yeast rice. *Food chemistry*. 2015;185: 430-436.
3. Silva T. D. et al. Development and validation of a simple and fast HPLC method for determination of lovastatin, pravastatin and simvastatin. *Journal of chromatographic science*. – 2012; 50(9):831-838.
4. Fang G. et al. Quartz crystal microbalance sensor based on molecularly imprinted polymer membrane and three-dimensional Au nanoparticles@ mesoporous carbon CMK-3 functional composite for ultrasensitive and specific determination of citrinin. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2016;230: 272-280.
5. Wang J. et al. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of simvastatin, lovastatin, atorvastatin, and their major metabolites in human plasma. *Journal of Chromatography B*. 2015;983:18-25.

6. Abu-Nameh E. S. M., Shawabkeh R. A., Ali A. High-performance liquid chromatographic determination of simvastatin in medical drugs. *Journal of analytical chemistry*. 2006; 61: 63-66.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМИОДАРОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Е.А. Горн\*, К.И. Казанцева, Д.А. Кургачев

Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия;

Научно-исследовательский институт кардиологии Томского научно-исследовательского  
медицинского центра, г. Томск, Россия.

e-mail: kataask12@gmail.com

**Ключевые слова:** амиодарон, дезэтиламиодарон, плазма, ВЭЖХ, валидация.

**Введение.** Применение лекарственных средств (ЛС) зачастую связано с риском развития нежелательных побочных эффектов. Так, амиодарон, являющийся одним из наиболее эффективных препаратов для лечения предсердных и желудочковых аритмий, способен вызывать широкий спектр побочных эффектов, включая брадикардию, гипо- и гипертиреоз, двустороннюю кератопатию и др. Для того чтобы избежать негативных лекарственных реакций, вызванных приемом амиодарона, необходим подбор допустимых границ дозирования, в рамках которых ЛС реализует преимущественно положительные эффекты. Это обуславливает необходимость регулярного мониторинга концентрации амиодарона в плазме крови.

Наиболее эффективным и чувствительным методом определения концентрации амиодарона в плазме является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС). Несмотря на то, что использование масс-спектрометра позволяет избавиться от мешающего влияния белков плазмы крови, применение хромато-масс-спектрометрии для фармакомониторинга затруднительно ввиду значительного увеличения стоимости и суммарного времени анализа. Таким образом, большой интерес представляет создание методики количественного определения амиодарона в плазме крови, обладающей высокой селективностью к амиодарону и не требующей использования масс-спектрометрического детектора.

**Цель.** Разработка методики определения амиодарона и его метаболита — дезэтиламиодарона — в плазме крови методом ВЭЖХ-ДМД с использованием модифицированной пробоподготовки по методу QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe - Быстрый, Простой, Дешевый, Эффективный, Точный и Надежный). Доказать пригодность разработанной методики по критериям селективности, линейности, повторяемости, правильности, внутрилабораторной прецизионности и стабильности.

**Материалы и методы.** В работе использована плазма крови пациентов, принимающих амиодарон по назначению врача, плазма крови доноров, не принимающих амиодарон, а также стандартные образцы амиодарона и дезэтиламиодарона, с содержанием основного вещества не менее 99,9 % (Clearsynth). Образцы плазмы крови для исследований были предоставлены НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

Пробоподготовка проводилась с использованием экстракции по методу QuEChERS, для этого к 450 мкл плазмы добавляли 50 мкл стандартного раствора амиодарона ( $C = 15$  мкг/мл), 500 мкл ацетонитрила для градиентной хроматографии, а также  $0,33 \pm 0,04$  г NaCl, после чего образцы вортиксовали в течение 20 секунд, затем центрифугировали в течение 5 минут при 15 тыс. об./мин. Заключительным этапом пробоподготовки являлся отбор супернатанта и его очистка с помощью шприцевого фильтра с политетрафторэтиленовой мембраной с диаметром пор 0,2 мкм.

Хроматографирование осуществляли на колонке, созданной в лаборатории физико-химических методов анализа Томского государственного университета (Tsunami C<sub>18</sub> Pharm

250×4,6, 5 мкм) в режиме градиентного элюирования. Температура термостата 30 °С. Подвижная фаза А — ацетонитрил, В — фосфатный буфер (pH 3, 7,5 мМ). Программа градиентной элюции: 0 мин — 50 % В; от 0 до 7 мин — повышение содержания В до 85 %; от 7,00 до 15,00 мин — 85 % В; от 15,00 до 15,10 мин — снижение содержания В до 50 %; от 15,10 до 18,00 мин — содержание В 50 %. Скорость потока — 1,2 мл/мин, объем инъекции — 80 мкл. Выбранная длина волны детектирования сигнала — 241 нм.

**Результаты.** Общее время анализа составило 18 минут. Среднее время удерживания для амиодарона —  $7,69 \pm 0,14$  минут (RSD = 1,79 %). Расчетная концентрация амиодарона в образце —  $1,50 \pm 0,02$  мкг/мл. Фактор отклика для дезэтиламиодарона — 1,45. В ходе исследования провели оценку селективности по определяемому веществу (рисунок 1). Разрешение ( $R_s$ ) между пиком амиодарона и пиком дезэтиламиодарона на хроматограмме — 65,2; разрешение между пиком амиодарона и пиком ибупрофена — 50,1.

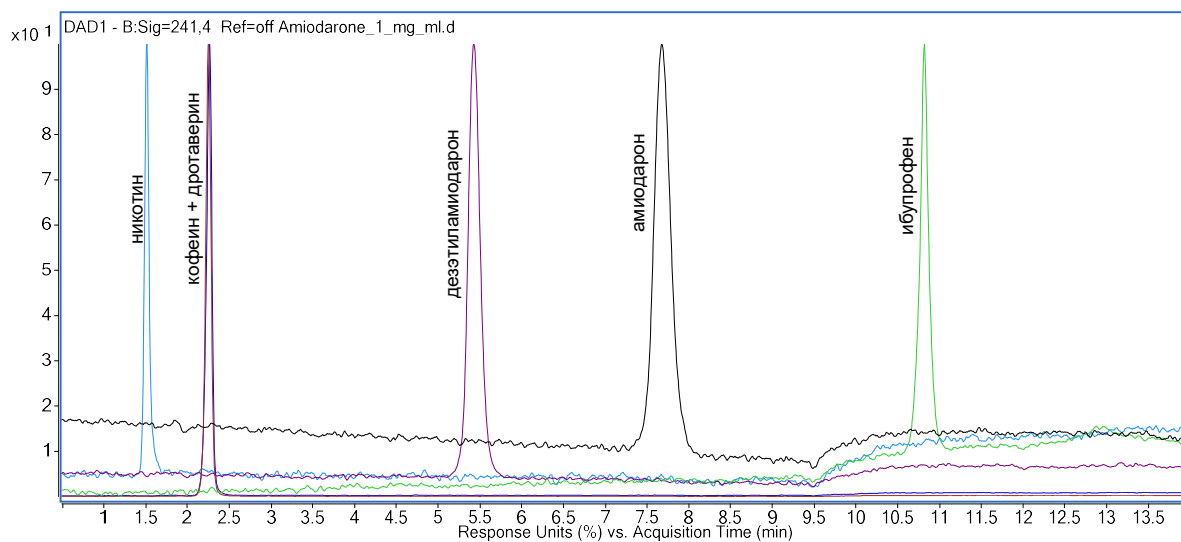


Рисунок 1. Хроматограммы стандартных растворов лекарственных средств

На рисунке 2 представлена хроматограмма образца плазмы пациента, принимающего амиодарон в течение продолжительного времени, полученная с помощью разработанной методики анализа.

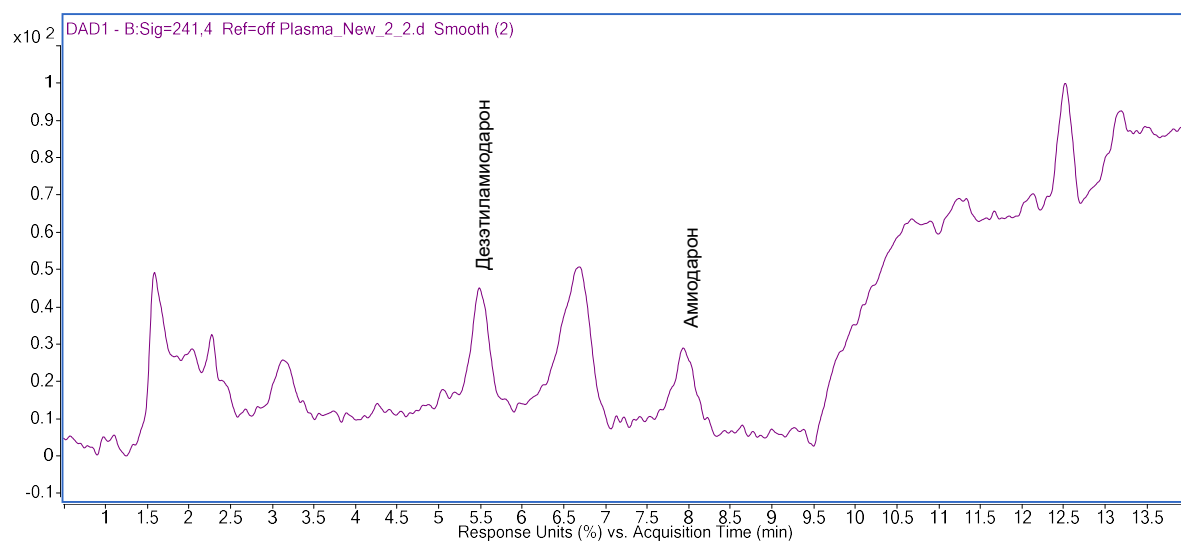


Рисунок 2. Хроматограмма образца плазмы донора, принимающего амиодарон

По результатам проверки по критерию линейности (рисунок 3), методику можно считать пригодной в диапазоне от 33 % до 200 % от средней терапевтической концентрации, коэффициент корреляции ( $R^2$ ) — 0,9981.

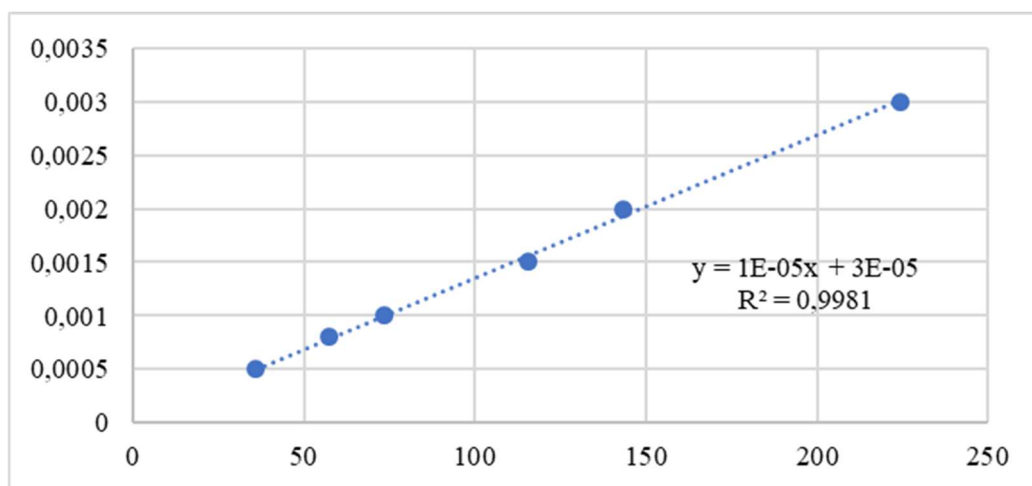


Рисунок 3. Градуировочный график для модельных образцов плазмы

В таблице 1 представлены данные проверки пригодности методики по критериям повторяемости и промежуточной прецизионности относительно времени удерживания и площади пика амиодарона. Согласно проведенным расчетам, величины относительного СКО не превышают 2 %. Величина процента восстановления для концентрации амиодарона, соответствующей средней терапевтической, составила 99,9 %.

Таблица 1. Характеристики методики по критериям повторяемости и промежуточной прецизионности

Параметр	RT, мин	S, мВ×с
СКО повторяемости методики	0,149	0,898
RSD повторяемости методики, %	1,94	1,78
СКО промежуточной прецизионности	0,05	0,57
RSD промежуточной прецизионности, %	0,68	0,49

**Заключение.** В результате исследования были разработаны хроматографические условия, обеспечивающие селективное определение амиодарона и дезэтиламиодарона методом ВЭЖХ-ДМД в плазме крови человека, без использования масс спектрометрического детектора. Была оптимизирована методика пробоподготовки образцов плазмы, обеспечивающая устранение значительного влияния белков плазмы на хроматографический анализ. Была доказана пригодность разработанной методики по критериям селективности, линейности, повторяемости, правильности, промежуточной прецизионности и стабильности.

## О СТАНДАРТИЗАЦИИ КУРИЛЬСКОГО ЧАЯ КУСТАРНИКОВОГО

Л.Г. Дворникова\*

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия  
e-mail: lioubov.dv@mail.ru

**Ключевые слова:** курильский чай кустарниковый, стандартизация, флавоноиды, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография

**Введение.** Курильский чай кустарниковый (лапчатка кустарниковая, дазифора кустарниковая) произрастает не только на Дальнем Востоке, но и в Западной Сибири, а также хорошо культивируется. Благодаря широкому терапевтическому диапазону и достаточным сырьевым запасам, растительное сырье курильского чая кустарникового представляет интерес для лекарственного применения. Химический состав указанного растительного сырья довольно подробно изучался, однако, на настоящий момент

отсутствует государственный стандарт качества на указанный вид сырья. Применяются побеги курильского чая кустарникового в виде пищевой добавки, как правило, в качестве средства для нормализации состояния желудочно-кишечного тракта. Тем не менее, данные литературы о видах фармакологической активности побегов курильского чая наглядно иллюстрируют их лекарственный потенциал. Несомненно, разработка фармакопейной статьи на побеги курильского чая кустарникового является актуальной.

**Цель.** Предложить нормы качества и методики идентификации флавоноидов в побегах курильского чая кустарникового.

**Материалы и методы.** В качестве объектов исследования использовали высушенное измельченное сырье курильского чая кустарникового, выпускаемое пятью различными предприятиями Алтайского края в качестве пищевой продукции, биологически активной добавки к пище.

Разделение флавоноидов курильского чая кустарникового методом тонкослойной хроматографии проводили в извлечениях из сырья, полученных на спирте этиловом 40% (1:10) на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ» (10\*10) в системах растворителей: бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2); этилацетат – кислота муравьиная – вода (10:2:3). Хроматограммы обрабатывали 5% спиртовым раствором алюминия хлорида с последующим нагреванием при 105 °С в течение 3-5 минут и просматривали в УФ-свете.

Разделение флавоноидов курильского чая кустарникового методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 (Shimadzu, Япония) с диодно-матричным детектором SPD-M20A. В качестве неподвижной фазы использовали хроматографическую колонку PerfectChrom 100 C18 (150x4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм) с предколонкой Orbit 100 C18 (20x4,6мм, размер частиц сорбента 5 мкм). В качестве подвижной фазы использовали элюенты: А – трифторуксусной кислоты водный раствор 0,01%; Б – ацетонитрил 100%. Элюирование проводили в градиентном режиме – изменение концентрации элюента Б от 5% до 55%. Детектирование осуществляли при длине волны 360 нм по времени удерживания (τ, мин) и характеру УФ-спектров (λ<sub>max</sub>, нм), снятых в процессе хроматографирования. Результаты интерпретировались в сравнении со стандартными образцами (СО) флавоноидов (SIGMA Aldrich): апигенина, гиперозида, изорамнетина, кверцетина, кверцитрина, кемпферола, мирицетина, нарингенина, рутина, лютеолина. К группе флавоноидов относили соединения, в спектрах которых наблюдались максимумы поглощения при длинах волн 240-270 нм и 320-380 нм.

**Результаты.** В результате проведенных экспериментов установлено, что система хроматографирования этилацетат – кислота муравьиная – вода (10:2:3) не является специфичной для проведения тонкослойной хроматографии побегов курильского чая кустарникового, т.к. не позволяет добиться разделения флавоноидных соединений (после обработки хроматограммы наблюдается одно пятно с желто-зеленой флуоресценцией сразу под линией фронта растворителя). При использовании системы хроматографирования бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2) обнаружено 4 соединения, на флавоноидный характер которых указывает цвет флуоресценции после обработки специфическим реактивом (табл. 1).

Таблица 1. Хроматографические характеристики и цвет флуоресценции флавоноидов побегов курильского чая кустарникового (метод ТСХ, система БУВ - 4:1:2)

Объект исследования	№ пятна	Rf	Цвет флуоресценции в УФ-свете после обработки	Заключение
Извлечение из побегов курильского чая кустарникового	1	0,58	сине-фиолетовая	фенолкарбоновая кислота
	2	0,63	желтая	флавоноид
	3	0,73	желто-зеленая	флавоноид
	4	0,80	желто-зеленая	флавоноид
	5	0,85	желто-зеленая	кверцетин
СО кверцетина	1	0,85	желто-зеленая	-

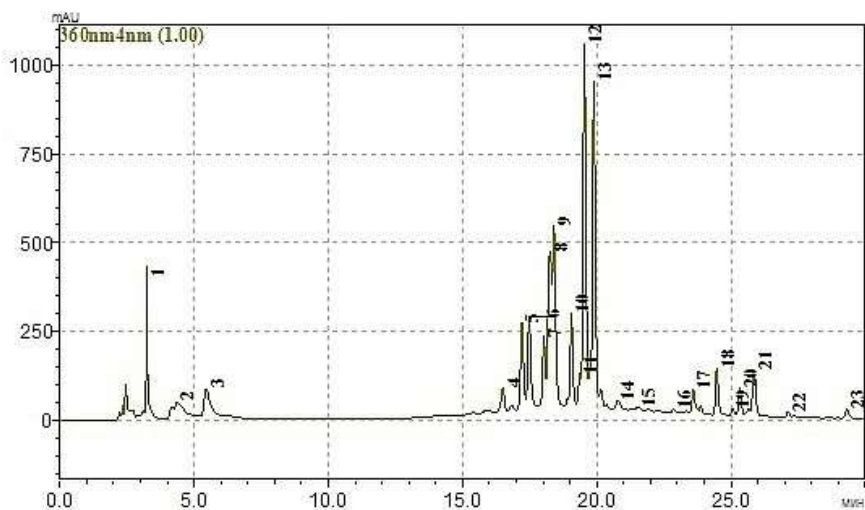


Рисунок 1. Хроматограмма извлечения из побегов курильского чая кустарникового

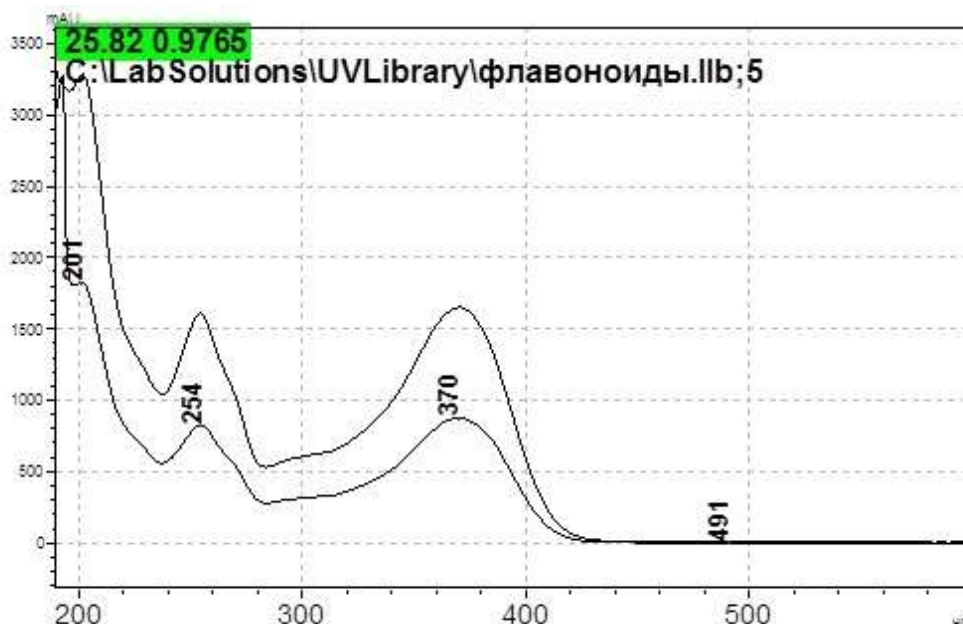


Рисунок 2. Спектр соединения со временем удерживания 25,82 мин (пик № 21) с опорным спектром СО кверцетина

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в химическом составе пяти образцов побегов курильского чая кустарникового идентифицированы 6-19 флавоноидных соединений, состав которых существенно варьирует в разных образцах. Единственное флавоноидное соединение, идентифицированное во всех пяти образцах, имеет время удерживания 25,84 мин, максимумы поглощения - 201, 254 и 370 нм и идентифицировано как кверцетин в сравнении с аналогичными характеристиками СО кверцетина (рис. 2). Еще семь соединений со временами удерживания 17,53-17,69; 19,05-19,19; 20,76-20,90; 21,44-21,57; 23,58-23,59; 25,31-25,32; 29,28-29,31 (пики №№ 6, 10, 14, 15, 17, 20, 23 на хроматограмме извлечения из побегов курильского чая кустарникового, изображенного на рис. 1), идентифицированные как флавоноиды по характеру спектров, встречаются в четырех образцах побегов курильского чая кустарникового из пяти исследуемых образцов.

**Заключение.** Для идентификации флавоноидных соединений в побегах курильского чая кустарникового можно использовать методы тонкослойной (более простой в

исполнении метод, не требующих дорогостоящего оборудования) или высокоэффективной жидкостной хроматографии (более чувствительный метод). Разделение флавоноидов методом ТСХ рационально проводить в системе элюентов «бутанол – уксусная кислота – вода» (4:1:2), при этом на хроматограмме должно быть не менее 4 пятен, имеющих желтую или желто-зеленую флуоресценцию после обработки хроматограммы раствором алюминия хлорида. Разделение флавоноидов методом ВЭЖХ можно проводить с использованием системы элюентов трифторуксусной кислоты водный раствор 0,01% – ацетонитрил 100%, на хроматограмме должны наблюдаться как минимум восемь пиков флавоноидных соединений, в т.ч. кверцетин.

#### **Литература.**

1. Стальная М. И. Запасы сырья курильского чая кустарникового в природе. *Перспективы развития науки и образования в современных экологических условиях.* 2017:300-304.

2. Стальная М. И., Арутюнова Г. Ю., Бойко И. Е. Биологическое и терапевтическое действие отваров и экстрактов из растений курильского чая кустарникового. *Новые технологии.* 2014;1:108-112

3. Храмова Е. П. Состав и содержание флавоноидов *Pentaphylloides fruticosa* в природе и культуре. *Химия растительного сырья.* 2014;1:185-193.

4. Мальцева, А. А., Тринеева, О. В., Чистякова, А. С., Брежнева, Т. А., Сливкин, А. И., & Сорокина, А. А. (2013). Тонкослойная хроматография в анализе флавоноидов растительных объектов. *Фармация*, (1), 13-16.

5. Дворникова Л. Г., Кореновский Ю. В., Макарова О. Г., Левашова, А. С. Стресс-исследования экстракта кукурузы столбиков с рыльцами сухого как элемент фармацевтической системы качества. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2019; 3:66-72.

## ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

Р.Э. Ермаченков\*, И.И. Тернинко  
ФГБОУ ВО СПХФУ, г. Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: ermachenkov.roman@pharminnotech.com

**Ключевые слова:** эфирные масла, газовая хроматография, хроматографический профиль.

**Введение.** Эфирные масла получили широкое распространение в медицине и различных отраслях промышленности. Для этой группы БАВ характерна поликомпонентность и вариабельность химического состава, что обусловлено различными факторами (эколого-фитоценоотическими, культуральными, онтогенетическими и др.). Сложность состава и его изменчивость в значительной степени усложняет процедуру идентификации и стандартизации эфирных масел и, как следствие, определения фальсифицированной продукции.

Метод хроматографического профилирования упрощает задачу идентификации и определения подлинности эфирных масел и является эффективным аналитическим инструментом при контроле качества эфирных масел.

**Цель.** Рассмотреть особенности анализа эфирных масел с использованием метода хроматографического профилирования.

**Материалы и методы.** Метод исследования – поиск и анализ научной информации, представленной в специализированных (Science Direct, Springer, eLibrary и др.) и общих (Google, Google Scholar и др.) поисковых наукометрических системах. Глубина поиска 29 лет.

**Результаты.** Под эфирными маслами, согласно [1], понимается летучая многокомпонентная смесь различных душистых органических соединений, полученная из эфиромасличного сырья.



Химический состав большинства эфирных масел представлен углеводородами монотерпенового и сесквитерпенового ряда и их кислородосодержащими производными, а также ароматическими соединениями фенольного характера. Тем не менее сложный химический состав эфирных масел подвержен изменениям. Факторы варибельности компонентного состава (как качественного так и количественного) могут быть подразделены на внешние (эколого-фитоценотические) и внутренние (онтогенетические) относительно растения, к внешним факторам можно отнести климато-географические особенности региона произрастания, условия культивирования, сбора, послеуборочной обработки, транспортирования и условий хранения, а к внутренним – особенности генотипа растения [2].

Наиболее распространенными методами промышленного получения эфирных масел являются методы гидро- и пародистилляции и метод холодного прессования - мягкий метод извлечения, применяемый для получения эфирных масел ряда цитрусовых растений [3]. В процессе проведения дистилляции при нагревании могут протекать различные ферментативные и химические процессы, также ведущие к изменению компонентного состава эфирного масла [4].

Сложность химического состава эфирных масел и его варибельность обуславливает особенности анализа. Наибольшее распространение при анализе эфирных масел получил метод капиллярной газовой хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детектированием [5], обеспечивающий высокую эффективность разделения и чувствительность детектирования. Идентификация компонентов эфирного масла в случае газохроматографического анализа может быть произведена по расчетным индексам удерживания (индексам Ковача для изотермического режима и линейным индексам удерживания для режима программирования температуры) и с использованием метода масс-спектрометрии. Тем не менее, определение структуры компонентов эфирного масла не позволяет произвести точную идентификацию самого эфирного масла, а также определить его подлинность.

За последние десятилетия был достигнут существенный прогресс в практике проведения газохроматографического анализа эфирных масел [6]. Разработан метод быстрой хроматографии (*Fast-GC*, *F-GC*), предполагающий проведение анализа с использованием коротких капиллярных колонок, что позволяет сократить время анализа в несколько раз. Для определения подлинности ряда эфирных масел, идентичность которых характеризуется, в том числе, наличием определенных изомеров в определенном соотношении, применяется энантиомерная газовая хроматография. Так подлинность эфирного масла мелиссы лекарственной можно установить путем измерения соотношения между (*S*)- и (*R*)-изомерами цитронеллала, поскольку (*S*)-изомер содержится в натуральном масле в незначительном количестве, то его избыток может свидетельствовать о фальсификации эфирного масла [7]. Всё чаще при разделении сложных эфиромасличных композиций используется метод многомерной хроматографии (*GC x GC*), обеспечивающий высокую эффективность разделения сложных смесей, трудноразделимых в условиях обычного газохроматографического анализа [8].

Среди методов идентификации эфирных масел наиболее эффективным является метод хроматографического профилирования (метод «отпечатков пальцев», *fingerprint*). Сущность метода при анализе эфирных масел заключается в составлении перечня характерных и репрезентативных компонентов с указанием их пределов концентрации и отличающихся постоянством, определенной по методу внутренней нормализации. В основу метода положена унификация процесса газохроматографического анализа: для анализа могут быть использованы насадочные или капиллярные колонки с неполярными (метил- или фенилполисилоксаны) или полярными неподвижными фазами на основе полиэтиленгликоля. При использовании хроматографических профилей для оценки подлинности масла идентифицируются лишь те компоненты, что входят в специфический хроматографический профиль эфирного масла, а сама идентификация может быть проведена без использования дорогостоящего метода масс-спектрометрии по совпадению

индексов удерживания или времен удерживания стандартных образцов веществ, входящих в хроматографический профиль. Применение хроматографических профилей при анализе эфирных масел регламентировано межгосударственным стандартом [9].

Использование хроматографических профилей при анализе эфирных масел, содержащих в своем составе оптически активные соединения, предполагает определение либо энантиомерного избытка одного из компонентов хроматографического профиля, либо же определение соотношения энантиомеров, согласно [10].

Разработанные для применения хроматографические профили ряда эфирных масел приведены в стандартах ISO и монографиях Европейской Фармакопеи. В стандарты включают описание показателей качества эфирного масла, хроматографический профиль эфирного масла и подробное описание условий проведения хроматографического анализа.

Несмотря на очевидное преимущество метода хроматографического профилирования для однозначной оценки подлинности эфирного масла, данный подход имеет и свои недостатки. Использование хроматографических профилей при анализе эфирных масел ограничено по ряду причин. Во-первых, для большинства видов эфирных масел отсутствуют разработанные хроматографические профили. ISO опубликовано 96 стандартов эфирных масел, а в составе Европейской Фармакопеи [12] насчитывается 32 монографии, посвященных эфирным маслам. В Государственной Фармакопее XIV издания и Фармакопее ЕАЭС отсутствуют частные монографии на эфирные масла, в России работа по хроматографическому профилированию находится на стадии формирования. Во-вторых, разработанные хроматографические профили могут не учитывать особенности хемотипа эфиромасличного растения из определенного региона. Так, хроматографический профиль эфирного масла герани, согласно [11], установлен для четырех регионов произрастания герани (*Pelargonium graveolens L.*): Северной Африки, Китая, острова Реюнион и Мадагаскара, таким образом, компонентный состав эфирного масла, полученного из растения отличного региона произрастания, может в значительной степени отличаться от приведенного в стандарте. Применение метода хроматографического профилирования в таких случаях может давать некорректные результаты при проведении идентификации и определении подлинности эфирных масел.

Развитие метода хроматографического профилирования эфирных масел предполагает дальнейшее накопление информации о компонентном составе различных видов эфирных масел в том числе из различных регионов произрастания, а также с учетом сортового разнообразия, составление хроматографических профилей и расширение числа опубликованных стандартов.

**Заключение.** Эфирные масла являются сложными объектами для анализа ввиду естественных особенностей их состава и его вариабельности под действием различных факторов. Широкое применение эфирных масел в медицине и различных отраслях промышленности обуславливает необходимость их однозначной идентификации и определения подлинности. Применение метода хроматографического профилирования позволяет значительно упростить процедуру анализа и задачу идентификации эфирных масел и является одним из действенных подходов для целей аналитического контроля.

#### **Литература**

1. ГОСТ 31791-2017 Эфирные масла и цветочно-травянистое эфиромасличное сырье. Технические условия (с Поправками). – Введ. 01.01.2019. – М.: Стандартинформ, 2018. – 26 с.
2. Морозов С.В., Ткачева Н.И., Ткачев А.В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений. *Химия растительного сырья*. 2018;4: 5-28. DOI: 10.14258/jcprm.2018044003.
3. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. – Новосибирск: Офсет, 2008. – 969 с.
4. Ткачев А.В. Проблемы качественного и количественного анализа летучих веществ растений. *Химия растительного сырья*. 2017;3: 5-37. DOI: 10.14258/jcprm.2017032712.

5. Rubiolo P., Sgorbini B., Liberto E., Cordero, C. and Bicchi C. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. A review.. *Flavour Fragr. J.* 2010;25:282-290. <https://doi.org/10.1002/ffj.1984>.
6. Cagliero C., Bicchi C., Marengo A., Rubiolo, P., Sgorbini, B. Gas chromatography of essential oil: State of the art, recent advances and perspectives. *J Sep Sci.* 2022; 45: 94–112. <https://doi.org/10.1002/jssc.202100681>.
7. Kreis P., Mosandl A. Chiral compounds of essential oils. Part XVI. enantioselective multidimensional gas chromatography in authenticity control of balm oil (melissa officinalis L.). *Flavour Fragr. J.* 1994; 9: 249-256.
8. Rasheed, D. M., Serag, A., Shakour, Z. T. A., & Farag, M. Novel trends and applications of multidimensional chromatography in the analysis of food, cosmetics and medicine bearing essential oils. *Talanta.* 2021; 223: 121710.
9. ГОСТ ISO 11024-2-2015 Масла эфирные. Общее руководство по хроматографическим профилям. Часть 2. Применение хроматографических профилей проб эфирных масел (Переиздание). – Введ. 01.01.2017. – М.: Стандартинформ, 2019. – 12 с.
10. ГОСТ ISO 22972-2014 Масла эфирные. Анализ методом газовой хроматографии на хиральных капиллярных колонках. Общий метод (Переиздание). – Введ. 01.01.2016. – М.: Стандартинформ, 2019. – 8 с.
11. ГОСТ ISO 4731-2014 Масло эфирное гераниевое (*Pelargonium* x ssp.). Технические условия (Издание с Поправкой). – Введ. 01.01.2016. – М.: Стандартинформ, 2019. – 16 с.
12. European Pharmacopoeia, 11th edition. European Кафедра фармацевтического анализа for the Quality and Medicines. Strasbourg, France, 2023.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  $\alpha(1,2)$ -L-РАМНО- $\alpha(1,4)$ -D-ГАЛАКТОПИРАНОЗИЛУРОНАНА ACORUS CALAMUS L. В ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

А.В. Зыкова\*, Д.А. Исаков, С.В. Кривошеков  
ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия  
e-mail: anastasya.zykova@mail.ru

**Ключевые слова:** валидация, полисахариды, хроматография,  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранан.

**Введение.** Основная проблема современной противоопухолевой терапии заключается в высокой токсичности используемых синтетических препаратов. В целях возможного снижения токсического эффекта ведется активная разработка компонентов, выделенных из растительного сырья. Перспективным объектом изучения является  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранан, выделенный из корневищ *Acorus calamus* L. и обладающий наиболее выраженным действием, повышающим противоопухолевую и противометастатическую активность [1-2]. На его основе получена готовая лекарственная форма (ГЛФ), для которой необходима разработка нормативной документации, требующая проведения валидационной оценки разработанных методик количественного определения.

**Цель.** Валидационная оценка хроматографической методики количественного определения  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана в ГЛФ по следующим показателям: линейность, правильность, прецизионность в условиях повторяемости и воспроизводимости.

**Материалы и методы.** Для количественного определения  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана в ГЛФ использована хроматографическая система Dionex Ultimate 3000 (“Thermo”, Германия). Условия хроматографирования: скорость потока элюента 1 мл/мин, объем вводимой пробы 20 мкл, температура термостата колонки 30°C, рефрактометрический детектор. Хроматографическая система считалась пригодной, если на хроматограмме стандартного раствора коэффициент асимметрии основного пика составлял 0,50-2,50, относительное стандартное отклонение значений времен удерживания

и площадей пика, рассчитанное по 5 последовательным хроматограммам, не превышало 2%. Концентрация испытуемого раствора варьировалась в зависимости от определяемой метрологической характеристики.

Линейность определяли на семи уровнях концентраций в диапазоне 0,09-0,82 мг/мл. Правильность методики устанавливали методом «введено-найдено» для раствора 0,3 мг/мл (n=3). Прецизионность в условиях повторяемости определяли в шестикратном эксперименте с использованием модельных растворов со средней концентрацией 0,241 мг/мл. Воспроизводимость методики определяли в параллельных опытах, проведенных двумя разными исследователями.

**Результаты.** Для оценки линейности строили калибровочные графики зависимости высоты пика на хроматограмме от концентрации (Рис.1). Критерием приемлемости являлся коэффициент корреляции ( $R^2 \geq 0,99$ ), равный 0,9991, что указывает на удовлетворительную линейную зависимость в заданном диапазоне концентраций.

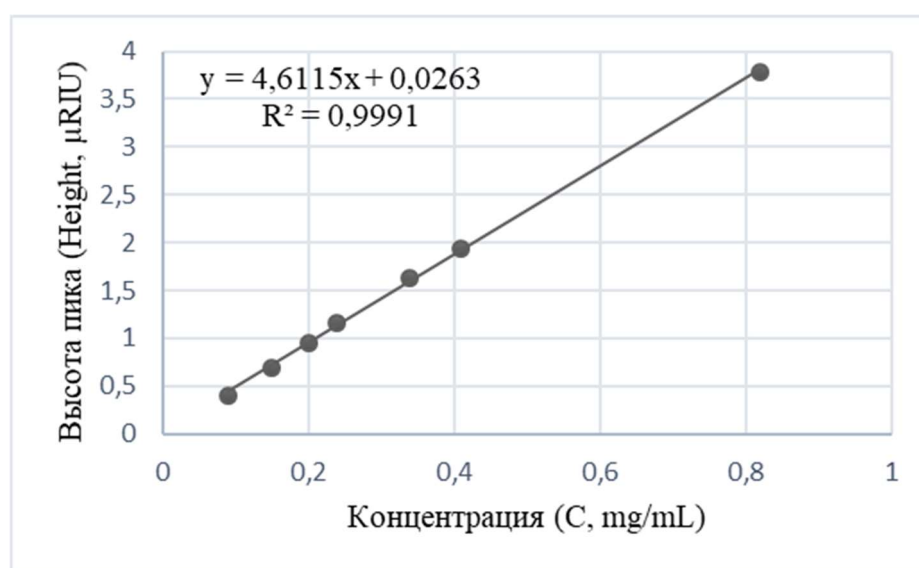


Рисунок 1. График зависимости высоты пика (Height, μRIU) на хроматограмме α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана *Acorus calamus L.* от концентрации (C, мг/мл)

Правильность методики в исследуемом диапазоне варьировалась от 99,89 до 100,02 % при сходимости полученных данных — 1,01 %. Результаты оценки прецизионности методики представлены в таблицах 1 и 2. Величина относительного стандартного отклонения в оценке повторяемости методики имела допустимое значение — 0,57 %, в оценке воспроизводимости — 0,49 %.

Таблица 1. Оценка повторяемости методики количественного определения α(1,2)-L-рамно-α(1,4)-D-галактопиранозилуронана

N	S <sub>i</sub> , mAU*min	C <sub>i</sub> , мг/мл	C <sub>ср</sub> , мг/мл	S <sub>x</sub>	Δ	Сходимость (σ <sub>r</sub> ), %
1	1,0982	0,2415	0,241	0,000556	0,0014	0,57
2	1,1054	0,2431				
3	1,0895	0,2396				
4	1,0909	0,2399				
5	1,0918	0,2401				
6	1,0995	0,2418				

Таблица 2. Оценка воспроизводимости методики количественного определения  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана

N	S <sub>i</sub> , mAU*min	C <sub>i</sub> , мг/мл	C <sub>ср</sub> , мг/мл	S <sub>мл</sub>	G	G <sub>таб</sub> (m=2; f=2)	S <sub>ср</sub>	CO(S), мг/мл	Сходимость (σ <sub>R</sub> ), %
1	1,1055	0,2431	0,2413	2,68×10 <sup>-6</sup>	0,8806	0,9750	1,5217×10 <sup>-6</sup>	0,01174	0,49
	1,0909	0,2399							
	1,0955	0,2409							
2	1,0936	0,2405	0,2406	3,63×10 <sup>-7</sup>	0,8806	0,9750	1,5217×10 <sup>-6</sup>	0,01174	0,49
	1,0914	0,2400							
	1,0968	0,2412							

**Заключение.** В ходе проведения валидационной оценки хроматографической методики количественного определения  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана в готовой лекарственной форме получены следующие характеристики: методика линейна в диапазоне концентраций 0,09-0,82 мг/мл, имеет допустимые значения относительного стандартного отклонения при оценке повторяемости (0,57 %) и воспроизводимости (0,49 %), правильность варьируется в диапазоне 99,89-100,02 %. Методика соответствует требованиям нормативной документации и может быть использована в производственной практике.

*Работа выполнена в рамках прикладного научного исследования 720000Ф.99.1.БН62АБ30000 в рамках государственного задания № 056-00116-23-01.*

#### **Литература**

1. Лопатина К.А., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Крылова С.Г., Гурьев А.М., Амосова Е.Н., Рыбалкина О.Ю., Сафонова Е.А., Ефимова Л.А., Белоусов М.В. Доклиническое исследование лекарственной формы  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана из корневищ аира болотного *Acorus calamus* L. в онкологическом эксперименте. *Сибирский онкологический журнал*. 2015;1.

2. Неупокоева О.В., Лопатина К.А., Воронова О.Л., Сафонова Е.А., Зуева Е.П., Чуринов А.А. Изучение мутагенных свойств  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана *Acorus calamus* L. *ТМЖ*. 2015;2 (60).

### СТАНДАРТИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ АИРА БОЛОТНОГО (*ACORUS CALAMUS* L.). СОДЕРЖАНИЕ ГАЛАКТУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

С.В. Кривошеков, Д.А. Исаков\*, А.В. Зыкова  
 ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия  
 e-mail: den.isakov.1998@mail.ru

**Ключевые слова:** водорастворимые полисахариды, валидация, метрологическое сопровождение методик.

**Введение.** В СибГМУ ранее проведены доклинические исследования нового препарата на основе  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана аира болотного (*Acorus calamus* L.), который находится на I фазе клинических испытаний [1,2,3]. Разработка новых лекарственных препаратов требует метрологического сопровождения используемых методик в контроле качества фармацевтических субстанций и готовых лекарственных средств. В фармацевтической отрасли под метрологическим сопровождением понимается чаще всего валидация новых методик, заключающаяся в определении пригодности этой методики для анализа конкретного объекта. С целью проверки пригодности методики количественного определения галактуроновой кислоты в активной фармацевтической субстанции  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуранана *Acorus calamus* L. проведена ее валидация по показателям: линейность, прецизионность, правильность.

**Материалы и методы.** Для приготовления растворов использовали воду Milli-Q, полученная из системы Direct-Q Ultrapure Water System от Millipore (Бедфорд, Массачусетс, США) с электропроводностью  $0,054 \text{ мкСм} \times \text{см}^{-1}$ . Реагенты: кислота серная (ГОСТ 4204-77, ч.д.а.), кислота сульфаминовая (ТУ 6-09-2437-79, х.ч.), карбазол (ТУ 6-09-3255-78, ч.), натрия тетраборнокислый 10-водный (ГОСТ 4199-76, ч.д.а.). В качестве стандартного образца использовали D-(+)-кислоту галактуроновую моногидрат  $\geq 99\%$  (Sigma-Aldrich, США). Объектом исследования являлась активная фармацевтическая субстанция (АФС), произведенная в Центре внедрения технологий СибГМУ, представляющая собой полисахарид из корней и корневищ аира болотного –  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуронан *Acorus calamus* L. (серия 011122)

Подготовка проб. Около 0,10 г (точная навеска) испытуемого образца помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 40 мл воды очищенной. После чего объем раствора в колбе доводили до метки тем же растворителем и перемешивали. Аликвоту 5,0 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивали (испытуемый раствор АФС, концентрация 0,1 мг/мл). 250 мкл испытуемого раствора помещали в пробирку, параллельно готовили раствор сравнения, используя 250 мкл воды очищенной. В пробирки с анализируемым и контрольным раствором добавляли 0,01 мл 4М раствора сульфаминовой кислоты и тщательно перемешивали. Затем пробирки помещали в емкость со льдом и осторожно, по каплям, по стенке пробирки добавляли по 1,5 мл 0,25% раствора тетрабората натрия в серной кислоте охлажденного до комнатной температуры, не допуская нагревания смеси. Затем пробирки нагревали в кипящей водяной бане в течение 6 мин, после чего вновь охлаждали до комнатной температуры в емкости со льдом. В пробирки с анализируемым раствором и с раствором сравнения добавляли 0,05 мл 0,2% раствора карбазола и помещали в кипящую водяную баню на 10 мин, затем охлаждали до комнатной температуры и измеряли оптическую плотность анализируемого раствора относительно раствора сравнения при длине волны  $525 \pm 2$  нм. Концентрацию галактуроновой кислоты определяли по калибровочному графику, построенному по стандартным растворам галактуроновой кислоты с концентрациями в диапазоне 0,01-0,5 мг/мл.

**Результаты и обсуждение.** Повторяемость (сходимость) методики определяли измерением оптических плотностей 6 отдельных растворов. Относительное стандартное отклонение составило 1,23% при доверительной вероятности 95%, что не превышает критерии приемлемости – 5% (таблица 1).

Таблица 1. Результаты оценки повторяемости методики

№ опыта	1	2	3	4	5	6		
Содержание галактуроновой кислоты, мг/мл	0,1168	0,1190	0,1207	0,1178	0,1148	0,1215		
Метрологические характеристики								
$X_{\text{ср}}$	$S^2$	S	$S_x$	$S_r, \%$	P (%)	t (P,f)	$\Delta x_{\text{ср}}$	$\varepsilon, \%$
0,1184	$6,22 \times 10^{-6}$	0,0025	0,0011	0,11	95	2,57	0,0004	0,36

Воспроизводимость определяли совместным оценочным экспериментом в трех различных лабораториях СибГМУ на различных приборах, разными операторами по 3 испытания на 3 разных уровнях концентрации. Статистическое тестирование выбросов проводили с помощью критерия Кохрена, дисперсии и стандартные отклонения для каждого уровня рассчитывали по ГОСТ Р ИСО 5725-2-2002. При рассмотрении данных, не обнаружив какой-либо зависимости, в качестве показателей прецизионности, нами выбраны средние значения стандартных отклонений. Меры прецизионности не превышают критериев приемлемости как для внутрилабораторной прецизионности  $1,86\% < 10\%$ , так и для межлабораторной прецизионности  $4,06\% < 15\%$  (таблица 2).

Таблица 2. Результаты оценки воспроизводимости методики

Уровень	p	m	C	S <sub>r</sub> по уровню	S <sub>R</sub> по уровню	S <sub>r</sub> метода	S <sub>R</sub> метода	S <sub>r</sub> %, метода	S <sub>R</sub> %, метода
1	3	0,1165	0,5647	0,00057	0,00136	0,0007	0,00211	2,20	4,49
2		0,1391	0,5513	0,00680	0,00193				
3		0,1740	0,5551	0,00085	0,00303				

Правильность устанавливали добавлением известного количества стандартного образца галактуронової кислоты по 3 испытания образца на 3 разных уровнях концентрациях. Критерием приемлемости являлся средний процент восстановления при использовании растворов заданных концентраций, скорректированный на 100%, средняя величина которого должна находиться в пределах 100±5%. В разработанной методике процент восстановления находился в пределах от 96,72% до 103,09%, средняя величина составила 99,41%. (таблица 3).

Таблица 3. Результаты оценки правильности методики

Уровни концентраций	1			2			3		
Объем аликвоты испытуемого раствора	0,20			0,25			0,30		
Содержание галактуронової кислоты, мг/мл	0,1008	0,1022	0,1000	0,1236	0,1212	0,1204	0,1468	0,1457	0,1461
Добавлено галактуронової кислоты, мг	0,05			0,10			0,15		
Содержание галактуронової кислоты (ожидаемое), мг/мл	0,150	0,1522	0,1500	0,2236	0,2212	0,2204	0,2969	0,2957	0,2961
Содержание галактуронової кислоты (полученное), мг/мл	0,1490	0,1508	0,1536	0,2271	0,2138	0,2140	0,2963	0,3001	0,3056
Отношение, % М получ. *100%/ ожидаемое	98,8	99,1	102,4	101,6	96,7	97,1	99,8	101,5	103,2

Линейность определяли на 6 уровнях концентраций: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 мл испытуемого раствора с добавлением 0,1 мг галактуронової кислоты. Критерий приемлемости: коэффициент корреляции не менее 0,995. Установлено, что график имеет линейный характер в диапазоне концентраций 0,148-0,322 мг/мл и описывается уравнением:  $y = 21,22 \times x + 0,0004$ , значение остаточного стандартного отклонения = 0,304; коэффициент корреляции составил 0,999.

**Заключение.** Метрологические характеристики методики количественного определения галактуронової кислоты в субстанции  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L., определенные в эксперименте, удовлетворяют требованиям, предъявленным к методикам в фармацевтическом анализе.

*Работа выполнена в рамках прикладного научного исследования 720000Ф.99.1.БН62АВ30000 в рамках государственного задания № 056-00116-23-01.*

#### **Литература.**

1. Лопатина К.А., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Крылова С.Г., Гурьев А.М., Амосова Е.Н., Рыбалкина О.Ю., Сафонова Е.А., Ефимова Л.А., Белоусов М.В. Доклиническое исследование лекарственной формы  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуронана из корневищ айра болотного *Acorus calamus* L. в онкологическом эксперименте. *Сибирский онкологический журнал*. 2015;1.

2. Неупокоева О.В., Лопатина К.А., Воронова О.Л., Сафонова Е.А., Зуева Е.П., Чуринов А.А. Изучение мутагенных свойств  $\alpha(1,2)$ -L-рамно- $\alpha(1,4)$ -D-галактопиранозилуронана *Acorus calamus* L. *ТМЖ*. 2015;2 (60).

3. Кривошеков С.В., Васильев А.И., Гурьев А.М., Юсубов М.С., Белоусов М.В. Оптимизация полупромышленной технологии получения активной фармацевтической субстанции «Полистан». *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2015;4 (13):52-58.

## ВОЗМОЖНОСТЬ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕТУЛИНА И ДИАЦЕТАТА БЕТУЛИНА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВКАХ

Е. Нурпейис\*, Г.Б. Слепченко

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет,  
г. Томск, Россия  
e-mail: enlik.nurpeiis.94@mail.ru

**Ключевые слова:** пентациклические тритерпеноиды, бетулин, диацетат бетулина, инверсионная вольтамперометрия, модификация, определение, фармпрепараты, .

**Введение.** Бетулин получают из бересты [1] и широко исследуют благодаря его использованию в качестве биологически активного соединения [2]. Производные бетулина, такие как диацетат бетулина проявляют гипополипидемическую и антиоксидантную активность [3].

Для определения бетулина и диацетата бетулина в лекарственных препаратах и в биологически активных добавках, требуется разработка чувствительных, селективных методов анализа. В литературных данных известно, что для их определения в основном применяются хроматографические методы анализа [4-6]. Для расширения возможностей применения вольтамперометрических методов анализа для исследования окислительно-восстановительных свойств нами выбран метод вольтамперометрии.

**Цель данной работы** – показать возможность вольтамперометрического определения бетулина и диацетата бетулина (ДАБ) на золото-графитовом электроде в фармпрепаратах и БАДах.

**Материалы и методы.** Пентациклические тритерпеноиды определяли на вольтамперометрическом анализаторе СТА (ТУ 4215-001-20694097-98) в трехэлектродной системе. В качестве рабочего(индикаторного) электрода применяли графитовый электрод, модифицированный золотом в режиме «in situ». Графитовый электрод состоит из полиэтиленового корпуса, который заполнен электропроводящей смесью полиэтилена с техническим углеродом, и является твердым композитным электродом. Хлоридсеребряный электрод служил в качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода. 0,1N раствор NaOH применяли в качестве фонового электролита. Объектами исследования выбраны диацетат бетулина и бетулин. Для приготовления рабочих растворов природные соединения растворяли в смеси этанол: хлороформ в соотношении 3:1. В качестве модификатора применялся раствор золота (100 мг/дм<sup>3</sup>)

**Результаты.** В результате проведенных исследований нами подобраны рабочие условия определения диацетата бетулина, получены вольтамперограммы и градуировочная зависимость диацетата бетулина (рис. 1, 2.). Модифицирование поверхности электрода проводилось методом «in situ». Правильность полученных результатов проверяли методом «введено-найдено».



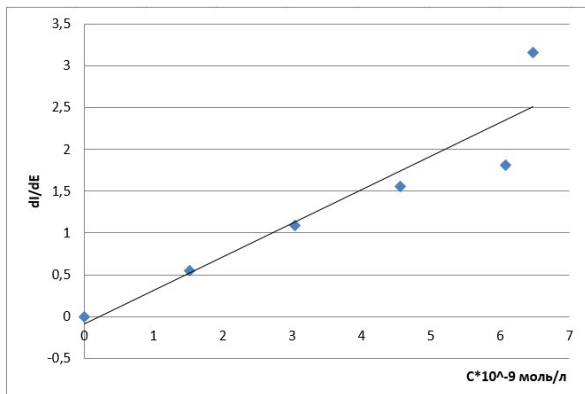


Рис.1. Градуировочная зависимость диацетата бетулина  
С Даб  $7,6 \cdot 10^{-9}$  моль/л

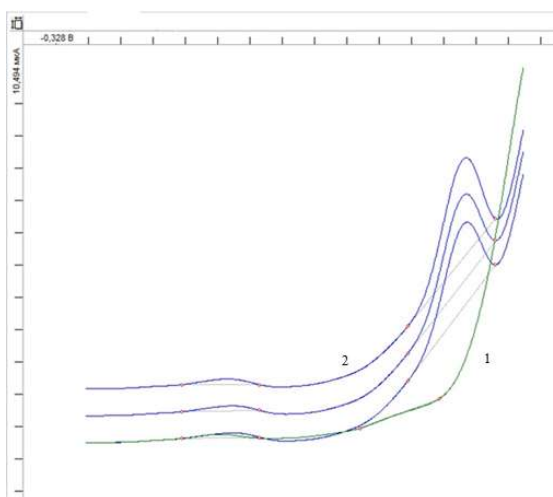


Рис.2. Вольтамперограмма диацетата бетулина на золото-графитовом электроде  
1. Фон 0,1н NaOH  
2. С Даб  $7,6 \cdot 10^{-9}$  моль/л

Исходя из выбранных условий вольтамперометрического определения природных соединений, был проведен эксперимент по совместному определению бетулина и диацетата бетулина в условиях: при потенциале накопления: -1.0В, фон: 0,1н NaOH, рабочий электрод: графитовый электрод, модифицированный золотом. На рисунке 3 приведена вольтамперограмма одновременного определения данных аналитов.

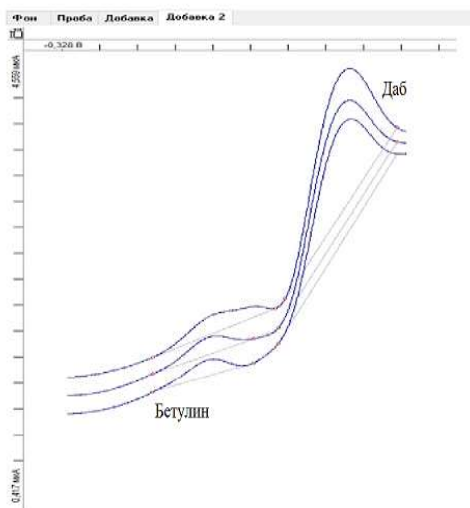


Рис.3. Вольтамперограмма бетулина и ДАБ  
С бетулина  $1,3 \cdot 10^{-9}$  моль/л;  
С Даб  $7,6 \cdot 10^{-9}$  моль/л

Для изучения взаимного влияния определяемых компонентов, нами исследована зависимость производной тока пика электроокисления бетулина от концентрации диацетата бетулина в растворе (рис 4.) а также получены градуировочные зависимости совместного определения бетулина и диацетата бетулина в модельных растворах. (рис.5).

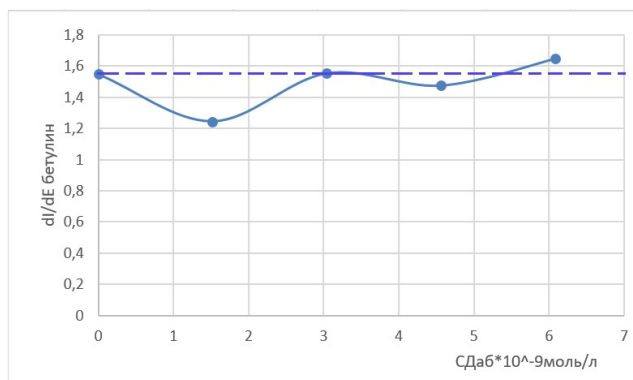


Рис.4. Зависимость производной тока пика электроокисления бетулина от содержания ДАБ  
 $S_{бет.} = 1,3 \cdot 10^{-9}$  моль/л

Из рис.4 видно, что при изменении соотношения содержания бетулина и ДАБ от 1:1 до 1:5 высота аналитического сигнала бетулина изменяется в пределах 15%, что удовлетворяет требованиям аналитического контроля данных компонентов.

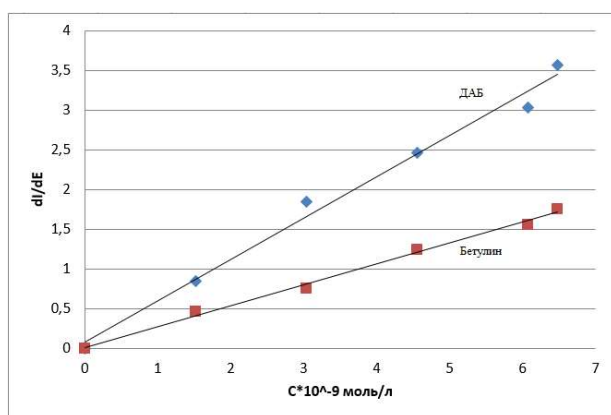


Рис.5. Градуировочная зависимость совместного определения бетулина и ДАБ на золото-графитовом электроде

На рисунке 5 наблюдается линейная зависимость высоты аналитического сигнала от концентрации определяемых веществ в растворе в достаточно широком диапазоне, что доказывает возможность их совместного определения. Для улучшения метрологических характеристик регистрации аналитических сигналов были проведены исследования по изучению зависимостей величины предельного тока природных компонентов от потенциала и времени электролиза. Использование оптимальных значений  $t_{э}$  и  $E_{э}$  позволяет регистрировать их вольтамперограммы с четко выраженными максимумами. Это приводит к повышению точности и разрешающей способности метода и позволяет экспрессно определять бетулин и ДАБ до  $8,5 \cdot 10^{-10}$  моль/л, что на 2 порядка ниже по сравнению с известными инструментальными методами, применяющимися в настоящее время при анализе фармацевтических препаратов и БАД.

**Заключение.** В результате проведенных исследований подобраны рабочие условия диацетата бетулина. Разработан высокочувствительный электрохимический метод определения содержания диацетата бетулина. Впервые проведены исследования при совместном определении бетулина и диацетата бетулина.

#### **Литература.**

1. Alqahtani, A., Hamid, K., Kam, A., Wong, K.H., Abdelhak, Z., Razmovski-Naumovski, V., Chan, K., Li K.M., Groundwater, P.W., Li, G.Q. The Pentacyclic Triterpenoids in Herbal Medicines and Their Pharmacological Activities in Diabetes and Diabetic Complications: *Current Medicinal Chemistry*. 2013; 20(7): 908-931.

2. Pavlova N.I, Savinova O.V. Antiviral activity of betulin. *Fititerapia*.2003;74:489.

3. G. A. Tolstikov, O. B. Flekhter, E. E. Shults, L. A. Baltina, and A. G. Tolstikov. *Khim. Interesakh Ustoich. Razvit.* 13.1.2005.
4. S. A. Kuznetsova, N. Yu. Vasil'eva, G. S. Kalacheva, N. M. Titova, E. S. Red'kina, and G. P. Skvortsova, *Zh. Sib. Fed. Univ. Khim.*, 2, 151.2008.
5. Koptelova E. N., Kutakova N. A., Tret'yakov S. I. Determination of composition of the ethanol extract from birch bark. *Izv. Vuzov. Lesn. Zh.* 2011;6:107-111.
6. Zhao Guoling. Simultaneous determination of betulin and betulinic acid in white birch bark using PR-HPLC. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2007; 43(3): 959-962.
7. Li Wei, Li Xian, Li Zhan-lin, et al. Chemical components of *Carpophorus Xanthoceras sorbifolia* Bunge. *J. Shenyang Pharm. Univ.* 2005;22(5): 345-347.

## СОВРЕМЕННЫЕ ЗАДАЧИ ЭЛЕКТРОАНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Г.Б. Слепченко\*, О.Л. Мезенцева, Е. Нурпейс, Е.С. Моисеева, А.А. Нурмаметова  
Томский политехнический университет, г. Томск, Россия  
ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия  
e-mail: slepchenkogb@mail.ru

**Ключевые слова:** электрохимические методы, вольтамперометрия, фармацевтические препараты, пробоподготовка, методика, лекарственные субстанции, электрохимический сенсор, модификация

**Введение.** Повышенный спрос на биотехнологические препараты увеличил предлагаемый ассортимент и формы выпуска данных фармацевтических препаратов на Российском рынке. Согласно 15 главе Решения Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 89 "Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» создатель нового синтезируемого фармацевтического препарата, при производстве и предложение его в качестве биоаналогичного (биоподобного) взамен оригинальному (референтному) лекарственному препарату, зарегистрированному на территории Союза, должен подтвердить его качество и безопасность, а также физико-химическую и биологическую аналогичность.

Также остается проблема количественного определения действующих веществ в готовом препарате. В случае определения сложных белковых соединений, к числу которых относятся интерферон, требуется применять высокоточное и дорогостоящее оборудование, но также и специфические реагенты, которые отвечают требованиям чувствительности и селективности. Так для определения препаратов на основе интерферона, фармакопейная статья рекомендуется для подтверждения подлинности использовать биологические методы, такие как метод пептидного картирования, электрофорез в полиакриламидном геле, изоэлектрическое фокусирование и обращенно-фазовая и эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография.

Применение физико-химического метода контроля для определения аналитов различной природы в фармацевтических препаратах обусловлен некоторыми критериями применимости: пределами определения определяемого содержания, числом определяемых компонентов, погрешностью анализа, экспрессностью, дешевизной определения.

Под такие требования подходят группа электрохимических методов, как потенциометрия, амперометрия, вольтамперометрические методы, в том числе, инверсионная вольтамперометрия (ИВ). Широкое использование этих методов возможно не только за счет создания новых компьютеризированных аналитических анализаторов, но и разработка большого числа вольтамперометрических методик количественного

химического анализа, которые метрологически аттестованы и удовлетворяют всем метрологическим требованиям, предъявляемым к методикам выполнения измерений.

**Цель работы.** Конкретной целью коллектива авторов являлась разработка органо-модифицированных сенсоров на основе солей арендиазония для вольтамперометрического определения интерферонов и цитокинов, антибиотиков и других лекарственных субстанций, а также разработка схемы подготовки пробы.

**Материалы и методы.** Все исследования проводились на компьютеризированном вольтамперометрическом комплексе типа СТА. В качестве рабочих растворов использовали фармацевтические субстанции лекарственных препаратов и государственные стандартные образцы элементов

**Результаты.** Получены исследования по спонтанной модификации электрохимических сенсоров синтезированными органическими веществами классами ароматических солей диазония, которые обладают уникальными свойствами и, в отличие от тетрафторборатов, хорошей растворимостью в воде, способностью образовывать монослои на электродах.

Помимо того, полученные таким образом модифицированные электроды, изготовленные из нетоксичных материалов, позволят заменить ферментные сенсоры и ртутьсодержащие электроды и найдут широкое применение в групповом анализе ряда органических веществ на основе измерения прямых электрохимических сигналов, но и разработать методическое сопровождение вольтамперометрического определения ряда органических веществ, признанные допинговыми и запрещенными к использованию у спортсменов.

Таким образом, модифицированные разнообразными функциональными группами электроды представляло фундаментальное значение для развития теории методов электрохимического анализа (вращающийся дисковый электрод, хронопотенциометрия, циклическая вольтамперометрия и др.) и создания новых сенсоров для определения белковых соединений и клеточных культур.

Впервые проведена количественная оценка ранее неизвестных емкостной и фарадеевской составляющих тока в процессах окисления-восстановления интерферона на органо-модифицированных электродах и исследованы электрохимические свойства интерферонов.

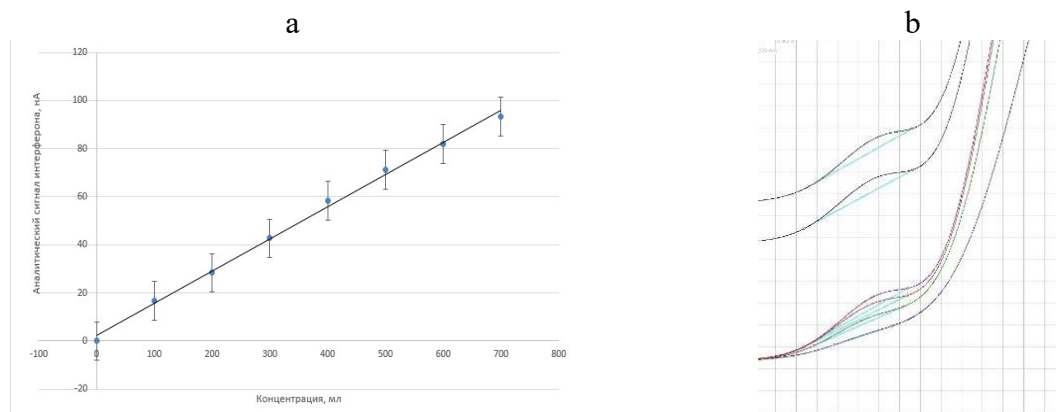


Рисунок. Градуировочная зависимость (а) и вольтамперограмма (б) интерферона гамма на модифицированном углеродсодержащим электроде и на фосфатном буфере (рН=8.5)

Главной задачей любого аналитического контроля является расширение числа измерения различных компонентов и повышения чувствительности их определения. Приведены результаты исследования по использованию электрохимического метода – амперометрического титрования для контроля содержания некоторых компонентов: ионов цинка, кальция, фторид и хромат ионов, аскорбиновой кислоты в ряде фармацевтических и биологических объектов.

Определены условия количественного определения указанных веществ: выбран фоновый электролит, индикаторный электрод, титрант. Установлены количественные соотношения определяемого компонента и титранта в эквивалентной точке, диапазон определяемых концентраций. Исследовано мешающее влияние сопутствующих определяемому компоненту в анализируемой пробе некоторых катионов и анионов: ионов меди, железа, кадмия, хлорид и сульфит ионов. Выбраны оптимальные условия пробоподготовки. Используя полученные в лаборатории результаты исследований по изучению влияния электрических полей на деструкцию органической матрицы, решена вторая, не менее важная задача, по созданию достаточно простых логарифмов пробоподготовки для вольтамперометрического определения широкого числа элементов (ртуть, мышьяк, селен, уран, иод, серебро и др.). Особенностью данного подхода является тот факт, что наряду с полным разрушением основы объекта используют частичное разложение, либо непосредственное определение без разрушения матрицы. Нами проведено большой объем исследований по созданию нового гибридного метода, включающий в себя пробоподготовку и анализ пробы в автоматизированных устройствах вольтамперометрических комплексов, а также автоматизированных комплексов пробоподготовки.

Большой объем исследований проведено для изучения вольтамперометрического поведения антибиотиков левомицитинового, пенициллинового, тетрациклинового, аминогликозидного рядов, антибиотиков группы карбопенемов, цефалоспоринов и др. и получения основных физико-химических закономерностей их поведения на модифицированных углеродсодержащих электродах с пределами обнаружения от  $1 \cdot 10^{-6}$  до  $1 \cdot 10^{-10}$  моль/л.

Коллективом авторов уделено огромное внимание изучению вольтамперометрического поведения определяемых аналитов на электрохимических сенсорах и осуществлен выбор основных условий их вольтамперометрического определения. В результате проведенных исследований получены данные по определению основных микроэлементов (ртути, иода, селена, мышьяка и железа), а также органических веществ – лекарственных субстанций (гесперидин, галонал, галодиф и т.д.) и некоторых флавоноидов (кверцетин, рутин и др.) на уровне  $10^{-7}$  -  $10^{-9}$  моль/дм<sup>3</sup> получены впервые. Использование новых электрохимических сенсоров расширило возможность определения многих аналитов и улучшило их метрологические характеристики.

Выбран алгоритмы вольтамперометрического определения, с использованием которых разработаны и метрологически аттестованы ряд методик количественного химического анализа фармацевтических препаратов и биоматериалов на содержание этих элементов.

С использованием результатов изучения физико-химических закономерностей вольтамперометрического поведения ряда органических веществ (витаминов, антибиотиков, серосодержащих и др.) показана возможность их электроосаждения с образованием малорастворимых солей.

Предварительная подготовка проб методом «мягкой» обработки по сравнению с традиционным способом существенно уменьшена во времени и показана возможность вольтамперометрического определения в мутных и окрашенных средах.

**Заключение.** В заключение отметим, что использование новых разработанных алгоритмов пробоподготовки, их оптимизация и проведение процедуры метрологической аттестации методик выполнения измерений делают электрохимические методы рутинным для анализа фармацевтических препаратов и биологически активных добавок. Все это способствует тому, что метод уже внедрен и используется в более чем 900 испытательных лабораториях России, конкурируя с широко распространенными инструментальными методами по таким характеристикам как чувствительность, точность, возможность одновременного определения нескольких элементов и низкая стоимость оборудования.

**Литература.**

1. Analysis of Pharmaceuticals and Biological Fluids Using Modern Electroanalytical Techniques. Sibel A. Özkan, Bengi Uslu, and Hassan Y. *Aboul-Enein Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 33(3):155–181. 2003.
2. Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals—A review Vinod K. Gupta, Rajeev Jain, Keisham Radhapyari, Nimisha Jadon, Shilpi Agarwal *Analytical Biochemistry*. Volume 408, Issue 2, 15 January 2011, Pages 179-196.
3. Recent Developments in Voltammetric Analysis of Pharmaceuticals Using Disposable Pencil Graphite Electrodes *Processes*. 2022; 10(3): 472. <https://doi.org/10.3390/pr10030472>
4. David, I.G.; Oancea, A.G.; Buleandra, M.; Popa, D.E.; Iorgulescu, E.E.; Ciobanu, A.M. Disposable pencil graphite electrode for diosmin voltammetric analysis. *Micromachines* 2021; 12: 351.
5. Buleandra, M.; Popa, D.E.; David, I.G.; Bacalum, E.; David, V.; Ciucu, A.A. Electrochemical behavior study of some selected phenylurea herbicides at activated pencil graphite electrode. Electrooxidation of linuron and monolinuron. *Microchem. J.* 2019;147:1109–1116.

## ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СОЕДИНЕНИЯ С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

А.Т. Цечёев<sup>1</sup>, Ю.Н. Карпенко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>ООО «Парма Клиникал», г. Пермь, Россия

e-mail: arthurtse@yandex.ru

**Ключевые слова:** 2-АБФПК, ВЭЖХ, валидация, количественное определение.

**Введение.** Онкологические заболевания занимают второе место среди причин смертности населения в мире. За последние 5 лет в РФ прирост новых случаев обнаружения раковых опухолей составил 12,15% [1]. 2-АБФПК – новое перспективное биологически активное соединение из класса замещенных производных 2-аминопиррола (рисунок 1) с доказанной цитотоксической активностью. Синтез соединения осуществлен в Пермской фармацевтической академии под руководством профессора Игидова Н.М. [2]. В настоящее время проводятся исследования по разработке методик оценки качества и стандартизации субстанции 2-АБФПК. Ранее нами были предложены условия определения 2-АБФПК методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием и оценена возможность использования метода для установления подлинности и количественного содержания [3].

**Цель** настоящей работы - валидация хроматографической методики количественного определения 2-АБФПК по показателям специфичность, линейность, правильность и прецизионность методики.

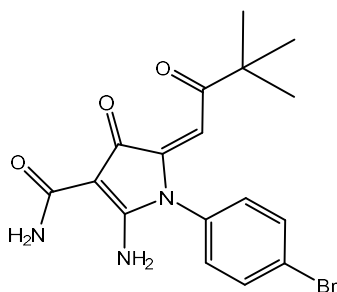


Рисунок 1. Структурная формула 2-АБФПК (2-амино-1-(4-бромфенил)-5-(3,3-диметил-2-оксобутилиден)-4-оксо-4,5-дигидро-1H-пиррол-3-карбоксамид)

**Материалы и методы.** Объекты исследования: субстанция 2-АБФПК (серия 0223), стандартный образец (СО) 2-АБФПК с содержанием основного вещества 100,04%. В

качестве СО использовали очищенную субстанцию соединения (серия 0922). Хроматографический анализ проводили на жидкостном хроматографе «LC-20 Prominence» (Shimadzu) с диодно-матричным детектором SPD-M20A. Хроматографическая колонка: Luna C18(2) 100 А (250×4,6 мм, 5 мкм) (Phenomenex). Подвижная фаза: фосфатный буферный раствор (рН 6,8) – ацетонитрил (50:50). Температура термостата колонки 40°C, скорость потока 1 мл/мин. Длина волны детектирования 260 нм. Фосфатный буферный раствор готовили в соответствии с ОФС «Буферные растворы» [4].

Методика приготовления испытуемого раствора и раствора СО: около 0,025 г (точная навеска) субстанции (или СО) помещают в мерную колбу на 25 мл, растворяют в 10 мл метанола, доводят тем же растворителем до метки. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу на 100 мл, доводят объем раствора метанолом, перемешивают и фильтруют через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата.

**Результаты.** Для подтверждения специфичности методики были проанализированы хроматограммы подвижной фазы (ПФ), растворителя (метанола), испытуемого раствора и раствора СО. Времена удерживания пиков 2-АБФПК на хроматограммах испытуемого раствора и раствора СЛ совпадают. На хроматограммах ПФ и растворителя отсутствуют пики, близкие ко времени удерживания изучаемого соединения.

Линейность методики исследовалась на 5 модельных растворах 2-АБФПК с содержанием исследуемого вещества от 80 до 120% от его номинальной концентрации в растворе СО. Калибровочный график представлен на рисунке 2. Уравнение линейной регрессии имеет вид  $S = 37339400 \times C - 7897,8$ . Значение t-критерия Стьюдента свободного члена уравнения не превышает табличное (3,18 при P = 95%, n = 5). Коэффициент корреляции составил 0,9998, что подтверждает линейность методики.

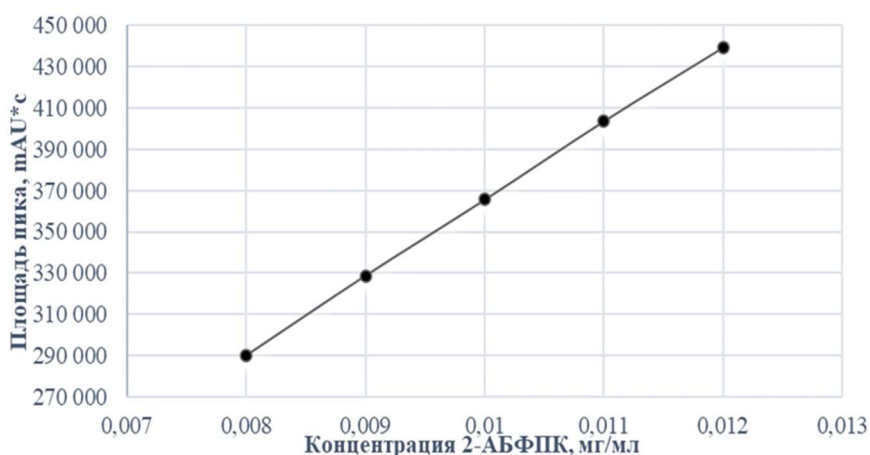


Рис. 2 График линейной зависимости площади хроматографического пика от концентрации 2-АБФПК

Оценка правильности методики проводилась путем анализа модельных растворов с концентрациями 80, 100 и 120% от номинальной концентрации 2-АБФПК в растворе СО. Для каждого уровня концентрации готовили по три модельных раствора. Результаты анализа представлены в таблице 1:

Таблица 1. Оценка правильности методики

№	Введено, г	S пика, мАУ*сек	Найдено, г	Открываемость R, %
1	0,0205	297 887	0,0206	100,49
2	0,0209	299 874	0,0207	99,04
3	0,0203	291 564	0,0202	99,51
4	0,0250	365 590	0,0253	101,2
5	0,0256	365 497	0,0253	98,83
6	0,0254	365 111	0,0253	99,61

№	Введено, г	S пика, mAU*сек	Найдено, г	Открываемость R, %
7	0,0304	437 471	0,0303	99,67
8	0,0301	440 941	0,0305	101,33
9	0,0308	440 856	0,0305	99,03
$R_{cp} = 99,86\%$ $SD = 0,94$ $RSD = 0,94\%$ $\Delta R_{cp} = \pm 0,72\%$				
Критерий Стьюдента $t_{расч.} = 0,45 < t_{табл.} = 2,31$				

Открываемость 2-АБФПК находится в пределах 98 – 102%, истинное значение открываемости лежит внутри доверительных интервалов среднего результата анализа. Расчетное значение критерия Стьюдента не превышает табличного значения, таким образом результаты свободны от значимой систематической ошибки.

**Прецизионность** методики оценивалась как сходимостъ и внутрилабораторная воспроизводимостъ. Результаты анализа субстанции, полученные двумя аналитиками, представлены в таблице 2:

Таблица 2. Оценка прецизионности методики

Аналитик 1			Аналитик 2		
Навеска, г	S пика, mAU*сек	Расчитанное содержание, %	Навеска, г	S пика, mAU*сек	Расчитанное содержание, %
0,0251	365 548	100,81	0,0253	368 103	100,71
0,0250	364 421	100,90	0,0252	364 415	100,10
0,0255	366 998	99,62	0,0252	362 215	99,49
0,0254	367 457	100,14	0,0257	371 156	99,97
0,0254	369 875	100,80	0,0257	370 251	99,72
0,0250	362 547	100,38	0,0255	366 741	99,55
$\%cp = 100,44$ $SD = 0,50$ $RSD = 0,50\%$ $S^2 = 0,25$			$\%cp = 99,92$ $SD = 0,45$ $RSD = 0,45\%$ $S^2 = 0,20$		
Критерий Фишера: $F_{расч.} = 1,25 < F_{табл.} = 5,05$					

Установлено, что относительное стандартное отклонение результатов определения, полученным каждым из аналитиков, не превышает 1%. Рассчитанный критерий Фишера не превышает табличных значений, что свидетельствует о статистической незначимости различий между средними результатами, полученными каждым из аналитиков.

**Заключение.** Таким образом, нами была проведена валидационная оценка методики количественного определения нового биологически активного соединения 2-АБФПК в субстанции методом ВЭЖХ. Установлено, что разработанная методика обладает специфичностью, линейностью, прецизионность, правильностью в выбранном аналитическом диапазоне.

#### Литература.

1. Палагина А.А. Анализ российского рынка противоопухолевых цитостатических лекарственных препаратов. / Инновационные направления исследований в сфере социально-гуманитарных наук: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции 29 марта 2023 г. / Под общ. ред. Е. П. Ткачевой. – Белгород: ООО Агентство перспективных научных исследований (АПНИ), 2023. – С. 21 – 29.

2. 2-Амино-1-(4-бромфенил)-5-(3,3-диметил-2-оксобутилиден)-4-оксо-4,5-дигидро-1H-пиррол-3-карбоксамид, проявляющий цитотоксическую активностъ в отношении опухолевых клеток человека: пат. 2753480 Рос. Федерация. № 2020130076; заявл. 14.09.20; опубл. 17.08.21, Бюл.№23. 9 с.;



4. Цечёев А. Т., Карпенко Ю.Н. Разработка условий ВЭЖХ для оценки качества нового биологически активного соединения с цитотоксической активностью. // Всероссийская научно-практическая онлайн-конференция международным участием «Фармацевтическое образование СамГМУ. История, современность, перспективы», посвященная 50-летию фармацевтического образования СамГМУ (Самара, 26-27 октября 2021 г.): Сборник материалов – Самара: ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2021 – С. 185–190.

5. ОФС.1.3.0003.15 «Буферные растворы» // Государственная Фармакопея РФ XIV изд. Т. 1. 2018. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/1823/> (дата обращения: 03.08.23).

## **Системы доставки лекарственных средств для тераностики**

### ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИИ РАКОВЫХ КЛЕТОК НА НОСИТЕЛИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Е.Б. Акимова<sup>1,2\*</sup>, Е.Г. Комарова<sup>1</sup>, Е.А. Казанцева<sup>1</sup>, Е.Д. Порохова<sup>1,3</sup>, И.А. Хлусов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>Томский политехнический университет, г. Томск, Россия

<sup>3</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

e-mail: akimovaEB@yandex.ru

**Ключевые слова:** кальций-фосфатное покрытие, носитель лекарственного средства, 5-фторурацил, лазерная интерференционная микроскопия, морфометрия.

**Введение.** В настоящее время актуальным направлением в медицине является разработка новых имплантируемых систем местной доставки лекарственных препаратов. При разработке таких систем необходимо изучение кинетики выхода препарата из матрицы и эффективности его действия. Одним из перспективных методов неинвазивной оценки эффективности действия лекарств на клетки является метод лазерной интерференционной микроскопии (ЛИМ), позволяющий проводить *in situ* измерения морфометрических показателей клеток и диагностировать изменение этих показателей со временем [1].

**Цель.** Исследование методом ЛИМ *in situ* реакции раковых клеток линии MCF-7 на выделяемый из кальций-фосфатных (КФ) носителей противоопухолевый препарат 5-фторурацил (5-ФУ).

**Материалы и методы.** В работе матрицы-носители препарата 5-ФУ были получены следующим образом: на поверхности титановых образцов формировали методом микродугового оксидирования толстые (50-60 мкм) объемно-пористые КФ покрытия, затем их импрегнировали противоопухолевым препаратом 5-ФУ. Методика подготовки матриц-носителей детально описана в работе [2]. Эффективность действия выделяемого из носителей препарата 5-ФУ оценивалась в исследованиях *in vitro* в динамике 24, 48 и 72-часового прямого контакта с раковыми клетками линии MCF-7 [2].

Морфометрические показатели клеток после прямого контакта с носителями изучали методом ЛИМ на программно-аппаратном комплексе ЛИМ (ИФПМ СО РАН, Россия). Сперва методом оптической микроскопии (ОМ) получали изображения всей культуры клеток *in situ*, далее выбирали клетку и снимали ее в режиме интерференции. Под выборку попадали как здоровые клетки, так и апоптотные/некротические, имеющие не характерную для здоровой клетки морфологию. По фазовым изображениям клеток, полученным в режиме интерференции, определяли их морфометрические показатели, как морфологические признаки клеточной смерти, индуцированной выделившимся из носителя препаратом.

**Результаты.** Исследования методом ОМ показали, что в динамике 24-72 часового сокультивирования клеток линии MCF-7 с КФ носителем без лекарства клетки хорошо росли и пролиферировали – площадь клеток на оптических изображениях увеличилась в 2,3 раза от 59,3 до 136,8 тыс. мкм<sup>2</sup>. В то время как при сокультивировании клеток с КФ носителями цитостатика 5-ФУ (5ФУ/КФ носитель) наблюдалось уменьшение площади клеток в 16,7 раз от 68,1 до 4,1 тыс. мкм<sup>2</sup> (рис. 1, а, б). Это свидетельствует о том, что препарат 5-ФУ, импрегнированный в носители, лимитирует процесс дифференциации раковых клеток и инициирует процесс их гибели.

Далее в режиме интерференции были получены фазовые изображения отдельных клеток (рис. 1, в) и построены их профили поперечного сечения, проходящие через максимальную высоту ядер клеток (рис. 1, г). Анализ данных изображений позволил определить следующие морфометрические показатели клеток: площадь продольного сечения ядра, площадь поперечного сечения ядра, высота ядра и коэффициент округлости ядра. Для КФ носителей без лекарства были установлены следующие изменения морфометрических показателей клеток в динамике 24 – 72-часового взаимодействия: площадь продольного сечения и высота ядра клетки увеличивались соответственно от 153,5 до 180,5 мкм<sup>2</sup> и от 182,4 до 221,4 нм (табл. 1). При этом статистически значимого изменения величины площади поперечного сечения и коэффициента округлости ядра не наблюдалось, эти показатели составляли соответственно 2,5 – 2,7 мкм<sup>2</sup> и 0,6 – 0,7 (табл. 1). Данные результаты указывают на то, что раковые клетки хорошо адгезируют к поверхности КФ носителя без лекарства и увеличиваются в размерах, что согласуется с результатами ОМ.

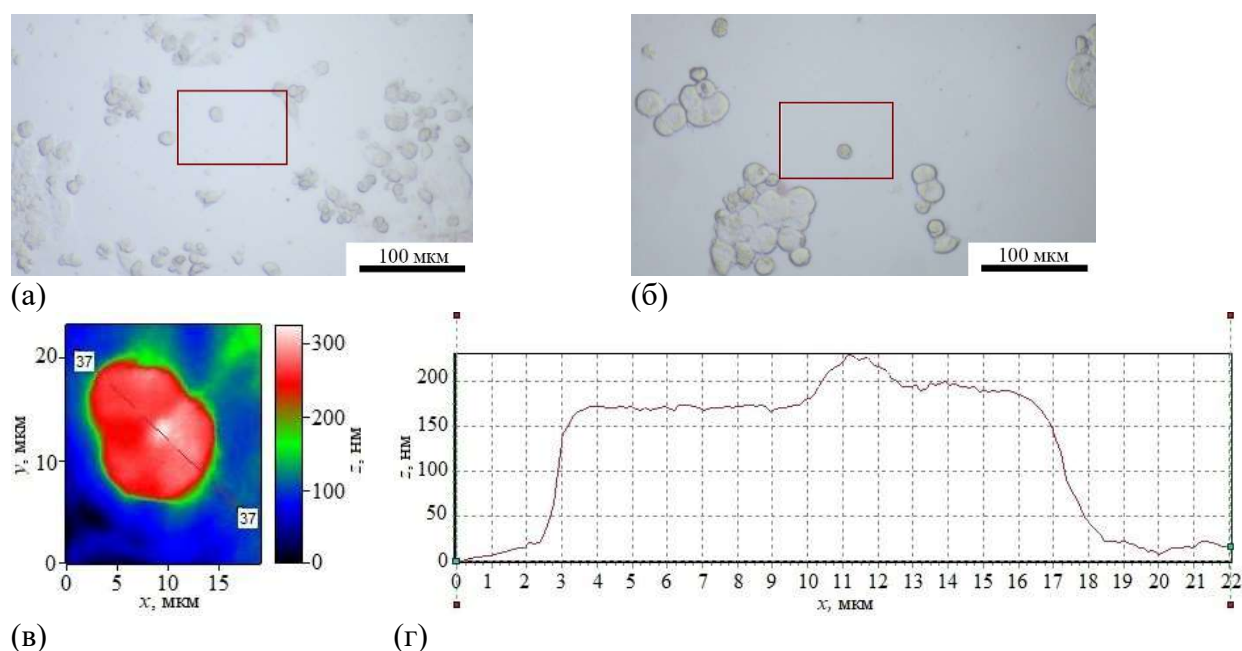


Рисунок 1. Оптические изображения клеток линии MCF-7 после прямого контакта с носителем 5-ФУ в течение 24 (а) и 72 часов (б), фазовое изображение клетки (в) и профиль поперечного сечения клетки (г)

Импрегнация носителей препаратом 5-ФУ привела к значительному уменьшению площади продольного и поперечного сечения ядер (в 1,5 и 1,3 раза, соответственно), по сравнению с покрытиями без лекарства уже через 24 часа наблюдения. Увеличение времени сокультивирования от 24 до 72 часов привело к уменьшению площадей продольного и поперечного сечения ядер соответственно в 1,5 и 1,3 раза до минимальных значений 68,6 и 1,6 мкм<sup>2</sup>. Также наблюдалось снижение величины коэффициента округлости клеточного ядра от 0,6 до 0,4, что может быть связано с фрагментацией ядра и выходом его содержимого в цитоплазму клеток. Это указывает, что в результате высвобождения 5-ФУ из носителей инициируется процесс гибели клеток путем апоптоза [3].

Таблица 1. Морфометрические показатели опухолевых клеток MCF-7 в динамике *in vitro* взаимодействия с носителями 5-ФУ согласно ЛИМ, Me ( $Q_1 - Q_2$ )

Морфометрический показатель	КФ носитель (контроль)			5ФУ/КФ носитель		
	24 ч	48 ч	72 ч	24 ч	48 ч	72 ч
Площадь продольного сечения ядра, мкм <sup>2</sup>	153,5 (118,4–212,9) <i>n</i> = 32	152,2 (113,1–195,2) <i>n</i> = 17	180,5 (64,1–258,7) <i>n</i> = 27	100,8 (65,1–173,3) <i>n</i> = 27	132,8 (82,5–197,8) <i>n</i> = 61	68,6 (36,7–90,3) <i>n</i> = 34
Площадь поперечного сечения ядра, мкм <sup>2</sup>	2,7 (2,2–3,2) <i>n</i> = 32	2,3 (2,0–3,0) <i>n</i> = 17	2,5 (1,6–3,2) <i>n</i> = 27	2,1 (1,9–2,6) <i>n</i> = 27	2,3 (1,8–2,8) <i>n</i> = 61	1,6 (1,2–2,1) <i>n</i> = 34
Высота ядра, нм	182,4 (172,2–227,9) <i>n</i> = 33	221,4 (182,4–250,0) <i>n</i> = 17	221,4 (206,7–227,9) <i>n</i> = 27	224,7 (177,6–244,1) <i>n</i> = 27	193,8 (172,2–234,8) <i>n</i> = 61	221,4 (206,7–227,9) <i>n</i> = 34
Коэффициент округлости ядра*	0,6 (0,4–0,8) <i>n</i> = 45	0,7 (0,6–0,8) <i>n</i> = 30	0,7 (0,5–0,8) <i>n</i> = 27	0,6 (0,5–0,7) <i>n</i> = 38	0,6 (0,4–0,7) <i>n</i> = 67	0,4 (0,3–0,7) <i>n</i> = 34

Примечание: *n* – число обработанных изображений, \* – коэффициент округлости ядра (значение 1,0 соответствует правильному кругу).

**Заключение.** Методом ЛИМ *in situ* в динамике сокультивирования 24 – 72 часа носителей противоопухолевого препарата с раковыми клетками установлено, что импрегнация носителей цитостатиком 5-ФУ способствует уменьшению размеров и гибели раковых клеток.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-73-10265, <https://rscf.ru/project/21-73-10265/>

#### Литература

1. Игнатъев П.С., Индукаев К.В., Осипов П.А., Сергеев И.К. Лазерная интерференционная микроскопия для нанобиотехнологий. *Медицинская техника*. 2013;1(227):27–30.

2. Prosolov K.A., Komarova E.G., Kazantseva E.A., Lozhkomoev A.S., Kazantsev S.O., Bakina O.V., Mishina M.V., Zima A.P., Krivoshchekov S.V., Khlusov I.A., Sharkeev Yu.P. UMAON Calcium Phosphate Coatings Designed for Drug Delivery: Vancomycin, 5-Fluorouracil, Interferon  $\alpha$ -2 $\beta$  Case. *Materials*. 2022;15:4643(24). DOI:10.3390/ma15134643.

3. Nikolettou V., Markaki M., Palikaras K., Tavernarakis N. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research*. 2013;1833(12):3448–3459. DOI:j.bbamcr.2013.06.001.

## ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ ТАРГЕТНЫХ РАДИОНУКЛИДНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭКСПРЕССИИ HER2 В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

Р.Н. Варвашеня<sup>1,2\*</sup>, Е.А. Безверхняя<sup>1,2</sup>, М.С. Третьякова<sup>2</sup>, Ф.Ш. Юлдашева<sup>2</sup>, А.С. Фоминых<sup>2</sup>, Е.В. Плотников<sup>2</sup>, А.А. Шульга<sup>2,3</sup>, Е.В. Коновалова<sup>2,3</sup>, А.Г. Воробьева<sup>4</sup>, М.В. Белоусов<sup>1,2</sup>, В.М. Толмачев<sup>2,4</sup>, М.С. Ларькина<sup>1,2</sup>, С.М. Деев<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>НИ Томский политехнический университет, г. Томск, Россия

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, г. Москва, Россия

<sup>4</sup>Уппсальский университет, г. Уппсала, Швеция

e-mail: mr.varvashenya@mail.ru

**Ключевые слова:** скаффолд-белки, таргетная радионуклидная тераностика, DARPin, HER2, технеций-99М

**Введение.** Стремительное развитие персонифицированной медицины позволяет использовать эффективные молекулярные мишени для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с последующим назначением таргетной терапии. В качестве перспективной мишени на протяжении двух последних десятилетий особый интерес вызывает изучение рецептора 2 эпидермального фактора роста человека HER2/neu (иначе HER2) в норме экспрессирующегося на поверхности всех эпителиальных клеток [1].

Пациенты с опухолями с высокой гиперэкспрессией HER2 могут успешно лечиться анти-HER2-моноклональными антителами — трастузумабом и пертузумабом. Эти терапевтические средства обычно используются для лечения рака молочной железы и гастроэзофагеальной карциномы [2].

Молекулярная визуализация с использованием таргетной молекулы, меченной  $^{99m}\text{Tc}$ , является очень многообещающим подходом, учитывая низкую цену и доступность генераторов  $^{99m}\text{Tc}$ , а также широкое использование камер ОФЭКТ и ОФЕКТ / КТ. Следовательно, создание и изучение новых таргетных конструкций на основе  $^{99m}\text{Tc}$  и таргетных молекул неиммуноглобулиновой природы варианта DARPIn G3, высокоспецифичных к онкомаркеру HER2/neu, является актуальным и новым направлением для радионуклидной диагностики в онкологии.

**Цель.** Исследование *in vitro* и *in vivo* новых таргетных агентов на основе  $^{99m}\text{Tc}$  и высокоспецифичных таргетных молекул неиммуноглобулиновой природы DARPIn для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией онкомаркера HER2/neu.

**Материалы и методы.** Чтобы оценить влияние различных хелаторов на биораспределение  $^{99m}\text{Tc}$ -меченых DARPins, нами были исследованы варианты, содержащие хелаторы Glu-Glu-Glu-Cys, (G3-E<sub>3</sub>C), Gly-Gly-Gly-Cys, (G3-G<sub>3</sub>C), Gly-Gly-Gly-Ser-Cys, соединенным с С-концом DARPIn G3 через -(Gly-Gly-Gly-Ser)-линкер (G3-(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>C).

Были проведены исследования *in vitro* по определению специфичности, интернализации и оценке аффинности. Для этого использовали клеточные линии раковых клеток человека с различным уровнем экспрессии HER2/neu: SK-BR-3 > SKOV-3 > PC-3.

Так же были проведены исследования *in vivo* по оценке биораспределения спустя 4 часа после инъекции исследуемого радиокомплекса, для этого использовали мышей линии CD1. Исследования таргетной специфичности *in vivo* проводили с использованием иммунодефицитных мышей линии Nu/j. В качестве сравнения использовали экспериментальный препарат, прошедший первую стадию клинических исследований (HE)<sub>3</sub>-G3 [3].

Для определения значимых различий ( $p < 0,05$ ) использовали непарный двусторонний t-тест или ANOVA анализ апостериорный с поправкой Бонферрони.

**Результаты.** Изучение специфичности *in vitro* всех вариантов продемонстрировало, что связывание с SKOV-3, SK-BR-3 и PC-3 является специфичным на высоком уровне и пропорционально уровню экспрессии HER2 в клетках, при этом при блокировании рецепторов избытком немеченого белка отмечается значительное снижение связывания радиокомплексов во всех группах клеток.

Интернализация всех вариантов DARPins в SKOV-3 происходила достаточно медленно, что создает предпосылки для эффективного удержания радиоактивной метки внутри опухолевой клетки.

Оценка аффинности методом насыщения показала, что все варианты связываются с рецепторами HER2 на поверхности клеток SKOV-3 с  $K_D$  в наномолярном диапазоне, что характеризует данные варианты как высокоаффинные к целевым рецепторам.

Использование различных хелаторов на основе пептидов оказало очень сильное влияние на накопление в почках, печени и селезенке у мышей линии CD1. Вариант [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-(HE)<sub>3</sub>-G3 имел самое высокое сохранение активности в почках. Поглощение [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-E<sub>3</sub>C почками было в 2,4 раза ниже, чем поглощение [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-(HE)<sub>3</sub>-G3, но все же намного выше, чем поглощение [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-G<sub>3</sub>C и [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>C. Поглощение

печенью [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-G<sub>3</sub>C и [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>C имели промежуточные значения, и не было существенной разницы между поглощением печенью этих конструкций.

Кроме того, вариант [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-(HE)<sub>3</sub>-G3 имел самое низкое поглощение в легких, селезенке и костях ( $p < 0,05$ ). Принимая во внимание неблагоприятно высокое поглощение печенью, вариант [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-E<sub>3</sub>C был исключен из дальнейших оценок *in vivo*.

Поглощение всех  $^{99m}\text{Tc}$ -меченых DARPins в ксенотрансплантатах SKOV-3 у мышей линии Nu/j было значимо ( $p < 0,005$ ) выше, чем в ксенотрансплантатах PC-3. Поглощение варианта [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-G<sub>3</sub>C в ксенотрансплантатах SKOV-3 было значимо ( $p < 0,05$ ) ниже, чем поглощение варианта [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-(HE)<sub>3</sub>-G3. Поглощение [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-G<sub>3</sub>C и [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-G3-(G<sub>3</sub>S)<sub>3</sub>C значимо не различалось в ксенотрансплантатах SKOV-3.

**Заключение.** Результаты данного исследования показали, что таргетные конструкции на основе каркасного белка DARPIn G3 и  $^{99m}\text{Tc}$  продемонстрировали специфическое и высокоаффинное связывание с HER2-экспрессирующими раковыми клетками человека *in vitro*, специфическое накопление в HER2-экспрессирующих ксенотрансплантатах *in vivo* и благоприятное распределение в органах и тканях лабораторных животных.

В сравнении с клинически апробированным вариантом [ $^{99m}\text{Tc}$ ]Tc-(HE)<sub>3</sub>-G3 новые конструкции приближаются к нему по основным характеристикам и к тому же имеют существенно ниже поглощение в почках, что делает их перспективными не только для радионуклидной диагностики, но и таргетной терапии.

#### **Литература.**

1. Ibrahim T. Hormonal receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki67 discordance between primary breast cancer and paired metastases: clinical impact. *Oncology*. 2013;84(3):150-157. DOI: 10.1159/000345795

2. Giordano, S.H.; Temin, S.; Chandarlapaty, S.; Crews, J.R.; Esteva, F.J.; Kirshner, J.J.; Krop, I.E.; Levinson, J.; Lin, N.U.; Modi, S. ; et al. Systemic Therapy for Patients with Advanced Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2018;36:2736–2740. DOI: 10.1200/JCO.2018.79.2697

3. Bragina O, Chernov V, Schulga A, Konovalova E, Garbukov E, Vorobyeva A, Orlova A, Tashireva L, Sörensen J, Zelchan R, Medvedeva A, Deyev S, Tolmachev V. Phase I Trial of  $^{99m}\text{Tc}$ -(HE)<sub>3</sub>-G3, a DARPIn-Based Probe for Imaging of HER2 Expression in Breast Cancer. *J Nucl Med*. 2022;63(4):528-535. DOI: 10.2967/jnumed.121.262542

## ПРИМЕНЕНИЕ АСКОРБАТА ЛИТИЯ В КАЧЕСТВЕ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПРИ НЕЙТРОННОМ ОБЛУЧЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КУЛЬТУР

А.Г. Дрозд\*, М.С. Третьякова, Е.В. Плотников

Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск,

Россия

e-mail: agd7@tpu.ru

**Ключевые слова:** лучевая терапия, радиосенсибилизация, нейтронное излучение, аскорбат лития.

**Введение.** Успех лучевой терапии при лечении онкологических заболеваний зависит от радиочувствительности раковых клеток. Для преодоления резистентности применяются радиосенсибилизирующие препараты [1]. Интерес в этом контексте представляют литиевые соли аскорбиновой кислоты и ее производные. Имеющаяся экспериментальная информация и литературные данные доказывают, что эти соли лития обладают радиосенсибилизирующими свойствами, что перспективно для комбинированного использования в лучевой терапии опухолей [2]. Важно отметить, что фармакологические препараты на основе солей лития уже многие десятилетия успешно применяются в психиатрии, хорошо изучены и безопасны в терапевтических дозах [3]. В данной работе изучено влияние аскорбата лития на жизнеспособность опухолевых культур при

комбинированном нейтронном облучении. Нейтронное излучение является плотноионизирующим и используется в терапии наиболее резистентных опухолей. Разработка и изучение новых радиосенсибилизаторов с минимальными побочными эффектами является актуальной задачей в фармакологии.

**Цель.** Целью данной работы являлось изучение влияния аскорбата лития в качестве радиосенсибилизатора на опухолевые культуры НСТ-116 (колоректальный рак) и РС-3 (рак предстательной железы) при воздействии нейтронного излучения.

**Материалы и методы.** Для оценки действия аскорбата лития использовались клеточные линии аденокарциномы простаты РС-3 и колоректального рака НСТ-116. Концентрации раствора аскорбата лития составляли 0,1-0,8 мМ. Поток нейтронов получали на циклотроне Р7-М (ТПУ). Доза излучения составляла 0,5 – 3 Гр. Оценку метаболической активности проводили с помощью МТТ-теста. Оптическую плотность раствора измеряли на планшетном спектрофотометре при длине волны 570 нм.

**Результаты.** На рисунках 1, 2 представлены результаты воздействия различных концентраций аскорбата лития на опухолевые клетки. В результате МТТ-теста было выявлено, что при концентрации свыше 0,3 мМ наблюдается практически полная клеточная гибель, поэтому влияние излучения и радиосенсибилизатора целесообразно оценивать до данной концентрации.

В ходе исследования было доказано радиосенсибилизирующее действие аскорбата лития. При использовании нейтронного излучения совместно с аскорбатом лития наблюдается значительный дозозависимый цитотоксический эффект. Опухолевые клетки чувствительны к препарату в минимальных концентрациях, эффективной концентрацией является 0,1 мМ в сочетании с нейтронным излучением в исследуемом диапазоне доз, в результате чего жизнеспособность клеток снизилась более чем на 50%. Дозозависимость жизнеспособности клеток сохраняет линейный характер до достижения концентрации аскорбата лития 0,3 мМ. Без применения сенсибилизатора линия аденокарциномы простаты показала устойчивость к небольшим дозам нейтронного излучения (0,5 и 1 Гр).

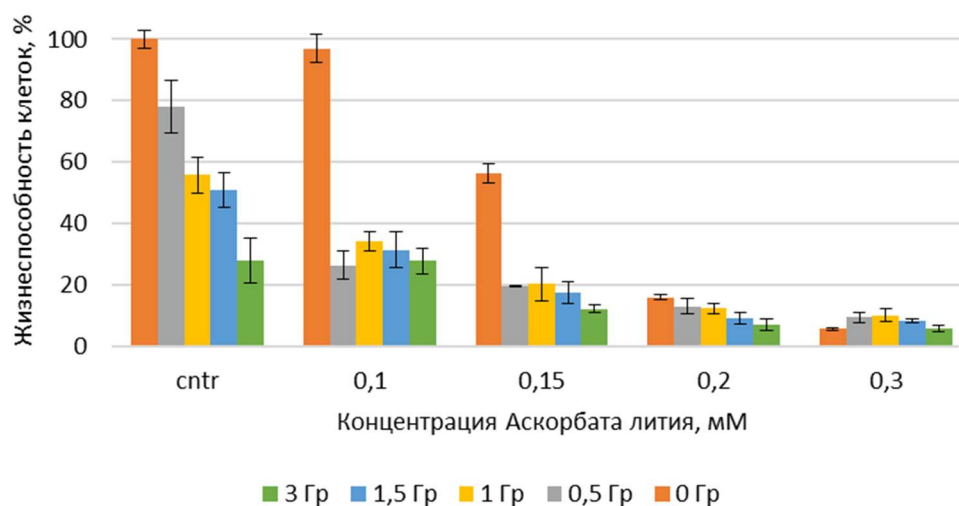


Рисунок 1. Влияние нейтронного излучения в сочетании с аскорбатом лития на клеточную линию НСТ-116

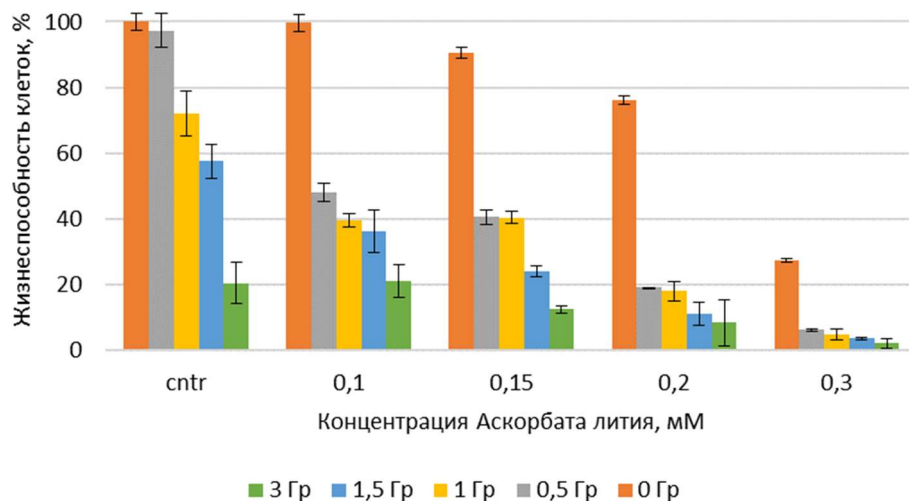


Рисунок 2. Влияние нейтронного излучения в сочетании с аскорбатом лития на клеточную линию РС-3

При воздействии высоких концентраций аскорбата лития совместно с нейтронным излучением возникает продукция активных форм кислорода и нарастание окислительного стресса, что усиливает повреждение клеток и обуславливает сенсibiliзирующий эффект.

**Заключение.** Совместное использование нейтронного излучения с аскорбатом лития приводит к более выраженному дозозависимому цитотоксическому эффекту. Основным радиосенсибилизирующим механизмом аскорбата лития является прооксидантное действие, вызывающее повреждение клеток.

#### **Литература.**

1. Gong L, Zhang Y, Liu C, Zhang M, Han S. Application of Radiosensitizers in Cancer Radiotherapy. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:1083-1102. doi: 10.2147/IJN.S290438.
2. Tretayakova M., Brazovskii K., Belousov M., Artamonov A., Stuchebrov S., Gogolev A., Larkina M., Sukhikh E. and Plotnikov E.\*, Radiosensitizing Effects of Lithium Ascorbate on Normal and Tumor Lymphoid Cells under X-ray Irradiation, *Current Bioactive Compounds*. 2023; 19(8) : e030523216456. <https://dx.doi.org/10.2174/1573407219666230503094421>
3. Venturelli, S., Sinnberg, T., Niessner, H. et al. Molecular mechanisms of pharmacological doses of ascorbate on cancer cells. *Wien Med Wochenschr*, 2015;165(11-12):251-257. doi:10.1007/s10354-015-0356-7.

## ИССЛЕДОВАНИЕ IN VITRO ТАРГЕТНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ КОНЪЮГАТОВ НА ОСНОВЕ АНТИ-HER2 КАРКАСНОГО БЕЛКА И ИНГИБИТОРА ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ТУБУЛИНА

А.А. Прач<sup>1\*</sup>, В.В. Боденко<sup>1,2</sup>, А.С. Фоминых<sup>1</sup>, М.С. Третьякова<sup>1</sup>, Р.Н. Варвашеня<sup>1</sup>, М.С. Ларькина<sup>1,2</sup>, Е.В. Плотников<sup>1</sup>, М.В. Белоусов<sup>1,2</sup>, С.М. Деев<sup>1,3</sup>, Е.В. Коновалова<sup>1,3</sup>, А.А. Шульга<sup>1,3</sup>, А.М. Орлова<sup>4</sup>, В.М. Толмачев<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский центр (НИЦ) «Онкотераностика», Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ), г. Томск, Россия

<sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемакина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, Россия

<sup>4</sup>Университет Уппсалы, г. Уппсала, Швеция

e-mail: nastya.prach@mail.ru

**Ключевые слова:** каркасные белки, DARPIn G3, таргетная терапия, HER2, эмтанзин.

**Введение.** Рецептор эпидермального фактора роста человека (HER2) часто сверхэкспрессируется при различных видах рака, таких как рак яичников, молочной

железы, желудка [1]. Наличие HER2-положительного фенотипа, наблюдаемого примерно у 15% пациентов, представляет большой научный интерес, поскольку сверхэкспрессия HER2 связана с худшим прогнозом при отсутствии терапии. Наиболее распространенным таргетным препаратом при терапии рака являются моноклональные антитела (mAb). Прогрессирование заболевания при лечении с конъюгатом на основе mAb, связанное с большим размером молекул (150 кДа) и стерическими затруднениями при связывании, делает поиск новых таргетных препаратов актуальной задачей [2]. Альтернативой могут стать перспективные терапевтические конъюгаты, состоящие из цитотоксического агента, ингибирующего полимеризацию тубулина, и таргетной молекулы – каркасного белка DARPIn G3, обладающего небольшими размерами (14–18 кДа), пиколярной аффинностью к рецептору HER2 (91 пмоль/л) и высокой термостабильностью [3]. Эффективной стратегией для увеличения времени пребывания молекул в крови является добавление в конструкцию альбумин-связывающего домена (ABD), который за счет нековалентного взаимодействия с альбумином человека снижает захват в почках [4].

**Цель.** Исследование *in vitro* терапевтических конъюгатов на основе цитотоксического агента эмтанзина и гибридных белков, состоящих из двух молекул DARPIn G3, к C- или N-концу которых присоединен альбумин-связывающий домен.

**Материалы и методы.** Конъюгаты экспрессировались в системе *E. Coli* штамм BL21(DE3) в виде слитых белков DARPIn G3-DARPIn G3-ABD (GGA) и ABD-DARPIn G3-DARPIn G3 (AGG), соединенными линкерами с аминокислотной последовательностью GSSGSSSGSSS. Для восстановления потенциально окисленных цистеиновых групп белки инкубировали с дитиотреитолом и далее конъюгировали с цитотоксическим агентом эмтанзином (mcDM1). Для оценки цитотоксичности в клеточные линии SKOV3 (клетки рака яичника человека, высокая экспрессия HER2), SKBR3 (клетки рака молочной железы, высокая экспрессия HER2), PC-3 (клетки рака предстательной железы, низкая экспрессия HER2), A-431 (плоскоклеточная карцинома, низкая экспрессия HER2) добавляли конъюгаты серийным разведением до концентрации 100 нМ с последующим измерением жизнеспособности клеток. Чтобы показать отсутствие токсичности белков был использован отрицательный контроль – конъюгаты без DM1, в которых концевую цистеиновую группу алкилировали хлорацетамидом (CAA). Для исследований *in vitro* терапевтические конъюгаты метили <sup>99m</sup>Tc путем хелатирования карбонильного технеция-99m аминокислотной последовательностью HENENE, расположенной на N-конце белков GGA и AGG. Для измерения активности использовался автоматизированный гамма-счетчик с NaI детектором (2480 Wizard, PerkinElmer, США). Специфичность связывания изучали на клеточных линиях: SKOV3, SKBR3, PC-3, A-431, BT-474, LS174T. В контрольных чашках для насыщения клеточных рецепторов клетки предварительно инкубировали с избытком немеченого DARPIn G3. Интернализация терапевтических конъюгатов оценивалась с использованием метода кислотной промывки при инкубации клеток SKOV-3 с 2 нМ раствором меченных конъюгатов с временными точками в 1, 2, 4, 6 и 24 часа. Аффинность связывания GGA-DM1 и AGG-DM1, меченных технецием-99m, с клетками SKOV-3 оценивали по достижению насыщения половины рецепторов в концентрациях от 0,2 до 40 нМ.

**Результаты.** Для исследования цитотоксического действия GGA-DM1 и AGG-DM1 на клетки были выбраны клеточные линии с различной экспрессией HER2 рецепторов. Оба конъюгата GGA-DM1 и AGG-DM1 показали дозозависимый цитотоксический эффект со значениями концентрации полумаксимального ингибирования, представленными в таблице 1. Обработка клеток контролем GGA-CAA и AGG-CAA, не содержащим эмтанзин, показала некоторую потерю жизнеспособности только при более высоких концентрациях.



Таблица 1. Цитотоксичность конъюгатов GGA-DM1 и AGG-DM1

Клеточная линия	IC <sub>50</sub> , нМ	
	GGA-DM1	AGG-DM1
SKOV3	61 ± 7	104 ± 10
SKBR3	3,6 ± 0,3	12 ± 1
PC3	78 ± 4	221 ± 24
A431	24 ± 3	69 ± 12

Изучение специфичности *in vitro* <sup>99m</sup>Tc-GGA-DM1 и <sup>99m</sup>Tc-AGG-DM1 продемонстрировало, что связывание с клетками было специфичным, пропорционально уровню экспрессии HER2 в клеточных линиях, при этом связанная с клетками радиоактивность значительно снижалась, когда HER2-рецепторы были предварительно насыщены (блокированы) немеченным DARPIn G3. Ассоциация <sup>99m</sup>Tc-GGA-DM1 и <sup>99m</sup>Tc-AGG-DM1 с клетками линии SKOV3 была быстрой, достигая 68±7% и 72±3% после 1 часа инкубации соответственно. Уровень интернализованной радиоактивности для <sup>99m</sup>Tc-GGA-DM1 и <sup>99m</sup>Tc-AGG-DM1 увеличивался со временем и через 6 ч составлял 26±1% и 22,8±0,1% от клеточно-ассоциированной активности. Значения равновесных констант диссоциации (K<sub>D</sub>) составили 1,5 ± 0,5 и 1,0 ± 0,3 нМ для <sup>99m</sup>Tc-GGA-DM1 и <sup>99m</sup>Tc-AGG-DM1 соответственно.

**Заключение.** Сконструированные белки на основе DARPIn G3, слитые с альбуминсвязывающим доменом и нагруженные цитотоксическим агентом – ингибитором полимеризации тубулина эмантаном, продемонстрировали специфичность связывания к HER2-экспрессирующими клеточными линиями, а сродство обоих конъюгатов к клеткам SKOV3 было сопоставимо. При этом у конъюгата с расположением альбуминсвязывающего домена на С-конце цитотоксичность для различных клеточных линий была в несколько раз выше, чем для конъюгата с альбуминсвязывающим доменом на N-конце.

#### Литература.

1. Limoni S. K., Moghadam M. F., Moazzeni S. M., Gomari H., Salimi F. Engineered exosomes for targeted transfer of siRNA to HER2 positive breast cancer cells. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2019;187:352-364. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2813-4>.
2. Xu T., Ding H., Vorobyeva A., Oroujeni M., Orlova A., Tolmachev V., Gräslund T. Drug conjugates based on a monovalent affibody targeting vector can efficiently eradicate HER2 positive human tumors in an experimental mouse model. *Cancers*. 2020;13(1),85. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13010085>.
3. Goldstein R., Sosabowski J., Livanos M., Leyton J., Vigor K., Bhavsar G., Nagy-Davidescu G., Rashid M., Miranda E., Yeung J., Tolner B., Plückthun A., Mather S., Meyer T., Chester K. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPIn) G3 for HER2 molecular imaging. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2015;42,288-301. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00259-014-2940-2>.

### ИМПРЕГНАЦИЯ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫХ ПОКРЫТИЙ СИСТЕМОЙ PLGA/5-ФУ ДЛЯ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ПРЕПАРАТА

Е.И. Сенькина\*, Е.Г. Комарова, А.С. Ложкомоев, Е.А. Казанцева, К.А. Просолов  
 ФГБУН Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения  
 Российской академии наук, г. Томск, Россия  
 e-mail: elena.senkina.1995@mail.ru

**Ключевые слова:** кальций-фосфатные покрытия, модификация, противоопухолевая активность, 5-фторурацил

**Введение.** Требования к биомедицинским материалам постоянно возрастают. Современным имплантатам необходимо обладать определенным комплексом физических, химических и механических свойств. Контактная с живыми тканями, имплантаты при замещении и/или восстановлении дефектов костной ткани не должны вызывать аллергических и/или воспалительных реакций, они должны быть биосовместимы с окружающими тканями [1,2]. Разрабатываемые биоматериалы также могут выступать в качестве систем местной доставки лекарственных препаратов, что особенно востребовано в случаях, осложненных патологией. Например, для восстановления костной ткани, утраченной вследствие раковой опухоли – остеосаркомы, импрегнирование в имплантат противоопухолевого препарата, например, из цитокинового ряда, может оказать местное противоопухолевое действие и исключить применение системного лечения, снижая тем самым общетоксическую нагрузку на организм [3-5].

**Цель работы.** Биологические исследования *in vitro* противоопухолевой активности кальций-фосфатных (CaP) покрытий, импрегнированных противоопухолевым препаратом 5-фторурацилом (5-ФУ) и модифицированных биорезорбируемым полимером (PLGA), в отношении аденокарциномы протоков молочной железы MCF-7 (ATCC HTB-22) и клеток раковой опухоли шейки матки HeLa.

**Материалы и методы.** Экспериментальные образцы из технически чистого титана (ASTM Grade 2) представляли собой пластины с размерами 10\*10\*1 мм. На поверхность образцов осаждали CaP покрытие методом микродугового оксидирования [4]. Для иммобилизации химиотерапевтическим препаратом на обе стороны образца наносили 10 мкл раствора 5-ФУ с концентрацией 50 мг/мл. Далее пропитанные цитостатиком покрытия модифицировали с помощью технологии послойной самосборки путем многократного окунания в 10 масс. % раствор полимера PLGA. Цитотоксичность носителей оценивали с помощью МТТ-теста *in vitro* методом прямого контакта и экстракционным методом при 24 часовом сокультивировании с клеточными линиями HeLa и MCF-7. Экстрагирование образцов проводили в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) в термостате при 37 °С в течение 4 суток, и далее оценивали жизнеспособность клеточных линий в зависимости от времени экстракции (выдержки) образцов.

**Результаты.** Результаты МТТ-теста показали, что жизнеспособность клеток, инкубированных в прямом контакте с CaP покрытием немного снижается относительно контроля (питательная среда без образцов) (рис. 1). Для линии HeLa количество живых клеток составило 82 %, MCF-7 – 74 %. Модификация CaP покрытия полимером PLGA не привела к существенному изменению пролиферации опухолевых клеток, что свидетельствует о хорошей адгезии клеток к полимерному слою и отсутствии у него цитотоксического действия. Наименьшая жизнеспособность клеток была обнаружена на поверхности CaP покрытий, импрегнированных 5-ФУ и PLGA, количество живых клеток линии MCF-7 уменьшилось до 16 %, HeLa – до 36 %.

Для оценки *in vitro* противоопухолевой активности CaP матриц, импрегнированных 5-ФУ, в более продолжительной динамике (до 4 суток) была исследована жизнеспособность клеток в экстрактах (вытяжках) носителей. На рис. 2 представлены зависимости цитотоксичности вытяжек из образцов от времени экстракции. В результате инкубирования клеток линии MCF-7 и HeLa с вытяжками из CaP покрытий, при увеличении времени выдержки образцов до 96 ч, происходит увеличение пролиферации клеток соответственно до 134 и 123 %, относительно количества клеток в экстрактах, полученных в течение 1 ч выдержки образцов.

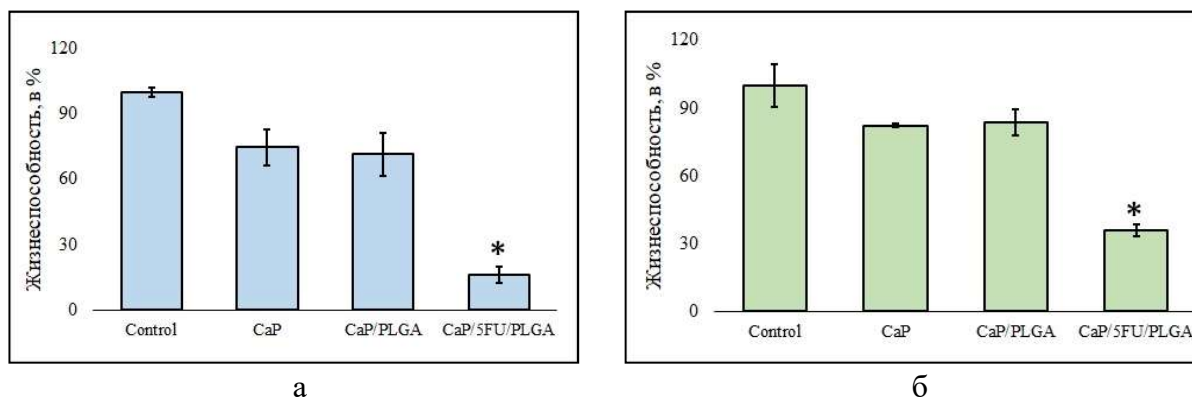


Рисунок 1. Жизнеспособность клеток линии MCF-7 (а) и HeLa (б) при инкубировании на поверхности СаР-матриц, \* – стат. знач. различия при  $p < 0,01$ , по сравнению с группой контроля

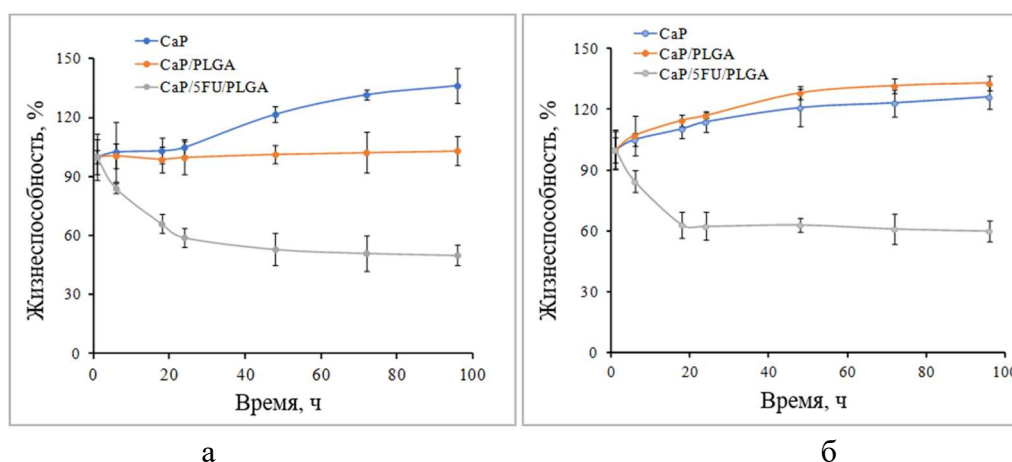


Рисунок 2. Жизнеспособность клеток линии MCF-7 (а) и HeLa (б) при инкубировании с вытяжками из образцов СаР-матриц

Для СаР покрытий, модифицированных PLGA, увеличение времени экстрагирования образцов до 96 часов, практически, не влияет на пролиферацию клеток линии MCF-7 и способствует увеличению пролиферации клеток линии HeLa до 131 %.

Вытяжки из образцов, содержащих 5-ФУ, способствуют уменьшению пролиферации клеток. При этом, основное снижение пролиферации клеток линии MCF-7 и HeLa соответственно до 59 % и 62 % наблюдается в экстрактах, полученных в течение 24 часов выдержки образцов. Дальнейшее увеличение времени экстрагирования образцов не приводит к статистически значимому изменению пролиферации обеих клеточных линий. Мы связываем это с сильным токсическим действием выделяемого цитостатика из носителей, преимущественно, в первые 24 часа экстракции.

**Заключение.** Таким образом, импрегнация СаР покрытий цитостатиком 5-ФУ и биорезорбируемым полимером PLGA позволила обеспечить пролонгированное выделение лекарства в течение 24 часов, что подтверждается возрастающей цитотоксичностью экстрактов образцов по отношению к опухолевым клеточным линиям MCF-7 и HeLa.

Разработанные скаффолды носители противоопухолевого препарата 5-ФУ могут быть эффективны для локальной химиотерапии при замене и/или восстановлении дефектов костной ткани, осложнённой опухолевой патологией.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 21-73-10265.*

#### **Литература.**

1. Hayashi, K.; Tsuchiya, H. The Role of Surgery in the Treatment of Metastatic Bone Tumor. *Int. J. Clin. Oncol.* 2022;27:1238–1246.

2. Pacheco, C., Baião, A., Ding, T., Cui, W., & Sarmiento, B. Recent advances in long-acting drug delivery systems for anticancer drug. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2023;114724.
3. Komarova, E. G., Sedelnikova, M. B., Kondranova, A. M., Kazantsev, S. O., & Sharkeev, Y. P. Development of calcium phosphate coatings with regulated porous structure as drug carrier systems. *In Journal of Physics: Conference Series*. 2019;1281(1):12-37
4. Prosolov, K. A., Komarova, E. G., Kazantseva, E. A., Lozhkomoev, A. S., Kazantsev, S. O., Bakina, O. V., ... & Sharkeev, Y. P. UMAOH Calcium Phosphate Coatings Designed for Drug Delivery: Vancomycin, 5-Fluorouracil, Interferon  $\alpha$ -2b Case. *Materials*, 2022;15(13), 4643.
5. Wang, C., Ma, Z., Yuan, K., & Ji, T. Using scaffolds as drug delivery systems to treat bone tumor. *Nanotechnology*, 2022;33(21), 212002.

## SYNTHESIS AND INITIAL PRECLINICAL EVALUATION OF NOVEL UREA-BASED PSMA INHIBITORS

L.A. Hasnowo<sup>1,2\*</sup>, M.S. Larkina<sup>1,3</sup>, E. Plotnikov<sup>1</sup>, V. Bodenko<sup>1,3</sup>, F. Yuldasheva<sup>1</sup>, E. Stasyuk<sup>1</sup>, S.A. Petrov<sup>4</sup>, N.Y. Zyk<sup>4</sup>, A.E. Machulkin<sup>4</sup>, N.I. Vorozhtsov<sup>4</sup>, E.K. Beloglazkina<sup>4</sup>, V.G. Nenajdenko<sup>4</sup>, V.M. Tolmachev<sup>5</sup>, A. Orlova<sup>5</sup>, A.G. Majouga<sup>6</sup>, M.S. Yusubov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tomsk Polytechnic University, Tomsk 634050, Russia

<sup>2</sup>Polytechnic Institute of Nuclear Technology, National Research and Innovation Agency, Yogyakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

<sup>4</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>5</sup>Uppsala University, Uppsala, Sweden

<sup>6</sup>Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

e-mail: lutfiaditya@tpu.ru

**Keyword:** DCL ligand; iodine radioisotopes; prostate-specific membrane antigen.

**Introduction.** Despite recent successes in the development and application of radiopharmaceuticals mediated by prostate-specific membrane antigen (PSMA) for the diagnosis and endoradiotherapy of prostate cancer, research is still ongoing in an effort to find new and more effective targeting agents that can improve the effectiveness of therapy. Over antibodies and aptamers, small molecule ligands have a variety of advantages, such as simplicity in synthesis and modification, lack of immunogenicity, enhanced pharmacokinetics, and speedy clearance from healthy tissues [1, 2]. The alteration of N-[N-[(S)-1,3-dicarboxypropyl]carbonyl]-(S)-L-lysine (DCL) ligand structure alters its affinity for PSMA, according to numerous publications. By utilizing the hydrophobic interaction with the S1 hydrophobic pocket of PSMA, we believe that the alteration of the DCL linker with a dipeptide fragment containing two phenylalanine residues enhances the affinity qualities of the PSMA ligand [3]. An ideal radionuclide for use in single-photon-emission computed tomography (SPECT) diagnostics is <sup>123</sup>I, a 159 keV gamma-ray emitter [4].

**Aim.** The goal of this work was to synthesize novel DCL urea-based ligands with a chlorine-substituted aromatic fragment at the lysine -nitrogen atom, a dipeptide containing two phenylalanine residues in the L-configuration as the peptide fragment of the linker, and 4- or 3-(tributylstannyl)benzoic acid as a prosthetic group in their structures. By performing radiolabeling optimization using iodine-123, these compounds were investigated in initial preclinical evaluation as novel PSMA ligands.

**Materials and methods** The standard compounds [<sup>127</sup>I]PSMA-m-IB and [<sup>127</sup>I]PSMA-p-IB for comparative and characterization studies were first synthesized using two alternative synthetic approaches. An important advantage of the alternative synthetic approach, in which the prosthetic group (NHS-activated esters of compounds) is first conjugated with the polypeptide sequence followed by replacement of the Sn(Bu)<sub>3</sub> group with radioiodine, is that the radionuclide is introduced in the final step of synthesis, thereby minimizing operating time with iodine-123 during the radiolabeling process. The chemical synthesis method has been completely described

by Hasnowo, et al. [5]. Radiolabeling optimization of PSMA-p-TBSB with  $^{123}\text{I}$  was conducted to study the physico-chemical characteristic of the radiolabeling. Test of radiochemical yield, radiochemical purity, and shelf-life stability were carried out on the results of radiolabeling as quality control. The initial preclinical evaluations carried out for the resulting ligands are in vitro cell-binding assay, binding affinity, and in vivo biodistribution.

**Results.** Novel N-[N-[(S)-1,3-dicarboxypropyl]carbamoyl]-(S)-L-lysine (DCL) urea-based PSMA inhibitors with a chlorine-substituted aromatic fragment at the lysine  $\epsilon$ -nitrogen atom, a dipeptide including two phenylalanine residues in the L-configuration as the peptide fragment of the linker, and 3- or 4-(tributylstannyl)benzoic acid as a prosthetic group in their structures were successfully synthesized. The general structure of the obtained ligands is shown in Figure 1.

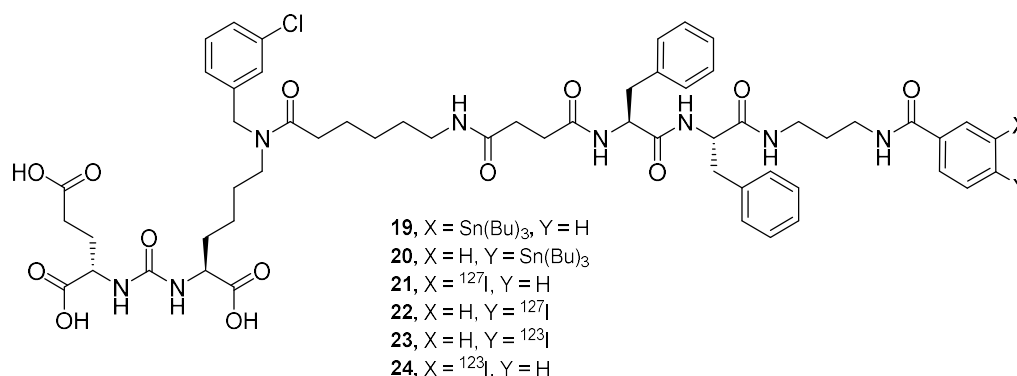


Figure 1. The general structure of the obtained ligands [5]

The radiolabeling optimization results showed that the radiochemical yield of [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB was higher than that of [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-m-IB, which were  $74.9 \pm 1.0\%$  and  $49.4 \pm 1.2\%$ , respectively. The radiochemical purity of [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB after purification was greater than 99.50% [5]. It was receptor-mediated that [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB bound to PC-3 PIP cells that expressed PSMA. The dissociation constant in equilibrium remained at the nanomolar level. According to this affinity measurement, [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB attaches to PSMA-expressing cells with a high affinity. The accumulation of [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB in the liver and kidney at 4 h p.i. was  $0.9 \pm 0.1$  and  $1.0 \pm 0.1$  %ID/g, respectively. This will undoubtedly be a benefit of the [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB ligand when used as a diagnostic for prostate cancer, as the location of the kidney is close to the prostate gland, thereby optimizing the prostate image during imaging due to the low accumulation of [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB in the kidney. It was therefore hypothesized that [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB provides low retention of activity in excretory organs.

**Conclusion.** Two distinct synthesis methods were used to create two new DCL urea-based PSMA inhibitors with a chlorine-substituted aromatic fragment at the lysine -nitrogen atom, an L-Phe-L-Phe dipeptide linker, and 3- or 4-(tributylstannyl)benzoic acid as prosthetic groups for radioiodination. By performing radiolabeling optimization using iodine-123, these inhibitors were investigated as new PSMA ligands. In the preliminary preclinical assessment, the [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB ligand was examined. In vitro, the brand-new radioligand [ $^{123}\text{I}$ ]PSMA-p-IB, which targets PSMA, showed high affinity and precise binding to PSMA-expressing cells. This novel PSMA inhibitor shows little accumulation in healthy organs in an in vivo test, suggesting that it has the potential to be a promising novel PSMA-targeting radioligand that merits further investigation.

#### References.

1. Machulkin, A.E.; Skvortsov, D.A.; Ivanenkov, Y.A.; Ber, A.P.; Kavalchuk, M.V.; Aladinskaya, A.V.; Uspenskaya, A.A.; Shafikov, R.R.; Plotnikova, E.A.; Yakubovskaya, R.I.; et al. Synthesis and Biological Evaluation of PSMA-Targeting Paclitaxel Conjugates. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 2019;29:2229–2235.

2. Petrylak, D.P.; Kantoff, P.; Vogelzang, N.J.; Mega, A.; Fleming, M.T.; Stephenson, J.J.; Frank, R.; Shore, N.D.; Dreicer, R.; McClay, E.F.; et al. Phase 1 Study of PSMA ADC, an

Antibody-Drug Conjugate Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen, in Chemotherapy-Refractory Prostate Cancer. *Prostate*. 2019;79:604–613.

3. Uspenskaya, A.A.; Machulkin, A.E.; Nimenko, E.A.; Shafikov, R.R.; Petrov, S.A.; Skvortsov, D.A.; Beloglazkina, E.K.; Majouga, A.G. Influence of the Dipeptide Linker Configuration on the Activity of PSMA Ligands. *Mendeleev Commun.* 2020;30:756–759.

4. Mettler, F.A.; Guiberteau, M.J. Thyroid, Parathyroid, and Salivary Glands. *Essentials Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2019, 85–115.

5. Hasnowo, L.A.; Larkina, M.S.; Plotnikov, E.; Bodenko, V.; Yuldasheva, F.; Stasyuk, E.; Petrov, S.A.; Zyk, N.Y.; Machulkin, A.E.; Vorozhtsov, N.I.; et al. Synthesis, <sup>123</sup>I-Radiolabeling Optimization, and Initial Preclinical Evaluation of Novel Urea-Based PSMA Inhibitors with a Tributylstannyl Prosthetic Group in Their Structures. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24, 12206.

## ВОЗМОЖНОСТЬ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА АДРЕСНЫМ БЕЛКОМ DARPIN (HE)3-E01, МЕЧЕННЫМ <sup>99m</sup>Tc

Г.Е. Янович<sup>1\*</sup>, Ф.Ш. Юлдашева<sup>2</sup>, М.С. Третьякова<sup>2</sup>, Р.Н. Варвашеня<sup>1,2</sup>, Л.А.Хасново<sup>2</sup>,  
Е.В.Плотников<sup>2</sup>, М.В.Белоусов<sup>1,2</sup>, С.М. Деев<sup>2,3</sup>, А.А. Шульга<sup>2,3</sup>, Е.В. Коновалова<sup>2,3</sup>,  
В.М. Толмачев<sup>2,4</sup>, М.С. Ларькина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>Томский политехнический университет, г. Томск, Россия

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,  
г. Москва, Россия

<sup>4</sup> Уппсальский университет, Уппсала, Швеция  
e-mail: sonne\_gleb@mail.ru

**Ключевые слова:** EGFR, DARPIN, ТЕХНЕЦИЙ-99М.

**Введение.** Несмотря на последние достижения в хирургии, лучевой терапии и химиотерапии, некоторые опухоли остаются летальными. Главная причина высокой смертности заключается в том, что отдельные клетки, или скопления клеток дают начало метастазам, выходящим за пределы основной опухоли. Одна из возможных стратегий уничтожения таких клеток заключается в использовании таргетных конъюгатов, которые доставляют цитотоксические агенты или радионуклиды, избирательно проникают в опухолевые клетки, не повреждая здоровые ткани. Антигены на поверхности раковых клеток используются как мишени для визуализации опухоли и ее метастазов, а также последующей таргетной терапии. Перспективной является молекулярная мишень – рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), который сверхэкспрессируется в глиомах [1], а также в опухолях головы и шеи, груди [2], легких [3] и мочевого пузыря [4]. Нацеливание на опухоль обычно связано с использованием моноклональных антител. Однако эти таргетные молекулы имеют определенные недостатки, такие как медленное выведение из крови, плохое проникновение в опухоли, неспецифическое накопление и потенциальная иммуногенность. Рекомбинантные белки с анкириновыми повторами, такие как DARPIn (HE)<sub>3</sub>-E01, имеют небольшой размер, нетоксичны, высокоаффинны к мишени EGFR и являются перспективной альтернативой антителам.

**Цель.** Исследовать возможность визуализации экспрессии рецептора эпидермального фактора роста адресным белком DARPIn (HE)<sub>3</sub>-E01, меченным <sup>99m</sup>Tc.

**Материалы и методы.** <sup>99m</sup>Tc был получен на Исследовательском ядерном реакторе ИРТ-Т на базе Томского политехнического университета. Белок был наработан в *E.coli* штамма BL21(DE3) методом бактериальной индуцируемой экспрессией рекомбинантного гена. Клетки А-431 и РС-3 были приобретены в Американской коллекции типовых культур (ATCC), иммунодефицитные мыши линии Nu/J были получены из вивария ИЦиГ СО РАН.

Специфичность связывания *in vitro* тестировали методом насыщения на 2 клеточных линиях А-431 и РС-3. За день до эксперимента, клеточные линии рассеивали в шестилуночные планшеты в концентрации 500 тыс/мл и инкубировали сутки до

образования монослойной культуры. Перед экспериментом старую среду удаляли и клетки промывали 1 мл раствора PBS. В контрольных чашках для насыщения клеточных рецепторов клетки предварительно инкубировали с цетуксимабом (500 нМ) в течение 30 минут при температуре 37 °С. После этого во все чашки с клетками добавляли комплекс [<sup>99m</sup>Tc]Tc-(HE)<sub>3</sub>-E01 до концентрации 5 нМ и инкубировали 1 ч при температуре 37 °С.

После инкубации клетки промывали 1 мл раствора PBS, открепляли 0,5 мл трипсина и собирали. Связанную с клетками радиоактивность измеряли с использованием гамма-счетчика (1480 Wizard, Perkin Elmer, США) и представляли в виде процента от добавленной активности на млн клеток.

Биораспределение и таргетные свойства *in vivo* проводили с использованием иммунодефицитных мышей Nu/J с привитыми человеческими опухолями A-431 (EGFR+) и Ramos (EGFR-).

Для измерения биораспределения мышам внутривенно (в хвостовую вену) вводили раствор [<sup>99m</sup>Tc]Tc-(HE)<sub>3</sub>-E01 (60 кБк на мышь, 3 мкг на мышь) в 100 мкл 1 % BSA в PBS. Спустя 4 часа после инъекции мышей умерщвляли, кровь забирали гепаринизированным шприцем путем пункции сердца. Также были собраны образцы опухолей и органов (слюнных желез, легких, печени, селезенки, желудка, тонкого кишечника, почек, мышц, костей и оставшихся органов ЖКТ и тела). Образцы органов и тканей взвешивали и измеряли их активность с помощью гамма-счетчика. Измерения были скорректированы на фон. Рассчитывали процент введенной дозы на грамм образца органа или ткани (% ВД/г).

Для определения статистически значимых отличий ( $p < 0,05$ ) использовали непарный двусторонний t-тест.

**Результаты.** Уровень связывания комплекса [<sup>99m</sup>Tc]Tc-(HE)<sub>3</sub>-E01 с EGFR в клеточной культуре A-431 составил  $7,17 \pm 0,04$  % ВД/г в незаблокированной и  $0,83 \pm 0,12$  % ВД/г в заблокированной группах. В клетках PC-3 с низкой экспрессией EGFR процент связывания комплекса значимо ниже ( $p < 0,05$ ), чем в клетках A-431, и составил  $1,4 \pm 0,2$  % ВД/г в незаблокированной и  $1,2 \pm 0,2$  % ВД/г в заблокированной группах.

Накопление активности комплекса [<sup>99m</sup>Tc]Tc-(HE)<sub>3</sub>-E01 в опухолевых ксенографтах A-431 у мышей значимо выше, чем в ксенографтах Ramos ( $p < 0,05$ ). Накопление активности в почках и печени составило более 20% (ВД/г), в остальных органах значения не превышали 7% (ВД/г).

**Заключение.** Результаты данного исследования показали, что адресная молекула DARPin (HE)<sub>3</sub>-E01, меченная <sup>99m</sup>Tc, продемонстрировала специфическое связывание с EGFR-экспрессирующими раковыми клетками человека *in vitro*, специфическое накопление в EGFR-экспрессирующих ксенотрансплантатах у мышей. Что делает его пригодным для визуализации экспрессии рецептора эпидермального фактора роста.

#### **Литература.**

1. Collins V. P., James C. D. Gene and chromosomal alterations associated with the development of human gliomas. *Faseb J.* 1993;7:926–930.
2. Earp H. S., Dawson T. L., Li X. and Yu H. Heterodimerization and functional interaction between EGF receptor family members: A new signaling paradigm with implication for breast cancer research. *Breast Cancer Res. Treat.* 1995;35:115–132.
3. Kaseda S., Ueda M., Ozawa S., Ishihara T., Abe O. and Shimizu N. Expression of epidermal growth factor receptors in four histologic cell types of lung cancer. *J. Surg. Oncol.* 1989;42:16–20.
4. Neal D. E. and Mellon K. Epidermal growth factor receptor and bladder cancer: A review. 1992; *Urol. Int.* 48:365–371.

## Рациональное природопользование и разработка лекарственных растительных препаратов

### ПЕРСПЕКТИВЫ ПОИСКА И РАЗРАБОТКИ ОСТЕОГЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Е.Ю. Авдеева\*, И.А. Хлусов, М.В. Белоусов  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Томск, Росия  
E-mail: avdeeva.ey@ssmu.ru

**Ключевые слова:** остеогенная активность, флавоноиды, полисахариды, кальция хелидонат.

Заболевания опорно-двигательного аппарата (ОДА) отличаются широкой распространенностью, разнообразием и сложностью лечения. Такие заболевания имеют высокую социальную значимость, так как снижают качество жизни и нередко приводят к инвалидности и смерти. В структуре заболеваний ОДА значительный процент занимают патологии, связанные с нарушением формирования и регенерации костной ткани и необходимостью стимулировать процесс остеогенеза. В этот перечень входят такие заболевания, как остеопороз, остеопения, несовершенный остеогенез и др. Осложнения хирургического лечения переломов костей с использованием имплантатов и эндопротезов, также требуют фармакологической коррекции с помощью остеогенных средств [1]. Применение лекарственных препаратов, стимулирующих остеогенез, так же чрезвычайно актуально в реконструктивной хирургии при возмещении объемных дефектов при опухолевых поражениях костной ткани. В связи с этим, разработка и внедрение новых эффективных и безопасных лекарственных средств с остеогенной активностью является актуальной проблемой современной медицинской и фармацевтической науки.

В клинической медицине для контроля процессов ремоделирования кости при разных патологиях используют бисфосфонаты, деносумаб, кальцитонин, морфогенетические белки кости (ВМР) и некоторые другие факторы роста, которые обладают рядом серьезных побочных эффектов, часто нивелирующих пользу от специфической остеогенной активности [2]. Актуальным является разработка лекарственных средств и БАДов из природного сырья, которые отличаются комплексным эффективным фармакологическим воздействием и вместе с тем, низкой частотой побочных реакций.

Современные исследования новых молекул с остеогенной активностью преимущественно развиваются в области природных соединений [3]. Остеопротективный эффект выявлен у некоторых флавоноидов и изофлавоноидов, которые повышают активность щелочной фосфатазы в остеобластоподобных клетках, способны модулировать остеокластогенез за счет увеличения мРНК остеопротегрина и снижения экспрессии рецептора-активатора лиганда RANKL-мРНК [4]. Остеопротекторная активность изучена у эпигаллокатехингаллата, хлорогеновой, кофейной, коричной и феруловой кислот [5-7]. Опубликованы данные о действии полисахаридов на увеличение скорости пролиферации, дифференцировки и созревания остеобластов посредством индукции костного морфогенетического белка второго типа (ВМР-2), стимулирующего процессы регенерации костной ткани [8]. Показано, что растительные полисахариды способствуют ингибированию остеопороза и уменьшению остеокластогенеза, посредством увеличения в ядрах клеток количества белка  $\beta$ -катенина и снижения экспрессии генов, связанных с остеокластами [9].

В то же время, цитируемые работы носят экспериментальный характер и, несмотря на перспективность, официальные препараты с остеогенной активностью на основе природных компонентов до сих пор не описаны.



Исследования, проведенные нами *in vivo* на модели экспериментального остеомиелита и *in vitro* на мезенхимальных стволовых клетках (МСК), показали, что экстракт сосюреи спорной (*Saussurea controversa* DC), его флавоноидный, полисахаридный комплекс, хелидоновая кислота и ее кальциевая соль являются эффективными стимуляторами остеогенных процессов [10-11]. *In vivo* на модели хронического экспериментального остеомиелита установлена регенераторная активность кальция хелидоната в условиях микробного поражения костной ткани [12]. Высокая активность *in vitro* и *in situ* в отношении остеогенной дифференцировки МСК также была выявлена у субстанции хелидоната кальция, полученного полусинтетическим методом [13-14].

Полученные нами результаты позволяют предположить, что хелатный комплекс хелидоновой кислоты с кальцием является надежным транспортером последнего не только из ЖКТ в кровь при пероральном введении, но и через плазматическую мембрану мезенхимных стволовых клеток (МСК). При этом сама кислота и, тем более, ее кальциевая соль при прямом контакте с МСК *in vitro* стимулируют их деление и дифференцировку в остеобласты. Предполагаемыми потенциальными мишенями кальция хелидоната могут быть известные сигнальные пути (BMP-2, RUNX2), а также активация рецептора, стимулирующего дифференцировку остеобластов и образование минерализованных формаций, как агонист Ca-рецепторов I типа. Не исключено, что активность кальция хелидоната имеет свои пути реализации остеогенного эффекта, что является перспективой дальнейшего исследования.

Хелидонат кальция, как перспективная субстанция для получения остеогенных лекарственных средств, отличается рядом преимуществ: характеризуется низкой токсичностью, возможностью получения природных и полусинтетических форм, относительно низкой себестоимостью. Нами разработан способ получения кальция хелидоната из растительного сырья (*Saussurea controversa* DC) и полусинтетическим методом, получены физико-химические характеристики и охарактеризована кристаллическая структура индивидуального соединения, разработаны методики стандартизации предполагаемой субстанции. Полученные результаты дают перспективу дальнейшим исследованиям в направлении разработки и внедрения кальция хелидоната как нового остеогенного лекарственного средства.

#### **Литература.**

1. Аврунин А.С. Остеопороз и остеомаляция - клинико-диагностические проблемы. *Травматология и ортопедия России*. 2014;4(74): 68-76.
2. James A.W., LaChaud G., Shen J. et al. Review of the Clinical Side Effects of Bone Morphogenetic Protein-2. *Tissue Eng. Part B Rev*. 2016; 22:284-297.
3. Horcajada M.N., Offord E. Naturally Plant-Derived Compounds: Role in Bone Anabolism. *Current Molecular Pharmacology*. 2012; 2(5): 205-218.
4. Shou D., Zhang Y., Shen L. et al. Flavonoids of Herba Epimedii Enhances Bone Repair in a Rabbit Model of Chronic Osteomyelitis During Post-infection Treatment and Stimulates Osteoblast Proliferation in Vitro. *Phytother. Res*. 2017; 2(31): 330–339.
5. Kuroyanagi G., Tokuda H., Yamamoto N. et al. (-)-Epigallocatechin gallate synergistically potentiates prostaglandin E2-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts. *Prostaglandins other lipid mediat*. 2017; 129: 27–33.
6. Yamamoto N., Tokuda H., Kuroyanagi G. et al. Amplification by (-)-epigallocatechin gallate and chlorogenic acid of TNF- $\alpha$ -stimulated interleukin-6 synthesis in osteoblasts. *International journal of molecular medicine*. 2015; 36:1707-1712.
7. Folwarczna J., Pytlik M., Zych M. et al. Effects of caffeic and chlorogenic acids on the rat skeletal system. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2015; 19: 682-693.
8. Jeong Y.T., Baek S.H., Jeong S.C. et al. Osteoprotective effects of polysaccharide-enriched *Hizikia fusiforme* processing by product in vitro and in vivo models. *Journal of medicine food*. 2016; 8(19): 805 – 814.

9. Niu W., Wang. Y., Liu Y. et al. Starch-derived absorbable polysaccharide hemostat enhances bone healing via BMP-2 protein. *Acta histochem.* 2017; 3(119): 257 – 263.
10. Khlusov I., Avdeeva E., Shupletsova V. et al. Comparative In Vitro Evaluation of Antibacterial and Osteogenic Activity of Polysaccharide and Flavonoid Fractions Isolated from the leaves of *Saussurea controversa*. *Molecules.* 2019; 24(20): 3680 (1-15).
11. Avdeeva E., Shults E., Skorokhodova M. et al. Flavonol glycosides from *Saussurea controversa* and their efficiency in experimental osteomyelitis. *Planta Medica International Open.* 2018; 5: e24-e29.
12. Авдеева Е.Ю., Скороходова М.Г., Суходоло И.В. и др. Сравнительная оценка остеогенной активности и влияния на гемопоэтическую функцию красного костного мозга фракций экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* при экспериментальном остеомиелите. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019; 3: 6-15.
13. Avdeeva E., Shults E., Rybalova T. et al. Chelidonic Acid and its Derivatives from *Saussurea Controversa*: Isolation, Structural elucidation and Influence on the Osteogenic Differentiation of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in Vitro. *Biomolecules.* 2019; 9(5): 189 (1-12).
14. Avdeeva E., Porokhova E., Khlusov I. et al. Calcium Chelidonate: Semi-synthesis, Crystallography, and Osteoinductive Activity In Vitro and In Vivo. *Pharmaceuticals.* 2021; 14(6): 579 (1-14).

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА СКОРЛУПЫ ГРЕЦКОГО ОРЕХА

И.Е. Васильева\*, О.В. Кригер

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», г. Санкт-Петербург,  
Россия

E-mail: iren\_111-72@mail.ru

**Ключевые слова:** скорлупа грецкого ореха, экстракция, флавоноиды, биологическая активность, полифенольные соединения.

**Введение.** В настоящее время в пищевой промышленности большое количество вторичного сырья растительного происхождения при производстве конечных продуктов утилизируется, несмотря на содержание в нем ценных биологически активных веществ (далее БАВ). К такому сырью относится скорлупа грецкого ореха, которая часто используется в народной медицине в виде спиртовых настоек. Ее целебные свойства обусловлены уникальным фитохимическим составом, основную часть которого составляют флавоноиды и полифенольные соединения, обладающие антиоксидантным, противовоспалительным и бактерицидным действием, что в свою очередь доказывает применение данного вида сырья в фармацевтической промышленности [1, 4].

Разработка новых эффективных и экономически выгодных технологий извлечения ценных БАВ из вторичного сырья растительного происхождения и применение безотходного производства в фармацевтической, а также косметической и пищевой промышленности является на сегодня очень актуальным и перспективным научным направлением [6].

**Целью** настоящего исследования явилось изучение биологической активности экстракта скорлупы грецкого ореха в зависимости от степени измельчения исходного сырья и вида используемого экстрагента.

**Материалы и методы.** В качестве объектов для исследования были использованы три фракции скорлупы грецкого ореха различной степени измельчения: 25–30 мм, 5–10 мм, 1–3 мм. В качестве экстрагента готовилась смесь очищенного этилового спирта 96%-ного и 70%-ного, глицерина и дистиллированной воды в соотношении 1:1:1. Каждую фракцию в количестве 2 граммов смешивали с полученной смесью, настаивали в течение трое суток

при комнатной температуре и затем фильтровали через бумажный фильтр. Варианты исследуемых экстрактов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Образцы экстрактов скорлупы грецкого ореха

№ экстракта	Размер фракции, мм	Количество навески образца, г	Объем 96%-ного этилового спирта, мл	Объем 70%-ного этилового спирта, мл	Объем глицерина, мл	Объем дистилл. воды, мл
1.	25-30	2,0	-	20,0	20,0	20,0
2.	5-10	2,0	20,0	-	20,0	20,0
3.	25-30	2,0	20,0	-	20,0	20,0
4.	5-10	2,0	-	20,0	20,0	20,0
5.	1-3	2,0	-	20,0	20,0	20,0

Суммарное содержание полифенольных соединений определяли модифицированным методом Фолина-Чокальтеу, в котором происходило окисление данных соединений реактивом, состоящим из смеси фосфорно-вольфрамовой и фосфорно-молибденовой кислот. Реактив Фолина-Чокальтеу восстанавливался в смесь окислов вольфрама голубого цвета и молибдена, что являлось качественной реакцией на наличие полифенольных соединений [7].

В качестве полифенольного стандарта использовали галловую кислоту [2, 5]. Был приготовлен стандартный раствор галловой кислоты в концентрации 0,03 мг/мл. Затем готовили разбавленные растворы разной концентрации для калибровки, измеряли их оптическую плотность на фотометре при длине волны 750 нм и строили градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации растворов галловой кислоты. В качестве контрольного образца применялась дистиллированная вода. По той же методике готовились экстракты скорлупы грецкого ореха для измерения оптической плотности и определения их концентрации в пересчете на эквивалент галловой кислоты по градуировочной кривой.

Данный спектрофотометрический анализ также лежал в основе количественного определения флавоноидов. В качестве стандарта был применен стандартный раствор рутина в 80%-ном этаноле. Концентрация спиртового раствора рутина равнялась 0,1 мг/мл. Для калибровки и построения градуировочной кривой из раствора готовили разбавленные растворы рутина разной концентрации. Затем измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 415 нм. В качестве химического реагента применялся 10%-ный спиртовой раствор хлорида алюминия. По полученным данным строился градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации растворов рутина. По той же методике готовились экстракты скорлупы грецкого ореха для измерения оптической плотности и определения концентрации флавоноидов в пересчете на эквивалент рутина в каждом исследуемом образце.

Результаты проведенных исследований по определению суммарного содержания полифенолов и флавоноидов в экстрактах скорлупы грецкого ореха в зависимости от степени измельчения и вида применяемого экстрагента представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2. Концентрация суммарного количества полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту

№ исследуемого экстракта	Оптическая плотность	Концентрация галловой кислоты, мкг/мл
1	0,092±0,001	0,86
2	0,090±0,001	0,83
3	0,062±0,001	0,52
4	0,255±0,001	2,68
5	0,312±0,001	3,32
Дистилл. вода	0,000	0,00

Таблица 3. Концентрация суммарного количества флавоноидов в пересчете на рутин

№ исследуемого экстракта	Оптическая плотность	Концентрация рутина, мкг/мл
1	0,026±0,001	1,93
2	0,051±0,001	4,34
3	0,035±0,001	2,80
4	0,101±0,001	9,16
5	0,437±0,001	41,53
Дистилл. вода	0,000	0,00

Анализ полученных результатов показал, что на концентрацию биологически активных веществ в экстрактах влияет степень измельчения скорлупы орехов и концентрация этилового спирта. Так наибольшее содержание полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту присутствовало в образце №5 с высокой степенью измельчения (1–3 мм) и применением 70% этилового спирта, а наименьшее содержание – в образце №3 с самой низкой степенью измельчения (20-30мм) с применением 96% этилового спирта.

Аналогичные закономерности выявлены относительно содержания флавоноидов.

**Заключение.** На основании всех проведенных исследований и полученных результатов можно сделать вывод о содержании ценных БАВ в экстракте скорлупы грецкого ореха, таких как флавоноиды и полифенольные соединения, для эффективного извлечения которых необходимо использовать фракции с самой высокой степенью измельчения и использовать в качестве экстрагента 70% раствор этилового спирта в соотношении с глицерином и водой 1:1:1. Также доказано в ходе исследования, что данный вид растительного сырья может быть применен в качестве перспективного источника для разработки новых лекарственных средств и биологически активных добавок к пище, что позволяет применить экономически выгодную безотходную технологию переработки плодов грецкого ореха.

#### **Литература.**

1. Горохова С. В. Полезные свойства представителей рода *Juglans* L. *Вестник ИрГСХА*. 2011; 44 (4): 34–40.
2. Темердашев З.А. Определение фенольных соединений и флавоноидов в водных экстрактах лекарственных растений. *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2011; 11: 22–26.
3. Дайронас Ж. В., Кулешова С. А., Пшукова И. В. Фитохимическое изучение листьев грецкого ореха как источника антиоксидантного средства. *Химия растительного сырья*. 2010; 4: 95–98.
4. Чебышев Н. В., Стреляева А. В., Лежава Д. И., Луферов А. Н., Бобкова Н. В., Карташова Н. В., Кузнецов Р. М. Изучение лекарственного растительного сырья грецкого ореха. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019; 8(4): 38–46
5. Цюпко Т. Г., Бриленок Н. С., Гуцаева К. С., \*Вершинин В. И. Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов в чае с применением разных вариантов метода FRAP. *Аналитика и контроль*. 2019; 23(1): 143–151.
6. Биганова С. Г. Разработка моделей и оценка мирового сортофонда ореха грецкого по качеству плодов. *Новые технологии*. 2022;18(4):128-138. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2022-18-4-128-138>.
7. Николаева Т. Н., Лапшин П. В., Загоскина Н. В. Метод определения суммарного содержания фенольных соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина-Дениса и реактивом Фолина-Чокальтеу: модификация и сравнение. *Химия растительного сырья*. 2021; 2: 291–299. – DOI 10.14258/jcprn.2021028250. – EDN CSUVWV.

## ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ *APOCINUM CANNABINUM* L., ВЫРАЩЕННОГО В МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

И.И. Ермолаев<sup>1,2\*</sup>, М.А. Ханина<sup>1</sup>, М.Г. Лежнина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГГТУ, г. Орехово-Зуево, Россия

<sup>2</sup>АО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Россия

e-mail: iltermolaev962@gmail.com

**Ключевые слова:** *Apocinum cannabinum* L., надземная часть, сухой экстракт, элементный состав, закономерности в распределении элементов.

**Введение.** Лекарственные растения (ЛР) широко используются для лечения и профилактики различных заболеваний на протяжении всей истории человечества, наиболее часто их употребляют в виде водных настоев, отваров и экстрактов. К одним из таких ЛР относится кендырь коноплевый семейства кутровые (*Apocinum cannabinum* L., Apocinaceae) – многолетнее травянистое растение с развитой корневой системой и отмирающей на зиму надземной частью. Результаты исследований показали, что надземная часть растения содержит широкий спектр биологически активных веществ (БАВ) [1]. Однако надо отметить, что проявление биологической активности экстракционных лекарственных форм, полученных из растительного сырья, обусловлено не только суммой БАВ, но и комплексом химических элементов, извлеченных из сырья. В последнее время уделяется большое внимание элементному составу как ЛР, так и экстрактов, полученных из растительного сырья [2]. В связи с этим актуальным является исследование элементного состава и закономерностей распределения элементов в сырьевой части перспективных ЛР и экстрактов, полученных из них.

**Цель.** Целью данной работы являлось исследование состава и содержания химических элементов в надземной части *Apocinum cannabinum*, выращенного на «Аптекарском огороде ГГТУ» в Московской области и в сухом экстракте, полученном из надземной части растения.

**Материалы и методы.** Образцы надземной части *A. cannabinum* собраны с растений, выращенных на «Аптекарском огороде ГГТУ» (Московская область, Орехово-Зуевский г.о., г. Орехово-Зуево) в 2022 г в фазе цветения. Собранные образцы надземной части были высушены естественной воздушно-теновой сушкой до воздушно-сухого состояния и заложены для хранения в соответствии с ГФ XIV издания. Воздушно сухое сырье (надземная часть) было разделено на морфологические группы: листья (объект № 1), стебли (объект № 2) и побеги (вся надземная часть) (объект № 3). Сухой экстракт получен из надземной части растения. Измельченную надземную часть (размер части 2 мм) трижды экстрагировали водой очищенной на кипящей водяной бане. Гидромодуль - 1:20, продолжительность каждой экстракции 20 мин с момента закипания экстрагента. Из объединенного фильтрата удаляли экстрагент при щадящем температурном режиме (30<sup>0</sup>С). Сухой экстракт надземной части *A. cannabinum* представляет собой порошок коричневого цвета, специфического запаха и вкуса (объект № 4). Состав и содержание химических элементов в анализируемых объектах исследовали на базе испытательного центра ООО "ХАЦ "Плазма" (г. Томск) методом масс-спектрометрического анализа с индуктивно связанной плазмой. Использовали масс-спектрометр ELAN DRC-e ICP-MS и оптико-эмиссионный спектрометр Agilent 715 ICP-OES. Статистическую обработку полученных результатов химического анализа осуществляли в программе Microsoft® Excel 2010 с вычислением погрешностей косвенных измерений, на основе опорных значений концентраций элементов и их погрешностей.

**Результаты.** В результате проведенного анализа во всех исследуемых образцах обнаружен 61 элемент, включая эссенциальные (\*табл. 1).

Таблица 1. Состав и содержание элементов в морфологических частях *Arosinum cannabinum* L. (мкг/г, n=5, P ≥ 95%)

Элемент	1	2	3	4	Элемент	1	2	3	4
Li	0,031	0,02	0,021	0,28	In	0,0034	0,0033	0,0028	<0,0001
Be	0,005	0,005	0,004	0,0103	Sn	0,35	0,08	0,18	0,59
Na	811,14	171,42	405,32	199,0	Sb	0,03	0,001	0,013	0,087
Mg	2172,0	1932,21	1688,22	4810,0	Te	0,054	0,036	0,037	0,018
Al	2,91	0,67	1,47	35,0	Cs	0,004	0,003	0,003	0,0063
Si	2392,01	2235,83	1903,7	6676,32	Ba	0,005	0,013	0,008	7,02
K	20047,0	22237,	17392,0	55261,0	La	0,006	0,010	0,007	0,017
Ca	10167,02	15513,0	10562,0	8551,0	Ce	0,007	0,005	0,005	0,023
Sc	0,49	0,62	0,46	0,591	Pr	0,008	0,011	0,008	0,0034
Ti	5,14	1,16	2,59	2,6	Nd	0,009	0,011	0,008	0,013
V	0,076	0,068	0,059	0,042	Sm	0,01	0,011	0,009	0,0024
Cr	0,93	0,96	0,78	3,3	Eu	0,011	0,015	0,011	0,00097
Mn	9,81	5,43	6,31	20,0	Gd	0,012	0,014	0,011	0,0022
Fe	125,02	57,91	75,33	42,0	Tb	0,013	0,015	0,011	0,0007
Co	0,021	0,023	0,018	0,092	Dy	0,014	0,013	0,011	0,0015
Ni	0,39	0,56	0,39	1,4	Ho	0,015	0,014	0,012	0,00022
Cu	6,62	3,82	4,32	11,0	Er	0,016	0,014	0,012	0,00072
Zn	21,91	13,22	14,41	27,0	Tm	0,017	0,009	0,011	<0,0001
Ga	0,18	0,09	0,11	0,066	Yb	0,018	0,012	0,012	<0,0001
Ge	0,0052	0,005	0,004	0,0101	Lu	0,019	0,015	0,014	0,00023
As	0,22	0,34	0,23	0,18	Hf	0,02	0,006	0,011	0,0017
Se	0,31	0,24	0,22	0,058	Ta	0,021	0,004	0,01	<0,0001
Br	3,66	3,31	2,92	3,92	W	0,022	0,024	0,019	0,11
Rb	4,691	17,602	9,171	13,1	Re	0,023	0,011	0,014	<0,0001
Sr	0,01	0,012	0,0093	28,5	Au	0,026	0,003	0,012	0,034
Y	0,01	0,011	0,0086	0,011	Hg	0,027	0,04	0,028	0,036
Zr	0,0068	0,0024	0,0038	0,15	Tl	0,028	0,140	0,069	0,013
Mo	3,28	2,93	2,64	0,90	Pb	0,029	0,009	0,016	0,403
Ag	0,02	0,009	0,012	0,075	Bi	0,03	0,016	0,019	0,013
Cd	0,031	0,024	0,023	0,103	Th	0,031	0,015	0,019	<0,0001
					U	0,032	0,021	0,022	0,016

При сравнительном анализе состава и содержания химических элементов в исследуемых объектах было выявлено, что по составу элементов морфологические части растения и сухой экстракт различий не имеют, но по их содержанию различаются. Установлено, что листья превосходят стебли и побеги по содержанию макроэлементов - Na, Mg и микроэлементов - Al, Si, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Ag, Sn, Sb, Au, Hg, Pb, Bi. Стебли, в сравнении с листьями и побегами, содержат больше макроэлементов, таких как K, Ca и микроэлементов - Sc, As, Rb, Ba. Ряд микроэлементов в стеблях и листьях содержится

приблизительно в равных количествах - Ge, V, Cr, Co, Ni, Se, Br, Sr, Y, In и др. Надо отметить, что образцы листьев характеризуются наибольшим содержанием элементов, включая эссенциальные. Сухой экстракт превосходит исходное сырье по содержанию элементов (включая эссенциальные): Li, Be, Mg, Al, Si, K, Cr, Mn, Co, Ni, Rb, Cu, Zn, Sr, Zr, Ag, Cd, Sn, Ba, Pb, Hg, но уступает по содержанию Na, Ca, Fe, As, Se.

При распределении элементов по убыванию их концентраций (до 0,20 мкг/г) в исследуемых объектах были получены ряды, включающие 21 элемент (\*табл. 2).

Таблица 2. Ряды элементов по убыванию их концентраций в морфологических частях и экстракте *Arocinum cannabinum* L

Объекты	Аккумулятивные ряды элементов по убыванию их концентраций
1	K>Ca>Si>Na>Mg>Fe>Zn>Mn>Cu>Ti>Rb>Br>Mo>Al>Cr>Sc>Ni>Sn>Se>As>Ga
2	K>Ca>Si>Mg>Na>Fe>Rb>Zn>Mn>Cu>Br>Mo>Ti>Cr>Al>Sc>Ni>As>Se>Ga>V
3	K>Ca>Si>Mg>Na>Fe>Rb>Zn>Mn>Cu>Br>Mo>Ti>Al>Cr>Sc>Ni>As>Se>Sn>Ga
4	K>Ca>Si>Mg>Na>Fe>Al>Sr>Zn>Mn>Rb>Cu>Ba>Br>Cr>Ti>Ni>Mo>Sc(Sn)>Li>As

Анализ полученных рядов выявил определенные закономерности в распределении элементов по концентрациям в исследуемых объектах. Несмотря на различие в содержании элементов в исследуемых объектах наблюдается схожесть в последовательности их распределения в них. Наибольшая схожесть в последовательности элементов в аккумулятивных рядах обнаруживается у образцов стеблей и травы. Это связано, возможно, с тем, что стебли составляют основную массу надземной части растения. При сопоставлении рядов элементов по убыванию их концентраций сухого экстракта и исходного сырья наблюдается такая же закономерность (\*табл. 2).

Содержание токсичных элементов в исследуемых образцах листьев, соцветий и экстракта находятся в пределах ПДК, принятых для пищевых растений, биологически активных добавок к пище [3].

При сравнительном анализе диаграмм, отражающих зависимости концентраций химических элементов в объектах исследования от их атомного порядкового номера в Периодической системе химических элементов Д.И. Менделеева (отложенной в логарифмической шкале) выявлено, что они носят однотипный характер и практически совпадают.

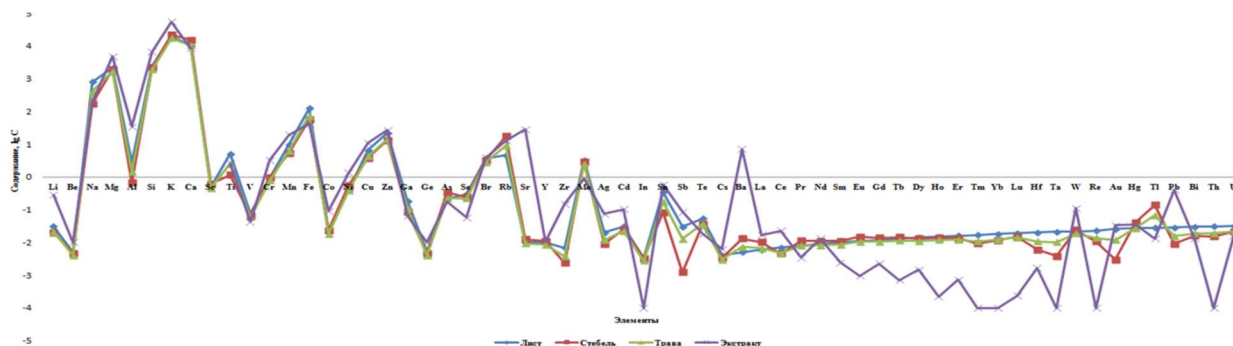


Рис. 2. Периодическая зависимость логарифма концентрации элементов в морфологических частях надземной части и сухом экстракте *Arocinum cannabinum* L.

**Заключение.** В надземной части и сухом экстракте *Arocinum cannabinum* L. обнаружен 61 элемент. Все исследуемые объекты по составу элементов аналогичны, но по

их содержанию различаются, наибольшая концентрация элементов установлена для листьев. Сухой экстракт превосходит исходное сырье по содержанию элементов (включая эссенциальные): Li, Be, Mg, Al, Si, K, Cr, Mn, Co, Ni, Rb, Cu, Zn, Sr, Zr, Ag, Cd, Sn, Ba, Pb, Hg, что подтверждает перспективность его использования в качестве источника биодоступных химических элементов. Несмотря на различие в содержании элементов в исследуемых объектах наблюдается схожесть в последовательности их распределения в них. Листья, побеги и траву изучаемого растения можно считать новым источником биологически активных веществ для фармацевтической промышленности.

#### **Литература.**

1. Ермолаев И.И. Кендырь коноплевый (*Arcinum cannabinum* L.) – источник биологически активных веществ // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2022» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2022. URL: [https://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov\\_2022/data/section\\_38\\_25800.htm](https://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2022/data/section_38_25800.htm) (дата обращения: 02.08.2023)

2. Ханина М.А., Лежнина М.Г., Подолина Е.А., Зинин Д.С., Кузнецова Ю.А., Родин А.П. Закономерности в распределении элементов в наземной части *Centaurea cyanus* L. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2023;22 (1):183-190.

3. СанПиН 2.3.2.1078-01, утверждены постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 14 ноября 2001 г. № 36.

### КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАЗЛИЧНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ГРУППАХ СЫРЬЯ *CRAMBE ABYSSINICA* HOCHST.

З.И. Игзакова, К.М. Гареева, Э.Х. Галиахметова

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа, Россия  
e-mail: yumaguzhina\_99@mail.ru

**Ключевые слова:** *Crambe abyssinica*, дубильные вещества, крестоцветные, титриметрический метод, количественный анализ.

**Введение.** Данная статья посвящена вопросам количественного определения дубильных веществ в различных морфологических группах сырья *Crambe abyssinica* Hochst., интродуцированной на территории Республики Башкортостан.

*Crambe abyssinica* Hochst. из рода *Crambe* семейства крестоцветных (Brassicaceae) широко применяется в медицине за счет большого содержания в плодах полувысыхающего жирного масла (до 40-50%) [1]. *Oleum Crambe abyssinica* используют как регенерирующее средство в составе увлажняющих и питательных кремов. Для масла *Crambe abyssinica* характерно низкое йодное число и высокое содержание одноосновной карбоновой кислоты (эруковой кислоты), жирорастворимых витаминов (А, Е, F) [1].

**Цель работы.** Провести количественный анализ дубильных веществ в различных морфологических группах сырья *Crambe abyssinica*.

**Материалы и методы.** Объекты исследования: трава, собранная в разные периоды вегетации (цветение, плодоношение), корни, плоды и шрот, оставшийся после отжима жирного масла.

Количественное определение дубильных веществ проводили титриметрическим методом, в пересчете на танин, согласно фармакопейной статье ОФС.1.5.3.0008.15 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [3]. Статистическую обработку полученных экспериментальных результатов осуществляли в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» и с помощью программы *Microsoft* [3].



**Результаты.** Результаты анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1. Количественное определение дубильных веществ в различных морфологических группах сырья *Crambe abyssinica*

№	Морфологическая группа	Содержание дубильных веществ, %	Метрологические характеристики
1	Трава (цветение)	1,35	$f = 5$ $S_{\bar{y}} = 0,01703$ $\varepsilon_{\alpha} = 0,05$ $\varepsilon_{отн} = 3,48$
2	Трава (плодоношение)	1,25	$f = 5$ $S_{\bar{y}} = 0,01020$ $\varepsilon_{\alpha} = 0,03$ $\varepsilon_{отн} = 2,22$
3	Корни	1,04	$f = 5$ $S_{\bar{y}} = 0,01140$ $\varepsilon_{\alpha} = 0,03$ $\varepsilon_{отн} = 2,67$
4	Плоды	1,72	$f = 5$ $S_{\bar{y}} = 0,01844$ $\varepsilon_{\alpha} = 0,05$ $\varepsilon_{отн} = 2,91$
5	Шрот	1,27	$f = 5$ $S_{\bar{y}} = 0,00632$ $\varepsilon_{\alpha} = 0,02$ $\varepsilon_{отн} = 1,57$

**Заключение.** В результате проведенных исследований оказалось, что наибольшее количество дубильных веществ в пересчете на танин содержится в плодах *Crambe abyssinica*. Их содержание составило  $1,72 \pm 0,05\%$ .

**Литература.**

1. Амирханов, Н.А. Катран (*Crambe* (Tournef.) L.) в Узбекистане / Н.А. Амирханов // *Вопросы систематики, распространения, биологии, интродукции, биохимии*. 1974. – С. 17-19.

2. Кочетков, Н.К. Химия биологически активных природных соединений / Н.К. Кочетков. – М.: Химия, 1970. – 378 с.

Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. 2018. 3. Т. 4. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol4/> (дата обращения - 05.04.2023).

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ НОНЕИ РУССКОЙ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ**

М.Е. Карташова, В.В. Величко\*, С.Д. Кучерова, О.М. Долганова  
Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России,  
г. Новосибирск, Россия  
e-mail: velichkvik@rambler.ru

**Введение.** Нонея русская (*Nonea rossica* Steven) – представитель семейства бурачниковые (*Boraginaceae*), широко распространенный на территории Сибири. Согласно литературным данным она используется в народной медицине в качестве антибактериального, антикоагулянтного и противовоспалительного средства [1], но в настоящее время не применяется в научной медицине из-за недостаточности сведений о химическом составе и отсутствии нормативной документации на сырье. Поэтому фармакогностическое исследование *Nonea rossica* представляет научный интерес.

**Цель исследования** – фармакогностическое, микробиологическое и фармакологическое исследование суммарных извлечений из травы нонеи русской.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служила трава н. русской, заготовленная в период цветения на остепнённом луге в Колыванском районе Новосибирской области в 2022 году.

Для проведения фитохимического, микробиологического и фармакологического исследований получали суммарные извлечения с использованием в качестве экстрагента спирта этилового различной концентрации: 20 %, 40 %, 70 % и 96 % при соотношении сырье: экстрагент (1:50), смесь нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 часа. Извлечение охлаждали при встряхивании на шейкере в течение 1 часа при комнатной температуре и фильтровали.

Полученные извлечения исследовали на предмет содержания оксикоричных кислот и флавоноидов методом спектрофотометрии.

Антимикробную активность определяли методом серийных разведений [2]. При этом штаммы микроорганизмов культивировали на питательных средах, в которые добавляли исследуемый экстракт. В качестве тест-культуры использованы штаммы грамположительных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538 FDA 209P) из коллекции Федерального бюджетного учреждения науки Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (ФБУН ГНЦ ПМБ), г. Оболensk.

Исследование антикоагулянтного действия проводили «*in vivo*», в эксперименте задействовано 27 крыс-самцов линии *Wistar* массой 200–220 г. Условия содержания и манипуляции с животными соответствуют стандартам, указанным в нормативных документах, регламентирующих работу с лабораторными животными. Все экспериментальные воздействия и взятие образцов проводили в одно и то же время.

Животные были разделены на три группы. Всем крысам один раз в сутки в течение 4-х дней внутривенно вводили растворы в объеме 0,5 мл на 100 г веса животного. Животным первой группы (интактная) вводили дистиллированную воду; животные второй группы получали сухой экстракт из травы н. русской в дозе 1,7 г/кг. Третья группа (контрольная) получала препарат сравнения – варфарин в дозе 0,215 мг/кг. Оценку антикоагулянтного действия проводили с использованием протромбинового теста.

**Результаты и обсуждение.** Ранее было установлено, что трава нонеи русской содержит эфиры кофейной кислоты, розмариновую кислоту и ее производные, а также О-гликозиды кверцетина и кемпферола и новое соединение – нонеазид, представляющий собой производное кверцетина, ацилированное фрагментом кофейной кислоты [3, 4].

При исследовании количественного содержания флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии наблюдали батохромный сдвиг – максимум поглощения хромогенного комплекса относительно исходного извлечения сместился в длинноволновую область (рис. 1) и выявили зависимость увеличения количественного содержания флавоноидов в извлечениях при увеличении концентрации спирта, снижение наблюдали при использовании 96% спирта (рис. 1). Это можно объяснить тем, что флавоноиды в ЛРС содержатся в виде гликозидов, поэтому хуже растворяются в крепком этаноле.

Присутствие кофейной кислоты в траве н. русской было подтверждено ранее методом ТСХ [3] и установлено ее количественное содержание в суммарных извлечениях в зависимости от используемого экстрагента (рис. 1).

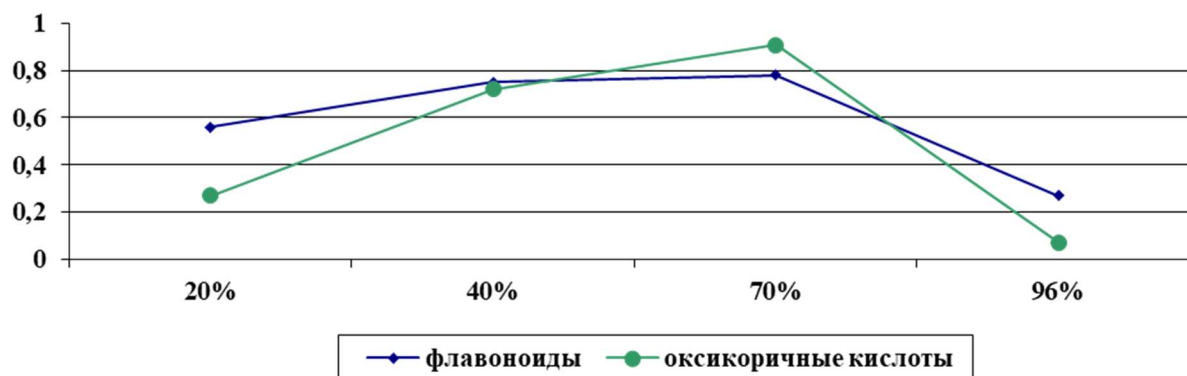


Рисунок 1. Количественное содержание флавоноидов (в пересчете на рутин) и оксикоричных кислот (в пересчете на кофейную кислоту)

Результаты эксперимента показывают, что вещества фенольной природы в большем количестве извлекаются при концентрации спирта этилового 40–70 %.

Далее было проведено исследование антимикробной активности. Установлено, что суммарные извлечения (40 %, 70 %, 96 %) из травы н. русской в объёме 100 мкл полностью ингибировали рост культур: *S. aureus*, в то время как извлечение, полученное с использованием в качестве экстрагента 20 % этанола, не проявило ингибирующих свойств.

При проведении контрольного опыта, обнаружено, что 96 % и 70 % этиловый спирт в дозе 100 мкл также подавляют рост *S. aureus*, а 40 % этанол не оказывал ингибирующего влияния на рост культур. Поэтому целесообразно использование 40 % этилового спирта в качестве экстрагента для получения лекарственных форм с противомикробной активностью.

Установлена антикоагулянтная активность сухого экстракта из травы нонеи русской, полученного при использовании в качестве экстрагента 70 % спирта этилового. Введение животным экстрактов в дозе 1,7 г/кг продемонстрировало увеличение протромбинового времени (ПВ) в 2,3 раза (по сравнению с контролем) и эквивалентное действие в сравнении с синтетическим препаратом сравнения – варфарином.

**Заключение.** Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать нонею русскую в качестве перспективного растения для внедрения в медицинскую практику в качестве антикоагулянтного средства непрямого типа действия, а также средства, обладающего противомикробной активностью в отношении *Staphylococcus aureus*.

#### Список литературы

1. Николаев Н.А., Ливазан М.А., Скирденко Ю.П., Мартынов А.И. Биологически активные растения и грибы Сибири в клинической медицине: научная монография в 2 тт.: Т. 2. Омский гос. мед. ун-т. М.: Издательский дом Академии Естествознания; 2019. 382 с.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012; 944 с.
3. D. N. Olennikov, M. E. Kartashova, V. V. Velichko, D. S. Kruglov. New flavonoids from *Nonea rossica* and *Tournefortia sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2022;58(6):1021–1025. DOI 10.1007/s10600-022-03858-9.
4. Карташова М.Е., Величко В.В. Фитохимическое исследование травы *Nonea rossica* Steven. Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. Пермь: ПГФА. 2022. 357 с.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕШНИХ И МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ШАЛФЕЯ ЛУГОВОГО (*SALVIA PRATENSIS*)

К.И. Кашфуллина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина  
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, г.Уфа, Россия  
e-mail: kamilla.kashfullina@mail.ru

**Ключевые слова:** *Salvia pratensis*, *Lamiaceae*, микроскопия, флавоноиды, хроматография.

**Введение.** Многогранные целебные свойства шалфея и его богатый химический состав представляют собой источник веществ, обладающих, противовоспалительными, антиоксидантными, регенеративными [1], антипролиферативными [2], гипогликемическими и гиполипидемическими [3], а также другими фармакологическими эффектами. Лечебные свойства различных видов шалфея были исследованы и доказаны во многих отечественных и зарубежных научных публикациях [2,3,4,5].

**Целью** данной работы является проведение макроскопического, микроскопического и качественного анализа *Salvia pratensis*, *Lamiaceae*.

**Материалы и методы.** Для исследования были использованы трава и листья *Salvia pratensis*, заготовленные на территории Республики Башкортостан в период цветения растения в июле 2022 года. Макроскопический и микроскопический анализ проводился методами, описанными в нормативной документации [6].

Для проведения качественного химического анализа были получены спиртовые экстракты с 70% этанолом. С полученными извлечениями проводили фармакопейные реакции на флавоноиды. Также была проведена тонкослойная хроматография на пластинках «Sorbfil» в системе этилацетат – муравьиная кислота – вода (8:1:1) с использованием стандартных образцов флавоноидов.

**Результаты.** Установлены диагностически значимые морфологические характеристики исследуемого растения, которые могут быть использованы для идентификации сырья (рис. 1, 2).

Стебель средней высоты 30 см, прямой, четырёхгранный, опушённый, олиственный. Листья супротивные, цельные, яйцевидные, городчатые по краю, длинночерешковые с опушёнными черешками, верхние листья сидячие маленькие. Зелёные с верхней стороны, светло-зелёные с нижней. Жилкование перистое, краевое. Цветки собраны в мутовки по 4-5 штук длиной 5-8 мм, которые образуют прерывистое колосовидное соцветие. Венчик сине-фиолетовый. Чашечка колокольчатая. Чашелистики зелёные густо опушённые. Верхняя губа венчика округлая серповидная длиннее нижней губы. Тычинка выходит из венчика в виде усиков.



А



Б



Рисунок 1. Макроскопические признаки сырья *S. pratensis*. А – средняя высота стебля 30 см, Б – цветки сидячие в мутовках, В – цветок тёмно-фиолетового цвета, Г – трёхгранный орешек внутри цветка, Д – верхняя сторона листа, Е – нижняя сторона листа

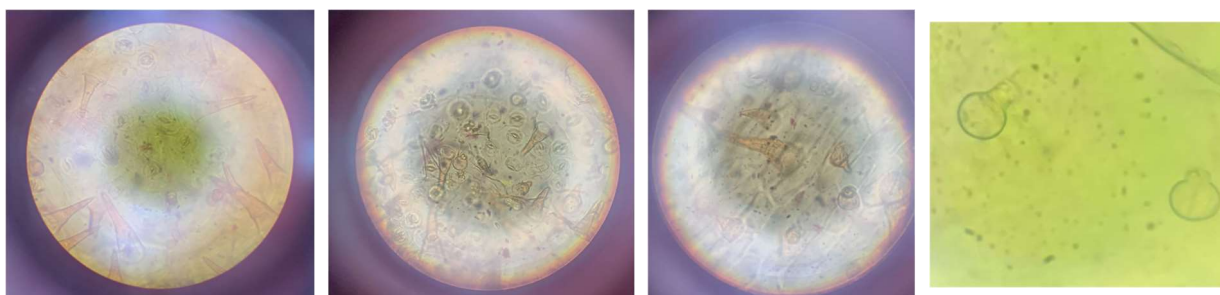


Рисунок 2. Микроскопические признаки сырья *S. pratensis*. А - верхняя сторона листа с дицитным устьичным аппаратом, головчатыми и простыми волосками и эфиромасличными железками, Б, В, Г – нижняя сторона листа со множеством устьиц, простых волосков и одноклеточных головчатых волосков на ножке

Реакция с 3% спиртовым раствором алюминия хлорида проявилась окрашиванием раствора в жёлто-зелёный цвет, что подтвердило наличие флавоноидов в сырье. После проведения ТСХ и сравнении со стандартными образцами установлено присутствие следующих флавоноидов: рутин, лютеолин-7-гликозида, гиперозида (рис. 3). По более интенсивному свечению лютеолин-7-гликозида на хроматограмме можно сделать предположение о том, что данный флавоноид является основным в сырье *S. pratensis*.

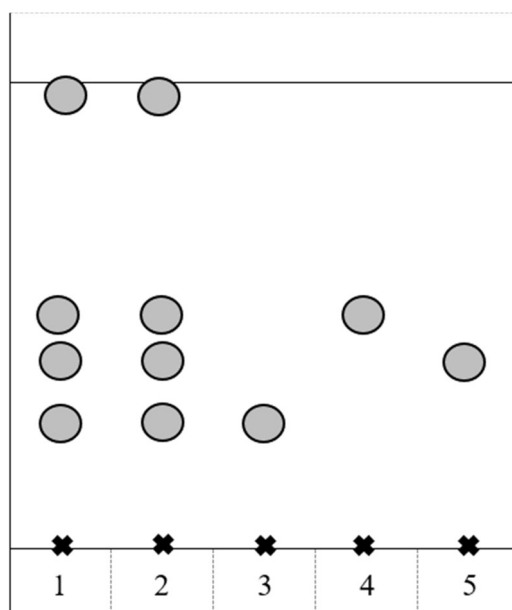


Рисунок 3. Хроматограмма в системе этилацетат - муравьиная кислота - вода (8:1:1). 1 – этанольный экстракт листьев *S. pratensis*, 2 – этанольный экстракт травы *S. pratensis*, 3 – рутин (СО), 4 – лютеолин-7-гликозид (СО), 5 – гиперозид (СО)

### **Заключение.**

Проведенное исследование показало перспективность дальнейшего детального изучения растительного сырья *S.pratensis*, и может быть использовано для разработки нормативной документации на новое лекарственное сырье.

### **Литература.**

1. Зилфикаров И.Н., Жилин А.В. Определение дитерпеновых кислот в сырье шалфея лекарственного. *Фармация*. 2007; 7-9.
2. Бубенчикова В.Н., Кондратова Ю.А. Антипролиферативная активность водорастворимых полисахаридных комплексов растений рода *Salvia L.* *Медицинский вестник Башкортостана*. 2013; 91-93.
3. Агаджанян А. А. Гипогликемическая и гиполипидемическая активность экстракта листьев *Salvia officinalis L.* *Евразийский союз ученых*. 2015; 5-8.
4. Губанова, Е. А. Фармакогностическое изучение травы шалфея мускатного (*Salvia Sclarea L.*). *Автореф. дисс. .... канд. фармацев. наук*. Пятигорск. 2010; 23 с.
5. Бобкова, Н. В. Фармакогностическое изучение комплексных лекарственных растительных средств. *Автореф. дисс. .... д-ра фармацев. наук*. Москва. 2017; 22 с.
6. ОФС.1.5.3.0003.15. Интернет-ресурс <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol2/513/>

## АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ХИМИЧЕСКОЙ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ПРЕПАРАТОВ НА ЕГО ОСНОВЕ

В.А. Куркин

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, г. Самара, Россия

e-mail: kurkinvladimir@yandex.ru

**Введение.** Широкое использование методов тонкослойной хроматографии (ТСХ), газовой хроматографии (ГХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV) открыло новые возможности для целей стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных растительных препаратов (ЛРП). В ГФ РФ XIV издания включены 107 видов ЛРС, фармацевтических субстанций растительного происхождения – 5 и лекарственных препаратов на основе субстанций растительного происхождения – 14 наименований [1]. В этом направлении работа продолжается, в том числе в рамках подготовки Государственной фармакопее Российской Федерации XV издания и Фармакопее Евразийского экономического союза. В этой связи актуальной является гармонизация фармакопейных методов анализа в ряду сырье – фармацевтическая субстанция – лекарственная форма [2, 4]. К сожалению, в некоторых случаях под гармонизацией понимают «слепое» копирование методик, включенных в Европейскую фармакопею [5]. На наш взгляд, это ошибочный путь, поскольку не во всех случаях в Европейской фармакопее проблемы стандартизации ЛРС и препаратов решены успешно. Кроме того, как следствие, в методиках анализа предусматривается использование дорогостоящих зарубежных стандартных образцов и других материалов. Очевидно, что на поверхности одна из актуальных проблем – разработка и производство отечественных фармакопейных стандартных образцов.

**Цель работы** – рассмотрение актуальных аспектов химической стандартизации ЛРС, фармацевтических субстанций растительного происхождения и ЛРП.

**Материалы и методы.** В качестве материалов использованы лекарственные растения, лекарственное растительное сырье, биологически активные соединения (БАС), ГФ РФ XIV, European Pharmacopoeia (10<sup>th</sup> Edition). В исследовании нашли применение фармакогностические, химические, хроматографические, спектральные методы (УФ-, ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия).

**Результаты.** На наш взгляд, отправной точкой для обсуждения методических и методологических аспектов химической стандартизации ЛРС и ЛРП является химическая

классификация фармакопейных растений. Необходимость совершенствования химической классификации диктуется и тем обстоятельством, что при анализе номенклатуры лекарственных средств прослеживается четкая тенденция увеличения доли растительных препаратов, применяемых в медицинской практике. Особое методологическое значение в плане решения современных проблем фармакогнозии имеет введенное нами в науку новое понятие – ведущая группа БАС [2], которая позволяет в случае содержания в растительном сырье нескольких химических групп веществ, обладающих различной биологической активностью, с одной стороны, сохранять классическую фармакогнозию, а с другой, - успешно решать вопросы химической стандартизации ЛРС, фармацевтических субстанций растительного происхождения и ЛРП.

В качестве ведущей группы БАС предложено считать вещества, наиболее уязвимые с точки зрения фармакогнозии на всех стадиях технологического процесса - от заготовки, сушки, хранения, переработки ЛРС до лекарственной формы.

Среди новых групп БАС в фармакогнозии особый интерес представляют фенилпропаноиды. Отнесение к фенилпропаноидам таких лекарственных растений, как родиола розовая (золотой корень) (*Rhodiola rosea* L.), элеутерококк колючий [*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.], сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L.), Melissa лекарственная (*Melissa officinalis* L.), эхинацея пурпурная [*Echinacea purpurea* (L.) Moench.], расторопша пятнистая [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.], лимонник китайский (*Schizandra chinensis* Baill.), позволяет научно обосновывать подходы к стандартизации сырья вышеперечисленных растений, включающих использование современных методов анализа (ТСХ, ВЭЖХ, спектрофотометрия), а также разработанных нами таких фармакопейных стандартных образцов, как розавин, сирингин (элеутерозид В), силибин, гамма-схизандрин, розмариновая кислота.

Важно подчеркнуть, что в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания, прослеживается четкая тенденция к использованию методологического подхода, заключающегося в оценке качества ЛРС и ЛРП, как правило, не по одной, а по нескольким группам БАС. Данная тенденция наглядно иллюстрируется на примере 70 видов ЛРС, анализ которых осуществляется на содержание фенольных соединений, причем значительная часть из них (26 видов) формально, с точки зрения химической классификации, относится к другим группам действующих веществ. Особенно это ярко проявляется в случае анализа ЛРС, содержащего в качестве БАС эфирные масла и флавоноиды, причем с использованием ТСХ, ГХ, ВЭЖХ и спектрофотометрии [1, 3]. Это очень важно в том отношении, что в случае получения экстракционных препаратов (настой, настойка, экстракты) из эфиромасличного сырья имеет место определение не только эфирного масла, но и таких групп действующих веществ, как флавоноиды, фенилпропаноиды, дубильные вещества. Данный методологический подход соответствует современной мировой тенденции, предполагающей использование в методиках качественного и количественного анализа определение 2-3 групп БАС, имеющих диагностическое значение.

**Заключение.** Таким образом, современная химическая классификация лекарственного сырья фармакопейных растений является важнейшей методологической базой в плане совершенствования методик качественного и количественного анализа ЛРС и ЛРП. Ключевым моментом в решении этого вопроса является использование в методиках анализа фармакопейных стандартных образцов.

#### **Список литературы.**

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. – Четырнадцатое издание. – М.: Министерство здравоохранения РФ, 2018. / URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов); изд. 5-е, перераб. и доп. - Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2020. – 1278 с.
3. Куркин В.А. Актуальные аспекты стандартизации сырья и препаратов, содержащих фенольные соединения *Ведомости Научного центра экспертизы средств*

медицинского применения. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2022; 12(2):127-141.

4. Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия: Учебник. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016.

5. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition. EDQM - European Directorate for the Quality of Medicines. Accessed October 13, 2021. Available from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>.

## ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТАЦИИ И ЗАМОРАЖИВАНИЯ ВОЗДУШНО-СУХИХ РУДБЕКЦИИ ШЕРШАВОЙ ЦВЕТКОВ НА ЭКСТРАКЦИЮ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Р.И. Лукашов\*, Н.С. Гурина

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

e-mail: raman.lukashou@gmail.com

**Ключевые слова:** рудбекии шершавой цветки, фенольные соединения, воздушно-сухое сырье, ферментация, замораживание.

**Введение.** Рудбекии шершавой цветки – новый вид лекарственного растительного сырья (ЛРС), включенный в Государственную фармакопею Республики Беларусь. Стандартизацию их проводят по сумме фенольных соединений (ФС) и содержанию патулитрина. Рудбекия шершавая обладает иммуномодулирующим, противовоспалительным и антиоксидантным действием.

С целью рационального и эффективного использования ЛРС перед проведением экстракции биологически активных веществ (БАВ) целесообразно проводить предварительную обработку свежего или воздушно-сухого сырья. К таким способам обработки относят ферментацию и замораживание, которые, как правило, выполняют для свежего сырья. Однако отсутствуют данные о том, как эти виды обработки влияют на экстракцию БАВ из воздушно-сухого сырья.

**Цель.** Изучить влияние ферментации и замораживания воздушно-сухих рудбекии шершавой цветков на выход из них ФС при экстракции.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили рудбекии шершавой цветки, заготовленные в ботаническом саду Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (окрестности д. Новое Поле Минского района) в 2020, 2021 и 2022 гг. от культивируемых форм в фазу массового цветения. Сырье подвергли воздушно-теновой сушке. До проведения исследований цветки хранили в бумажных пакетах.

Учитывая сохранение некоторой ферментной активности воздушно-сухого ЛРС, провели его ферментацию при 40 °С в течение следующих промежутков времени: 0,5; 1; 1,5; 2; 3 и 6 ч в трехкратном объеме воды. Предварительно сырье было измельчено до размера частиц (2000). Затем проводили оценку активности полифенолоксидазы по А. Н. Бояркину и определение суммы ФС в пересчете на патулитрин по ранее разработанным способам.

Для воздушно-сухого сырья также изучали влияние замораживания на выход ФС в четырех вариантах:

- 1) замораживание без упаковки на 24 ч;
- 2) замораживание в полиэтиленовой упаковке на 24 ч;
- 3) замораживание в фольге на 24 ч;
- 4) замораживание в течение 4 ч без упаковки с последующим добавлением трехкратного избытка воды и проведением ферментации в естественных условиях в течение 24 ч (холодовая ферментация).

Затем проводили взвешивание сырья и количественное определение ФС.



Статистическую обработку проводили при помощи компьютерной программы Microsoft Office Excel 2016 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание повторяли три раза ( $n = 3$ ;  $P = 0,95$ ). Результаты представляли в виде  $\bar{X} \pm \Delta_{\bar{x}}$ , где  $\bar{X}$  – среднее значение выборки;  $\Delta_{\bar{x}}$  – полуширина доверительного интервала средней величины. Сравнение двух групп значений проводили при помощи  $t$ -критерия Стьюдента. Значения статистически значимо различались при  $p < 0,05$ . Влияние изучаемых факторов обработки на экстракцию ФС оценивали при помощи дисперсионного анализа.

**Результаты.** На рисунках 1 и 2 представлены графики зависимости содержания ФС и активности ферментов от продолжительности ферментации при 40 °С и зависимости содержания ФС от вариантов используемого замораживания рудбекии соответственно.

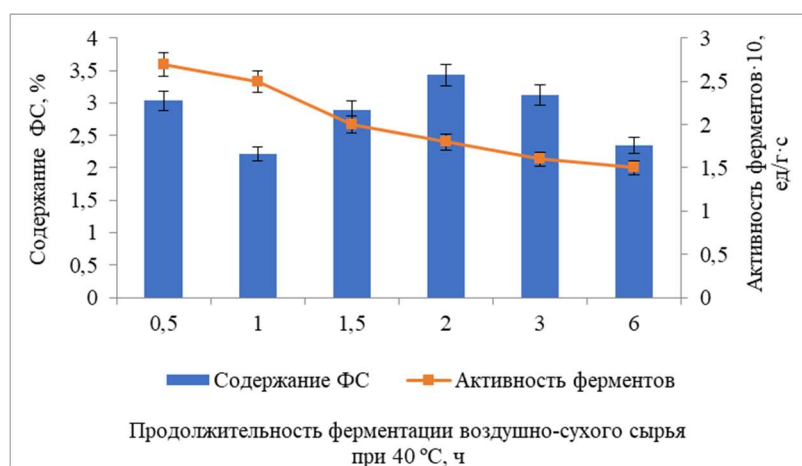


Рисунок 1. Зависимость содержания суммы ФС и ферментной активности воздушно-сухих рудбекии шершавой цветков от продолжительности ферментации при 40 °С

После ферментации воздушно-сухих рудбекии шершавой цветков содержание суммы ФС снижалось в диапазоне от 20,2 % (отн.) ( $p = 0,040$ ) до 69,5 % (отн.) ( $p = 0,0028$ ) по сравнению с нативным сырьем, которое не подвергалось обработке. Фиксируемая ферментная активность плавно снижалась в изучаемом временном диапазоне от 3,7 % (отн.) ( $p = 0,23$ ) до 86,7 % (отн.) ( $p = 0,0035$ ) (рисунок 1). При этом ферментная активность сырья влияла на содержание в нем ФС ( $p = 0,015$ ;  $F_{\text{крит}} = 4,96$ ;  $F = 8,68$ ).

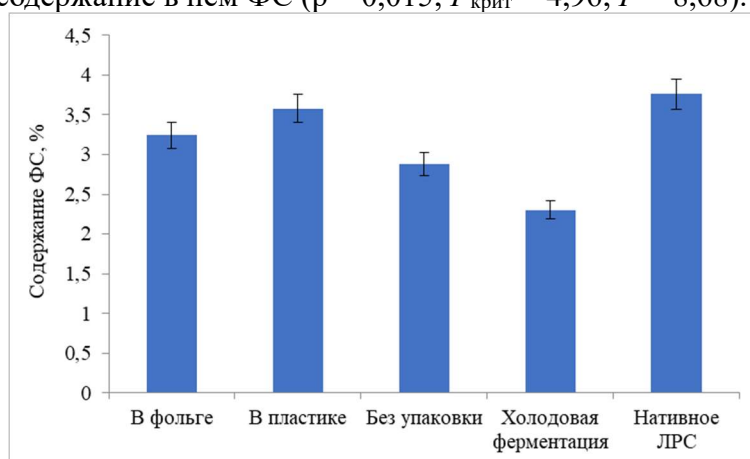


Рисунок 2. Влияние замораживания сырья на выход ФС из рудбекии шершавой цветков

При всех способах замораживания рудбекии содержание ФС снижалось от 5,1 % (отн.) ( $p = 0,45$ ) при замораживании в фольге до 63,4 % (отн.) ( $p = 0,0059$ ) при холодной ферментации (рисунок 2).

**Заключение.** Ферментация воздушно-сухих рудбекии шершавой цветков при 40 °С и их замораживание в различных вариантах приводило к снижению содержания ФС, при

ферментации снижение содержания ФС связано с падением ферментной активности в изучаемом временном диапазоне.

#### **Литература.**

1. Марченко С. И. (общ. ред.). Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II): в 2 т. Т. 2: Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. Молодечно.: Победа; 2016. 1368 с.

Lukashou R., Gurina N. Chemical Composition and Pharmacological Potential of *Rudbeckia hirta* L. Review. Acta Scientific Medical Sciences. 2019;3(10):65-70. DOI: 10.31080/ASMS.2019.03.0409.

2. Лукашов Р. И. Обезжиривание календулы цветков как способ повышения экстракции флавоноидов. *Вестник фармации*. 2022;1(95):48-56. DOI: 10.52540/2074-9457.2022.1.48.

3. Нестеров Г. В., Литвинова Т. М., Кондрашев С. В. Влияние процесса ферментации на показатели качества листьев ольхи видов *Alnus incana* (L.) Moench и *Alnus glutinosa* (L.) Gaerth. *Медико-фармацевтический журнал "Пульс"*. 2020;22(3):67-71.

4. Мазец Ж. Э., Судейная С. В., Грицкевич Е. Р. Практикум по физиологии растений: учебно-методическое пособие. Ч. 2. Минск; 2010. 71 с.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОПОЛАСКИВАТЕЛЯ ДЛЯ ПОЛОСТИ РТА НА РАСТИТЕЛЬНОЙ ОСНОВЕ

А.И. Марахова, С.Н. Панов, С.Н. Разумова, В.Ю. Жилкина  
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», г. Москва,  
Россия  
e-mail: agentcat85@mail.ru

**Ключевые слова:** ополаскиватель для полости рта, фитопрепараты, флавоноиды, дубильные вещества, клинические испытания.

**Введение.** Воспалительные заболевания полости рта (ВЗПР), по данным ВОЗ, диагностируются у 90-95% взрослого населения. Для профилактики и лечения ВЗПР необходимо применение специальных средств гигиены [1].

Авторами был разработан состав ополаскивателя для полости рта на основе лекарственного растительного сырья [2], который показал более высокую эффективность по сравнению с препаратами сравнения – «Стоматофитом» и «Ротоканом». В состав ополаскивателя входят пропиленгликолевые экстракты околоплодника граната (эвкалипта листьев чабреца трава [3].

**Цель исследования:** провести анализ основных биологически активных соединений, обуславливающих антимикробный эффект ополаскивателя, а также исследовать его клиническую эффективность.

**Материалы и методы.** Исследование содержания и состава флавоноидов и дубильных веществ – пуникалагинов проводили на системе ультраэффективной жидкостной хроматографии «Ultimate 3000», оснащенной дегазатором, трехканальным насосом, термостатом колонок, термостатируемым автосамплером, диодно-матричным детектором и тройным квардупольным масс-спектрометрическим детектором Thermo TSQ Endura. Количественный анализ дубильных веществ проводили спектрофотометрическим методом по реакции Фолина-Чокальтеу согласно ЕР 9 [5], но в пересчете на галловую кислоту.

Клиническую динамику и индексные показатели состояния полости рта изучали у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) легкой степени тяжести до и после комплексного лечения с применением ополаскивателя. Исследование проводилось в основной группе с применением ополаскивателя и в контрольной группе с применением 0,05% раствора хлоргексидина биглюконата у 29 пациентов (17 мужчин и 12 женщин) с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) легкой степени.

Состояние тканей пародонта оценивали с помощью упрощенного индекса гигиены (ОHI-S), индекса кровоточивости при зондировании (ВОР), папиллярно-маргинально-альвеолярного индекса (РМА), индекса нуждаемости в лечении заболеваний пародонта (СРITN).

**Результаты.** Анализ состава БАС выявил наличие флавоноидов (табл. 1) и дубильных веществ.

Таблица 1. Основные флавоноиды ополаскивателя для полости рта

№	Флавоноид	Содержание, мг/г
1.	Кверцетин-3-глюкуронид	0,24
2.	Циннарозид	0,20 мг/г
3.	Кемпферол-3-глюкуронид	0,39 мг/г
4.	Лютеолин	0,03 мг/г
5.	Кемпферол	0,001 мг/г
Сумма флавонолов, флавонов и их гликозидов		0,87

Дубильные вещества были обнаружены в количестве  $1,02 \pm 0,02$  мг/мл. Среди маркерных соединений выявлены пуникалагин А и В.

Обнаружено, что значения индекса ОHI-S у пациентов I и II групп соответствует плохому уровню гигиены полости рта. Значение индекса СРITN ( $1,82 \pm 0,04$  в I группе и  $1,81 \pm 0,05$  во II группе) показывает нуждаемость пациентов в профессиональной гигиене и санации полости рта.

Результаты оценки динамики значений индексов ОHI-S и СРITN показаны на рис.1, индексов ВОР и РМА – на рис.2

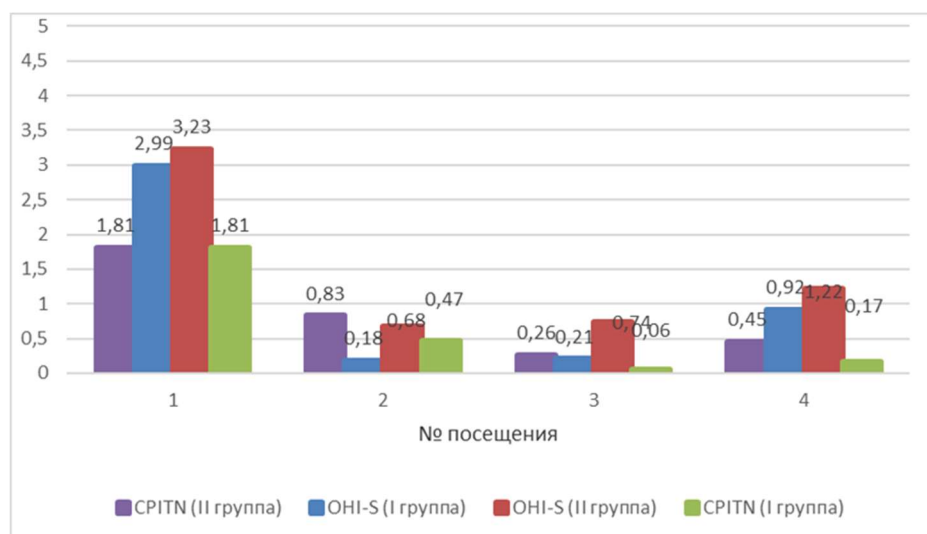


Рисунок 1. Динамика значений индексов ОHI-S и СРITN у пациентов основной (I) и контрольной (II) групп

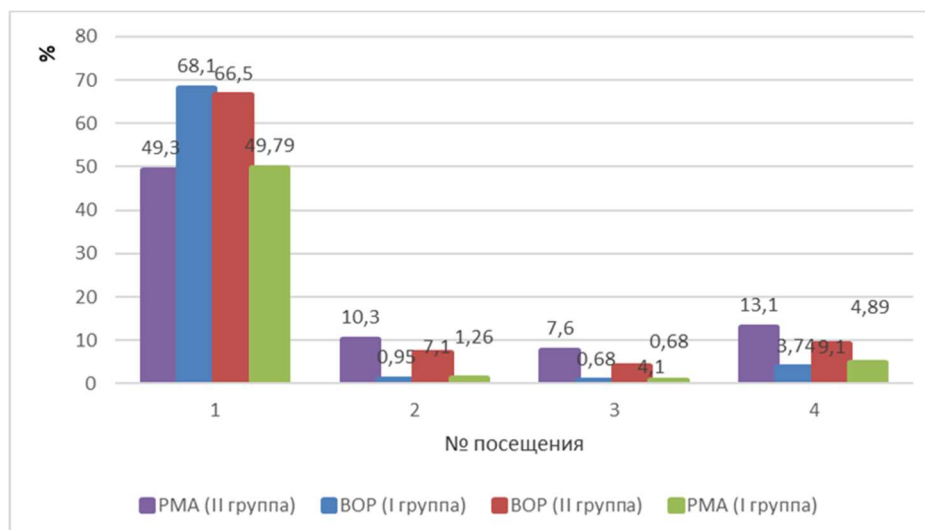


Рисунок 2. Динамика значений индексов WOP и PMA у пациентов основной (I) и контрольной (II) групп

**Заключение.** Были изучены основные БАС, обуславливающие антимикробный эффект ополаскивателя для полости рта – флавоноиды и дубильные вещества. Клиническая оценка показала эффективность применения ополаскивателя у пациентов с ХГП легкой степени тяжести.

#### **Литература.**

1. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/oral-health1>.
2. Патент № 2694415 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/185, А61К 36/53, А61К 36/61. Средство для полости рта, обладающее противомикробным действием: № 2018109419: заявл. 16.03.2018: опубл. 12.07.2019 / С. Н. Панов, А. И. Марахова, В. Ю. Жилкина [и др.]. – EDN PLUCBS.
3. Разработка комплексного растительного средства для профилактики воспалительных заболеваний полости рта / А. И. Марахова, Н. П. Сачивкина, С. Н. Панов, С. Н. Разумова *Медицинский вестник Башкортостана*. 2022; 17, 5(101):62-66. – EDN DJVYUC.
4. Орлова А.А., Повыдыш М.Н. Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье. *Химия растительного сырья*. 2019;4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/obzor-metodov-kachestvennogo-i-kolichestvennogo-analiza-taninov-v-rastitelnom-syrie> (дата обращения: 13.09.2023).

## ХИМИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ СТЕРОИДНОЙ СТРУКТУРЫ ГРУППЫ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДОВ

М.С. Рубанкова\*

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь  
e-mail: marirubankova@gmail.com

**Ключевые слова:** химическая деградация, глюкокортикостероиды, преднизолон.

**Введение.** В настоящее время мировое сообщество беспокоит вопрос утилизации медицинских отходов, значительную долю которых занимают фармацевтические препараты (просроченные, неиспользованные и т. д.), из-за их вероятного неблагоприятного воздействия на окружающую среду. Первые сообщения о наличии ЛС в сточных водах и природных водных резервуарах были опубликованы еще в 1977 году, и с этого момента данная тема не теряет своей актуальности [1-2]. Глюкокортикостероиды – лекарственные средства стероидной структуры, обладающие широким спектром показаний и применяющиеся в различных областях медицинской практики. Широкое

использование, доступность для населения и специфическая химическая структура стероидного ядра являются основными факторами, объясняющими актуальность вопроса утилизации данной группы лекарственных средств. Существующие методы утилизации фармацевтических препаратов имеют ряд недостатков, в результате чего возникла потребность в поиске альтернативных технологий, обеспечивающих эффективную и безопасную утилизацию лекарственных средств. В качестве такой перспективной альтернативы может рассматриваться утилизация лекарственных препаратов путем их химической деструкции [3-4].

**Цель.** Целью работы является разработка подходов к химической деградации лекарственных препаратов стероидной структуры группы глюкокортикостероидов.

**Материалы и методы.** В качестве образца для исследования предполагаемых способов химической утилизации был использован преднизолон раствор для инъекций 30 мг/1 мл, содержащий в своем составе преднизолон в виде преднизолон натрия фосфата. Для химической деструкции преднизолон выбраны такие окислители как перманганат калия, бихромат калия и пероксид водорода 30%. Анализ полноты химической деструкции проводился при помощи абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях. Регистрация результатов проводилась на спектрофотометре Solar серии РВ2201.

Химическая деградация с применением перманганат калия и бихромат калия проводилась при добавлении концентрированной серной кислоты и нагреванием на водяной бане в течение одного часа при температуре 100 °С с проведением контрольных опытов.

Химическая деградация с применением пероксида водорода 30% проводилась как при добавлении серной кислоты, так и без добавления. Исследуемые растворы выдерживались в естественных условиях, спектрофотометрическое исследование проводилось спустя 24 ч и 96 ч. Для установления эффективной концентрации пероксида водорода для химической деградации к фиксированному количеству исследуемого образца добавляли пероксид водорода различного объема и различной концентрации. Исследуемые растворы выдерживались в естественных условиях, спектрофотометрическое исследование проводилось спустя 24 ч.

**Результаты.** Анализ полноты химической деструкции проводился путем сравнения показателей спектров поглощения исходного и полученных растворов. Максимум поглощения исходного раствора наблюдался при 247-248 нм. После проведения химической деградации с применением перманганата калия и бихромата калия наблюдается снижение оптической плотности при длине волны 247 нм, что может свидетельствовать о снижении концентрации исследуемого вещества вследствие его деструкции.

**Заключение.** Установлена возможность осуществления химической деструкции преднизолон при применении перманганата калия (уменьшение оптической плотности при 247 нм на 85,52%) и бихромата калия (уменьшение оптической плотности при 247 нм на 33,22%). Установить степень деструкции исследуемого вещества при применении пероксида водорода, используя выбранные методики и спектрофотометрической анализ, не представляется возможным.

#### **Литература.**

1. Fernandes J. P., Almeida C. M. R., Salgado M. A., Carvalho, M. F., Mucha A. P. Pharmaceutical compounds in aquatic environments—occurrence, fate and bioremediation prospective. *Toxics*, 2021;9(10):257.
2. Caban M., Stepnowski, P. How to decrease pharmaceuticals in the environment? A review. *Environmental Chemistry Letters*, 2021;19:3115-3138.
3. Omar T. F. T., Aris A. Z., Yusoff F. M., Mustafa S. Risk assessment of pharmaceutically active compounds (PhACs) in the Klang River estuary, Malaysia. *Environmental Geochemistry and Health*, 2019;41:211-223.

4. Liu Y. H., Lv Y. Z., Huang Z., Guan Y. F., Huang J. W., Zhao J. L., Ying G. G. Uptake, elimination, and toxicokinetics of selected pharmaceuticals in multiple tissues of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021;226:112874.

## ПОЛИСАХАРИДНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ КАК АГЕНТЫ ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА

В.Е. Силантьев<sup>1,2\*</sup>, А.С. Белоусов<sup>1</sup>, М.Е. Шмелев<sup>1</sup>, Ф.О. Трухин<sup>1</sup>, Р.А. Шатилов<sup>1</sup>,  
В.В. Кумейко<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Дальневосточный Федеральный Университет, Школа медицины и наук о жизни, г. Владивосток, Россия,

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия

<sup>3</sup>Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, г. Владивосток, Россия,  
e-mail: vladimir.silantiev@gmail.com; vkumeiko@yandex.ru

**Ключевые слова:** пектин, хитозан, мультиформная глиобластома, таргетная терапия.

Актуальный вопрос создания систем для преодоления гематоэнцефалического барьера и нацеленной доставки лекарств для лечения злокачественной опухоли головного мозга (мультиформной глиобластомы) решался авторами данной работы. Существующие методы терапии в основном приводят к появлению рецидивов заболевания. Разработаны лекарственные средства, эффективность которых подтверждена в отношении клеток некоторых форм глиобластом. Но гематоэнцефалический барьер пропускает лишь наноразмерные частицы с определенным химическим составом, поверхностным зарядом и размером приблизительно 200 нм [1]. Их можно использовать в качестве наноразмерных контейнеров, способных к загрузке лекарств в их внутреннее пространство.

Целью работы являлась разработка наноразмерных частиц, способных преодолевать гематоэнцефалический барьер, для последующей таргетной доставки лекарств против мультиформной глиобластомы. Авторами разработаны и апробированы методы синтеза стабильных наночастиц методом ионного гелирования на основе двух противоположно заряженных полиэлектролитов природного происхождения: анионного пектина [2] и катионного хитозана, а также полиэлектролитного комплекса из обоих полисахаридов. Получены результаты исследования физико-химических свойств материалов методами электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии, ИК-спектроскопии, оценки поверхностного заряда. Решались проблемы пробоподготовки, условий проведения экспериментов и возможности загрузки/выгрузки модельных молекул. Показано, что формируются различные по форме наночастицы со средним размером 100-300 нм и различным поверхностным зарядом, зависящим от состава исходных растворов и концентраций компонентов. Проведенный анализ метаболической активности на клеточной линии глиобластомы U87-MG для наночастиц и гелеобразующих агентов с использованием тетразолиевого красителя МТТ существенных изменений не выявил. Полисахаридные наночастицы можно использовать в клинической практике при таргетной терапии опухолей головного мозга. Такой метод позволяет снизить общую токсичность препарата и его дозу.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-73-10172).*

### **Литература.**

1. Silant'ev V.E., Shmelev M.E., Belousov A.S., Patlay, A.A., Shatilov, R.A., Farniev, V.M., Kumeiko, V.V. How to Develop Drug Delivery System Based on Carbohydrate Nanoparticles Targeted to Brain Tumors. *Polymers*. 2023; 15(11):2516. DOI: 10.3390/polym15112516.

2. Patlay A.A., Belousov A.S., Silant'ev V.E., Shatilov, R.A., Shmelev, M.E., Kovalev, V.V., Perminova, I.V., Baklanov, I.N., Kumeiko, V.V. Preparation and Characterization of Hydrogel

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ВОДНЫХ И ВОДНО-СПИРТОВЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЯХ ИЗ ЯСНОТКИ ПУРПУРНОЙ ТРАВЫ

В.А. Терлецкая\*, Р.И. Лукашов

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь  
e-mail: terleckaiava@mail.ru

**Ключевые слова:** яснотка пурпурная, фенольные соединения, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, иридоиды.

**Введение.** Яснотка пурпурная (*L. purpureum*) – представитель рода *Lamium*, широко распространенный на территории Республики Беларусь. Данное растение перспективно для исследования, так как установлен его антиоксидантный потенциал и спрогнозирован широкий спектр биологической активности. В предыдущих исследованиях установлено присутствие таких группы БАВ (биологически активных веществ) как фенольные соединения (ФС), флавоноиды, гидроксикоричные кислоты (ГКК), содержание которых необходимо установить количественно.

**Цель.** Установить содержание суммы ФС, флавоноидов, иридоидов, ГКК в водных и водно-спиртовых извлечениях из яснотки пурпурной травы.

**Материалы и методы.** Объект исследования – трава *L. purpureum*, заготовленная в окрестностях г. Столин в 2021 году. Навеску сырья массой 0,200 г экстрагировали водой Р, 40, 70 или 96 % (об/об) этиловым спиртом на водяной бане в течение 30 мин при 60°C и соотношении сырья: экстрагент 1:50. Полученное извлечение охлаждали и фильтровали.

Для количественного определения (КО) суммы ФС к 0,0500 мл полученного извлечения прибавляли 0,0750 мл реактива Фолина-Чокальтеу и 2,38 мл 10% раствора  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , доводили до 5,00 мл водой очищенной. Оптическую плотность (ОП) измеряли через 30 мин при длине волны 760 нм. Компенсационный раствор (КР) готовили по аналогичной схеме без добавления извлечения. Содержание ФС определяли в пересчете на хлорогеновую кислоту (ХК) методом градуировочного графика.

Для КО суммы флавоноидов к 0,100 мл извлечения прибавляли 0,0200 мл  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 0,400 мл 2% раствора  $\text{AlCl}_3$  в 70% этаноле и доводили водой очищенной до объема 5,00 мл. ОП измеряли через 30 мин при длине волны 400 нм. КР готовили по аналогичной схеме без добавления раствора  $\text{AlCl}_3$ . Содержание флавоноидов определяли в пересчете на цинарозид методом градуировочного графика.

КО суммы ГКК. К 0,250 мл извлечения прибавляли 0,500 мл 0,5 М раствора  $\text{HCl}$ , 0,500 мл реактива Арнова (10,0 г  $\text{NaNO}_2$  и 10,0 г  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$  растворяли в 100,0 мл воды очищенной), 0,500 мл раствора  $\text{NaOH}$  разведенного и доводили водой очищенной до 5,00 мл. Измерение ОП проводили сразу после смешивания реактивов при длине волны 525 нм. КР готовили по аналогичной схеме без добавления реактива Арнова. Содержание суммы ГКК в пересчете на ХК рассчитывали по формуле (1):

$$C = (A * 5) / (163 * 100 * m), \quad (1)$$

где 163 – удельный показатель поглощения (УПП) ХК; А – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса навески испытуемого сырья, г.

Для КО суммы иридоидов к 0,500 мл извлечения прибавляли 0,500 мл раствора гидроксилamina щелочного РЗ, выдерживали в течение 5 минут, добавляли 1,00 мл 1 М раствора  $\text{HCl}$  и 0,500 мл 10 г/л раствора  $\text{FeCl}_3$  в 0,1 М растворе  $\text{HCl}$ . КР готовили по аналогичной схеме без добавления извлечения. Содержание суммы иридоидов рассчитывали в пересчете на гарпагида ацетат по формуле (2):

$$C = (A * 2,5) / (56,03 * 100 * m), \quad (2)$$

где 56,03 – УПП продуктов реакции гарпагида ацетата; А – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса навески испытуемого сырья, г.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили при помощи программы Microsoft Office Excel 2010 (пакет «Анализ данных»). Каждое испытание выполняли четыре раза ( $P = 95\%$ ;  $n = 4$ ). Результаты представляли в виде  $X \pm \sigma$ , где X – среднее значение;  $\sigma$  – стандартное отклонение выборочного среднего.

**Результаты.** Содержание ФС в экстрактах из травы *L. purpureum* составило 2,00-6,15%. Эффективность экстракции увеличивалась в ряду этанол 96%↗вода↗этанол 70%↗этанол 40%. Использование этанола 40% в качестве экстрагента позволяет усилить экстракцию флавоноидов в 3,1 раза по сравнению с этанолом 96% (рисунок 1).

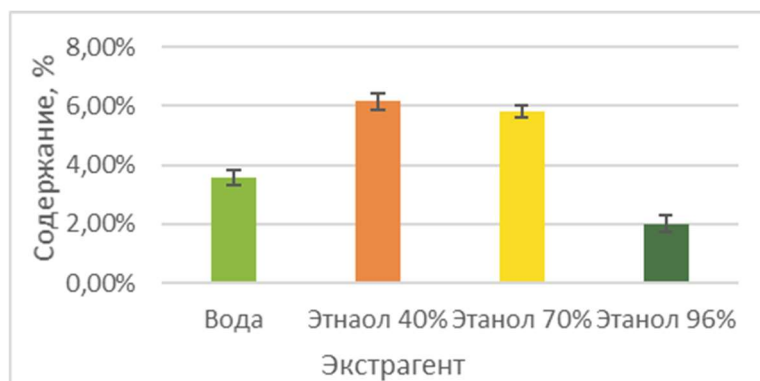


Рисунок 1. Содержание суммы ФС

Содержание флавоноидов в экстрактах из травы *L. purpureum* составило 0,97%-3,39%. Эффективность экстракции увеличивалась в ряду вода↗этанол 96%↗этанол 40%↗этанол 70%. Использование этанола 70% в качестве экстрагента увеличивает извлечение флавоноидов в 3,5 раза по сравнению с водой (рис. 2).

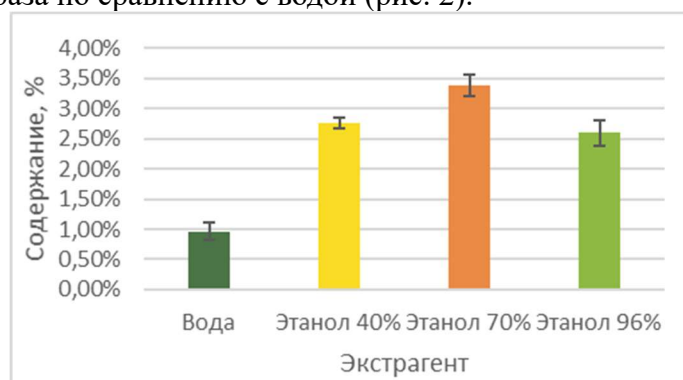


Рисунок 2. Содержание суммы флавоноидов

Содержание ГКК в извлечениях составило 0,52%-2,91%. Эффективность экстракции увеличивалась в ряду вода↗этанол 96%↗этанол 70%↗этанол 40%. Экстрагирование этанолом 40% увеличивает извлечение ГКК в 5,6 раз по сравнению с водой (рис. 3).



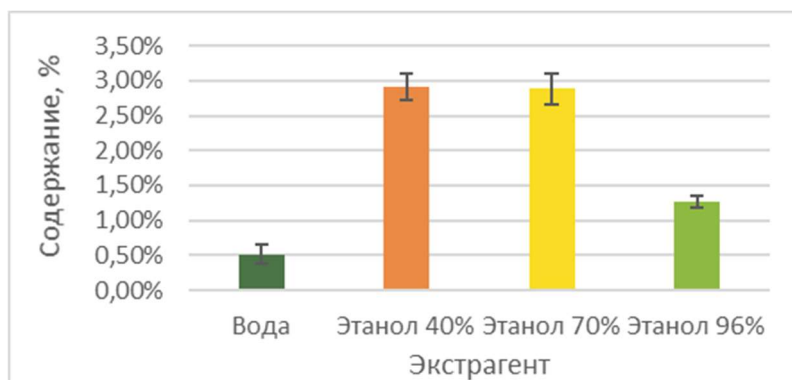


Рисунок 3. Содержание суммы ГКК

Содержание иридоидов в извлечениях составило 3,29%-7,50%. Эффективность экстракции увеличивалась в ряду вода/этанол 40%/этанол 70%/этанол 96%. Экстрагирование этанолом 96% увеличивает извлечение иридоидов в 2,3 раза по сравнению с водой (рис.4).

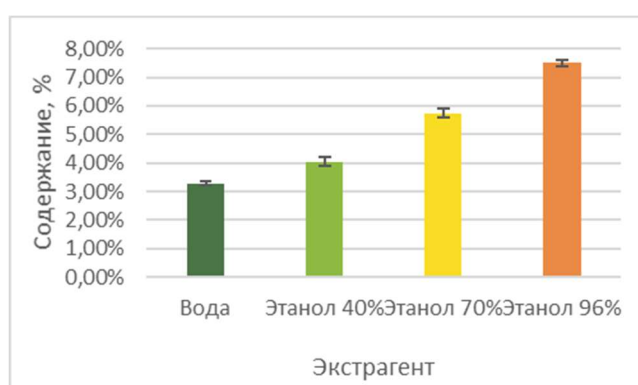


Рисунок 4. Содержание суммы иридоидов

Полученные нами данные сопоставимы с литературными. В исследовании методом спектрофотометри (СФМ) в траве *L. purpureum* определено 1,54% флавоноидов. Содержание фенолкарбоновых кислот в *L. purpureum*, определённое методом СФМ по реакции с алюминия хлоридом, составило 2,04%. Содержание ФС в *L. purpureum* в пересчёте на галловую кислоту составило 2,57%.

**Заключение.** Оптимальными экстрагентами для исследованных групп БАВ являются водно-спиртовые смеси: этанол 40% для ФС и ГКК, этанол 70% для флавоноидов, этанол 96% для иридоидов. Траву *L. purpureum* перспективно рассмотреть как источник для получения иридоидов (7,50%), а также флавоноидов (3,31%) и ГКК (2,91%).

#### **Литература.**

1. Терлецкая В.А., Лукашов Р.И. Антиоксидантная активность водных и водно-спиртовых извлечений из растений рода *Lamium* на моделях DPPH и ABTS. *Вестник Пермской государственной фармацевтической академии*. 2023; С. 207-211.
2. Tsiarletskaia V.A., Lukashou R.I. Thin-layer Chromatography (TLC) of Hydroalcoholic Extracts from *Lamium album*, *purpureum* and *maculatum*. *11th conference: pharmacy science and practice 2021: Abstract book*. Kaunas, 2021. P.55.
3. Matkowski A, M. Piotrowska. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. 2006; 77(5): 346–353.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ *SAUSSUREA SALICIFOLIA* L.

К.Н. Хайдарова\*, А.М. Хусаинова, Е.И. Гулина, В.Ю. Андреева  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск,  
Россия  
e-mail: karinahajdarova@gmail.com

**Ключевые слова:** *Saussurea salicifolia*, макропризнаки, микропризнаки.

**Введение.** *Saussurea salicifolia* L. – растение, содержащее полисахариды, оказывающие прямое NO-стимулирующее действие на антигенпрезентирующие клетки, что в перспективе может быть использовано для создания иммуностропных препаратов на их основе [1]. Для введения в клиническую практику нового вида лекарственного растительного сырья необходимо разрабатывать нормативную документацию, регламентирующую в том числе его подлинность.

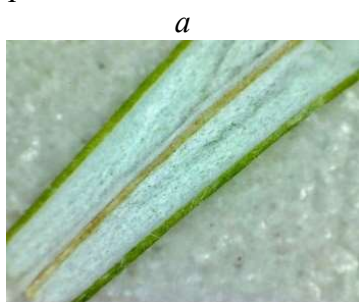
**Цель.** Определение макро- и микроскопических признаков надземной части *Saussurea salicifolia* L.

**Материалы и методы.** Объект исследования – цельная и измельченная воздушно-сухая надземная часть *Saussurea salicifolia* L., заготовленная в 2020-2022 гг. в Хакасии и Забайкальском крае. Исследование проводили согласно ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» и ОФС.1.5.1.0001.15 «Лекарственное растительное сырье» с использованием ручной лупы, микроскопов «МБС-10» и «Биоскоп-1», фотоаппарата «Canon» 650D.

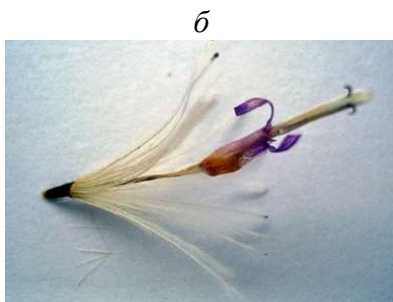
**Результаты.** По требованиям Государственной Фармакопеи [2] для определения подлинности ЛРС необходимо составить описание внешнего вида цельного и измельченного сырья, а также макро- и микроскопических признаков. Так, в ходе морфологического исследования и микроскопирования надземной части *Saussurea salicifolia* L. обнаружены следующие диагностически значимые признаки.

Диагностически важными морфологическими признаками являются:

- войлочно-опушенный бороздчатый стебель;
- короткочерешковые или сидячие, ланцетно-линейные или продолговатые, цельнокрайние листья, снизу листа беловойлочные (рис. 1а);
- обертки черепитчатые, паутинисто-опушенные, в верхней части окрашены в фиолетовый цвет;
- цветки трубчатые, фиолетово-розовые (рис. 1б);
- многочисленные корзинки, собранные в щитковидные соцветия (рис. 1в);
- цвет стеблей и листьев зеленовато-серый;
- измельченное сырье с кусочками корзинок, отдельных цветков, листьев и стеблей различной формы;
- порошок *Saussurea salicifolia* L. серовато-зеленого цвета с фиолетово-розовыми вкраплениями.



а  
Внутренняя поверхность листа



б  
Цветок



в  
Корзинка

Рисунок 1. Макродиagnosticические признаки сырья *Saussurea salicifolia* L.

Диагностически важные микроскопические признаки:

- двухрядные волоски края листочков обертки (рис. 2а);

- простые волоски листовой пластинки нескольких типов (бичевидные, нитевидные и расширенные у места прикрепления многоклеточные волоски);
- железистые волоски с коричневым содержимым внутри (рис.2б);
- устьица аномоцитного типа;
- выраженная складчатость кутикулы;
- острроверхушечные сосочковидные волоски;
- слабоизвилистые клеточные стенки нижнего эпидермиса (рис. 2в);
- переплетающиеся нитевидные волоски (рис. 2г).



Рисунок 2. Микродиагностические признаки сырья *Saussurea salicifolia* L.

**Заключение.** Установлены диагностически значимые признаки сырья сосюреи иволистной. К морфологическим (внешним) признакам относятся: особенности опушения стебля, листьев, листочков обертки, их размеры; форма листовой пластинки и обертки; особенности строения соцветия. Микроскопическими признаками, необходимыми для диагностики сырья, являются форма клеток и степень извилистости клеточных стенок эпидермиса листа, обертки и лепестков венчика, а также особенности их опушения.

#### **Литература.**

1. Решетов Я. Е., Лигачёва А. А., Авдеева Е. Ю., Данилец М. Г., Головченко В. В., Трофимова Е. С., Гулина Е. И., Шерстобоев Е. Ю., Гурьев А. М., Ровкина К. И., Кривошеков С. В., Белоусов М. В. Полисахариды трех видов *Saussurea* DC (*S. controversa*, *S. salicifolia*, *S. frolovii*): выделение, характеристика и влияние на NO-продуцирующие свойства макрофагов. *Химия растительного сырья*. 2019; 4: 77–85.

2. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронное издание]. Режим доступа: [http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14\\_1/HTML/276/index.html#zoom=zz](http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/276/index.html#zoom=zz).

### КАПИЛЛЯРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ФЛАВОНОИДНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ СЕРПУХИ ВЕНЦЕНОСНОЙ (*SERRATULA CORONATA* L.)

Д.В. Шишканов, Е.Н. Курманова

ФГБОНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва, Россия  
e-mail: dimm18@mail.ru

**Ключевые слова:** капилляропротекторные свойства, модель ксилолового воспаления, флавоноидная фракция травы серпухи венценосной.

**Введение.** Использование фитообъектов в медицинской практике не потеряло своей актуальности в настоящее время: примерно третья часть из всех зарегистрированных и применяемых в нашей стране лекарственных средств приходится на фитосредства, из которых значительная доля представлена лекарственным растительным сырьем (ЛРС) и суммарными препаратами. Ассортимент данной категории средств постоянно расширяется за счет новых видов ЛРС и продуктов их переработки. При этом, не отрицая необходимости поиска новых растительных источников лекарственных средств, не стоит забывать о том,

что зачастую не до конца раскрытый медикофармацевтический потенциал имеет ЛРС, уже известное в медицине.

Одним из таких растений является серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.) - многолетнее травянистое поликарпическое растение, относящееся к семейству астровые (сложноцветные) Asteraceae (Compositae). Данный вид ЛРС неплохо изучен с точки зрения химического состава и спектра фармакологической активности, однако, на наш взгляд, недостаточно востребован в медицинской практике. Растение вида *S. coronata* содержат широкий набор флавоноидов, массовая доля которых составляет от 2 до 18% в пересчете на сухое сырье [1-5]. В траве этого растения также содержатся гидроксикоричные кислоты, каротиноиды, хлорофилл, витамин С, витамин К, апиин, антоцианы, кумарины, эфирное масло, сесквитерпеновые лактоныполисахариды, терпеноиды, каучук [1,2].

В ФГБНУ ВИЛАР была получена флавоноидная фракция травы серпухи венценосной.

Цель. Изучение капилляроукрепляющего действия флавоноидной фракции травы серпухи венценосной в условиях экспериментальной модели «ксилолового воспаления».

**Материалы и методы.** Изучение влияния флавоноидной фракции травы серпухи венценосной (ФФТСВ) выполняли согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Миронов А.Н., 2012) на модели локальной воспалительной реакции на крысах по методу К.Н. Монаковой.

Данный эксперимент был рассмотрен и одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР (протокол № 95 от 23.01.23).

В эксперименте были использованы белые нелинейные крысы-самцы с массой тела 200,0-220,0 г. в количестве 40 особей. Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБНУ «НЦБТ» ФБМА России (Московская область). Животных содержали в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе. Перед началом эксперимента животные находились в карантине 14 суток.

Животные были разделены на 4 группы по 10 особей в каждой. Животным опытных групп исследуемое вещество вводили в дозах 100 и 200 мг/кг. Препаратом сравнения являлся «Детралекс» (ООО «СЕРВЬЕ РУС», Россия) в дозе 80 мг/кг. Исследуемые вещества суспендировали в 1%-ном крахмальном геле и вводили крысам внутрижелудочно с помощью специального атравматического зонда 1 раз в сутки на протяжении 30 суток. Животные контрольной группы получали 1% крахмальный гель в эквивалентном объеме.

За сутки до последнего введения исследуемых веществ всем животным депилировали переднюю брюшную стенку. Площадь депилируемой поверхности составляла 3x3 см<sup>2</sup>. За 12 часов до начала проведения эксперимента животных лишали корма. В качестве индикатора проницаемости сосудов использовали раствор трипановой сини. Через 1 час после последнего введения исследуемых веществ животным в хвостовую вену вводили 0,5% раствор трипанового синего в 0,9% растворе NaCl в объеме 1 мл на 100 г массы тела. Через 30 сек. на кожу животных наносили 50 мкл ксилолола. Далее регистрировали время появления первых петехий (в мин), время их отчетливого окрашивания, а также интенсивность прокрашивания. По разнице во времени появления пятен и их диаметру (визуально) в контрольной и опытных группах судили о действии исследуемых объектов на проницаемость капилляров.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ «Statistica 13 for Windows».

**Результаты.** Результаты изучения капилляропротекторных свойств флавоноидной фракции травы серпухи венценосной приведены на рисунках 1,2.

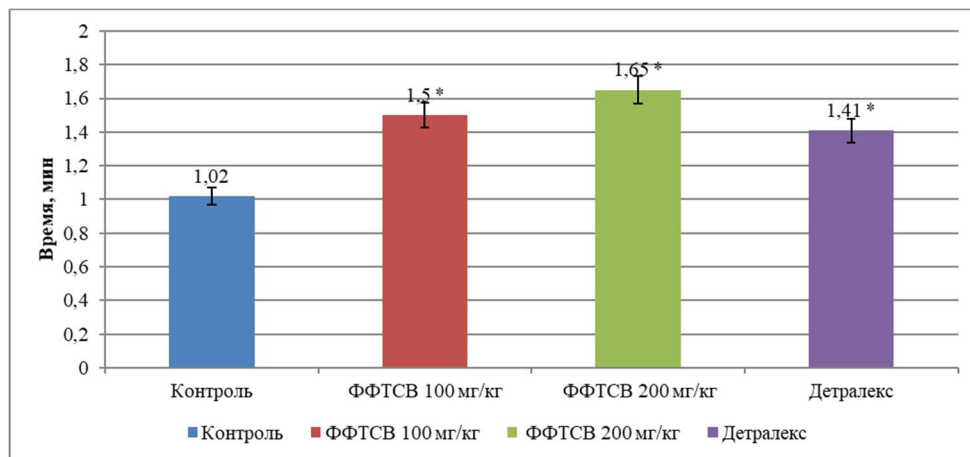


Рисунок 1. Время появления петехий

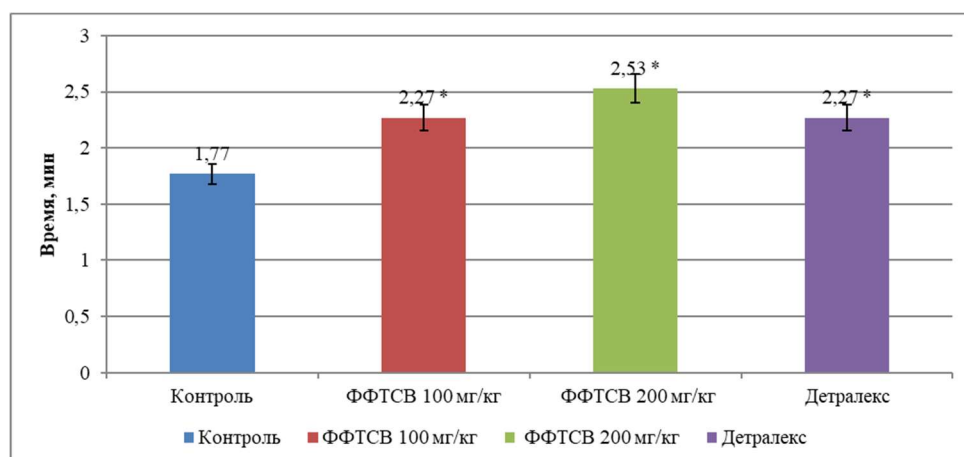


Рисунок 2. Время отчетливого прокрашивания петехий

Примечание: \*- различия статистически достоверны относительно контрольной группы при  $p \leq 0,05$ .

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что флавоноидная фракция травы серпухи венценосной обладает выраженным капилляроукрепляющим действием в условиях экспериментальной модели ксилолового воспаления, снижая проницаемость сосудистой стенки.

В результате статистического анализа выявлено, что в группах животных, получавших ФФТСВ в дозах 100 и 200 мг/кг, отмечено достоверное увеличение времени появления петехий (на 47 и 62 % соответственно) и времени отчетливого их прокрашивания (на 28 и 43 %), что говорит о ее выраженном дозозависимом капилляроукрепляющем действии.

У животных, получавших препарат сравнения Детралекс® в дозе 80 мг/кг, также отмечено достоверно выраженное увеличение времени появления петехий (на 38%) по сравнению с контрольной группой. Также отмечено увеличение времени отчетливого прокрашивания петехий - на 28 %.

Не отмечено достоверных отличий во времени появления петехий и времени их отчетливого прокрашивания у группы, получавшей ФФТСВ в дозе 100 мг/кг и группы, получавшей препарат сравнения «Детралекс». В то же время в группе, получавшей ФФТСВ в дозе 200 мг/кг, отмечено достоверное увеличение времени появления петехий - на 24 %, что также свидетельствует о сопоставимом капилляроукрепляющем эффекте ФФТСВ и препарата сравнения.

Установленное в опытах *in vivo* капилляроукрепляющее действие ФФТСВ может быть обусловлено входящим в ее состав комплексом фенольных соединений.

**Заключение.** В результате проведенных экспериментов показано, что флавоноидная фракция травы серпухи венценосной обладает выраженным капилляроукрепляющим действием при выбранной продолжительности курса введения. Данный экстракт перспективен для дальнейшего изучения и создания на его основе новых эффективных лекарственных растительных средств.

Исследования выполнены в рамках темы НИР 12202260102-6 (FGUU-2022-0010) «Направленный скрининг, оценка фармакологической активности и безопасности биологических активных веществ и фармацевтических композиций на их основе».

**Литература.**

1. Ангаскиева А.С., Андреева В.Ю., Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н., Бородышена Е.А, Харина Т.Г. Исследование химического состава серпухи венценосной, культивируемой в Сибири. *Химия растительного сырья*. 2003;4: 47–50.

2. Мягчилов А.В., Соколова Л.И., Горовой П.Г., Кечайкин А.А. Особенности состава флавоноидов в серпухе венценосной (*Serratula coronata* L.s.l.) Сибири и Дальнего Востока России. *Химия растительного сырья*. 2020;2: 171–179.

3. Urbanska M., Nawrot J., Dawid-Pac R., Kaczerowska-Pietrzak K., M. Morag M., Ratajczak L., Nowak G. Detection of pharmacological active compounds of the Asteraceae family and their chemotaxonomical implications. *Journal of Plant Sciences*. 2014;2 (5):187–191.

4. Vanyolos A., Beni Z., Dekany M., Simon A., Bathori M. Novel ecdysteroids from *Serratula Wolffii*. *The Scientific World Journal*. 2012; 5:25-28.

5. Liktör-Busa E., Simon A., Toth G. The first two ecdysteroids containing a furan ring from *Serratula wolffii*. *Tetrahedron Letters*. 2008;49 (11): 1738–1740.

# СИМПОЗИУМ 2. АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

## Фундаментальные и прикладные аспекты исследований фармакодинамики и фармакокинетики новых лекарственных кандидатов

### ФАРМАКОКИНЕТИКА НОВОГО АНАЛЬГЕТИКА ПРОИЗВОДНОГО 1,4-БЕНЗОДИАЗЕПИН-2-ОНА

А.Е. Алифоренко<sup>1,2\*</sup>, В.В. Быков<sup>1,2</sup>, В.С. Мотов<sup>2</sup>, А.И. Венгеровский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ООО «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»), г. Томск, Россия

E-mail: gundareva\_ae@mail.ru

**Ключевые слова:** производное 1,4-бензодиазепин-2-она, линейность фармакокинетики, абсолютная биодоступность.

**Введение.** Изучение фармакокинетики оригинальных фармакологически активных веществ является обязательным этапом при разработке новых лекарственных средств [1, 2].

На основе молекулярного моделирования и изучения связи «структура–аффинитет к бензодиазепиновым рецепторам–анальгетическая активность» была спрогнозирована и синтезирована новая молекула, обозначенная шифром PAV-0056. Соединение PAV-0056 в диапазоне доз 0,1–1 мг/кг не уступает по выраженности анальгетического эффекта диклофенаку натрия в дозе 10 мг/кг и трамадолу в дозе 20 мг/кг [3].

**Цель.** Изучение фармакокинетики и абсолютной биодоступности производного 1,4-бензодиазепин-2-она (шифр — PAV-0056).

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 160 свободных от патогенной флоры крысах самцах стока *Sprague Dawley* (масса тела 250–300 г, возраст 1,5–3 мес). Протокол исследования одобрен локальными этическими комитетами ООО «Ифар» и СибГМУ. Для исключения влияния пищи на фармакокинетику животных лишали корма за 16 ч до начала исследования.

Соединение PAV-0056 вводили крысам однократно в желудок в дозах 0,1, 1 и 10 мг/кг и внутривенно в дозе 0,004 мг/кг в 1 % водном растворе поливинилпирролидона. Для отбора проб крови крыс помещали на 3 мин в камеру, постепенно заполняемую диоксидом углерода, фиксировали потерю рефлексов, отбирали кровь из полости сердца в пробирки с гепарином натрия (50 ЕД/мл). Животных выводили из эксперимента цервикальной дислокацией. При введении соединения PAV-0056 в желудок пробы крови получали до начала эксперимента и через 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 и 24 ч после введения вещества, при внутривенном введении — до инъекции и через 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 и 24 ч после нее (по 5 крыс в каждой временной точке). Плазму получали центрифугированием при 1500 g в течение 15 мин, замораживали в жидком азоте и хранили при температуре –70 °С до проведения анализа.

Концентрацию соединения PAV-0056 в плазме измеряли на масс-спектрометре QTRAP 4500 (AB Sciex, США) в комплексе с жидкостным хроматографом Infinity 1260 (Agilent Technologies, США). Методика количественного определения соединения PAV-0056 в плазме крыс была впервые разработана и валидирована перед исследованием.

Хроматографические данные обрабатывали с помощью программного обеспечения MultiQuant 3.0 (AB Sciex, США). Фармакокинетические параметры рассчитывали с

помощью программы Microsoft Excel (Microsoft, США). Данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения, представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ), не подчиняющиеся — в виде медианы ( $Me$ ) и интерквартильного размаха ( $Q1; Q3$ ). Различия между выборками оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента или  $U$ -критерию Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Величина линейной связи (корреляция) между двумя переменными, распределение которых подчинялось нормальному закону распределения, оценивали с помощью коэффициента линейной детерминации ( $R^2$ ) [4].

**Результаты.** После однократного введения крысам в желудок соединения PAV-0056 в дозах 0,1, 1 и 10 мг/кг его концентрация в плазме достигала максимума ( $T_{max}$ ) через 0,8–1,3 ч и составляла 1,4, 13 и 305 нг/мл соответственно (рис. 1).

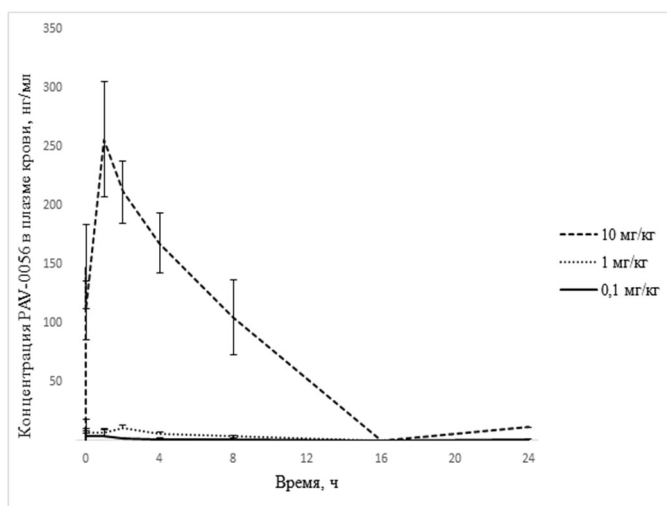


Рисунок 1. Усредненные фармакокинетические профили соединения PAV-0056 в плазме крыс после однократного введения в желудок в дозах 0,1–10 мг/кг ( $n = 5$ )

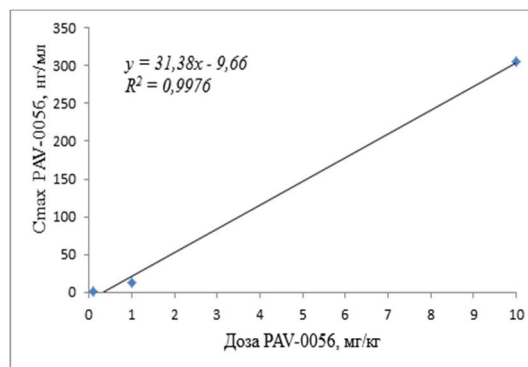


Рисунок 3. Зависимость  $C_{max}$  от дозы соединения PAV-0056 в плазме крыс после однократного введения в желудок в дозах 0,1–10 мг/кг ( $n = 5$ )

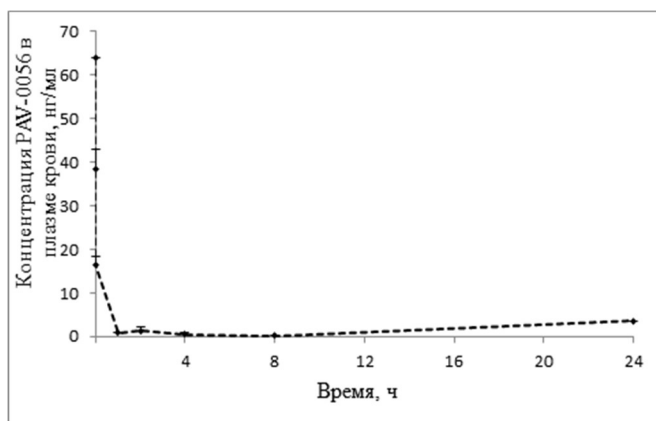


Рисунок 2. Усредненный фармакокинетический профиль соединения PAV-0056 в плазме крыс после однократного внутривенного введения в дозе 0,004 мг/кг ( $n = 5$ )

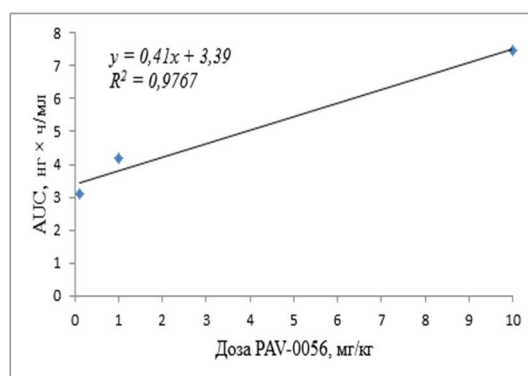


Рисунок 4. Зависимость AUC от дозы соединения PAV-0056 после однократного введения в желудок в дозах 0,1–10 мг/кг ( $n = 5$ )

Это согласуется со сроками развития анальгетического эффекта вещества PAV-0056. При воспалении, вызванном субплантарным введением формалина, анальгезия наступает через 15–45 мин [3].

Системная экспозиция (AUC — площадь под кривой «концентрация – время») соединения PAV-0056 при введении в дозе 0,1 мг/кг в желудок составляла 2,0 (0,6; 50,9), в



дозе

1 мг/кг —  $64,6 \pm 23,1$ , в дозе 10 мг/кг —  $1764 \pm 641,3$  нг × ч/мл (табл. 1).

Таблица 1. Фармакокинетические параметры соединения PAV-0056 после однократного введения в желудок крысам в дозах 0,1–10 мг/кг

Фармакокинетические параметры	Доза соединения PAV-0056, мг/кг		
	0,1	1	10
Максимальная концентрация в плазме ( $C_{max}$ ), нг/мл	1,4 (1,3; 14,9)	$13,0 \pm 4,7$	$304,9 \pm 62,6$
Время достижения максимальной концентрации ( $T_{max}$ ), ч	0,8 (0,4; 1,3)	$1,3 \pm 0,7$	$1,3 \pm 0,8$
Площадь под кривой «концентрация-время» ( $AUC_{0-t}$ ), нг × ч/мл	2,0 (0,6; 50,9)	$64,6 \pm 23,1$	$1764,0 \pm 641,3$

На рисунке 2 представлен усредненный фармакокинетический профиль соединения PAV-0056 в плазме крыс после однократного внутривенного введения в дозе 0,004 мг/кг, в таблице 2 приведены его фармакокинетические параметры.

Таблица 2. Фармакокинетические параметры соединения PAV-0056 после однократного внутривенного введения крысам в дозе 0,004 мг/кг

Фармакокинетические параметры	Результаты
Начальная концентрация в плазме ( $C_0$ ), нг/мл	66,4 (59,6; 70,7)
Площадь под кривой «концентрация-время» ( $AUC_{0-t}$ ), нг × ч/мл	13,8 (12,4; 17,1)
Площадь под кривой «концентрация-время» ( $AUC_{0-\infty}$ ), нг × ч/мл	13,1 (11,2; 14,6)

Параметры  $C_{max}$  и AUC при увеличении дозы соединения PAV-0056 возрастали линейно (коэффициенты линейной детерминации  $R^2$  составляют 0,9976 и 0,9767 соответственно) (рисунок 3 и 4). Абсолютная биодоступность соединения PAV-0056 при введении в желудок в дозе 0,1 мг/кг составила  $10,1 \pm 6,1$  %, в дозе 1 мг/кг —  $2,2 \pm 0,1$  %, в дозе 10 мг/кг —  $6,4 \pm 0,8$  %.

**Заключение.** Соединение PAV-0056 при введении в желудок обладает биодоступностью не более  $10,1 \pm 6,1$  %. Широкий терапевтический диапазон и линейная фармакокинетика позволяют позиционировать производное 1,4-бензодиазепин-2-она PAV-0056 как потенциально безопасный анальгетик.

#### **Литература.**

1. Колыванов Г. Б., Литвин А. А., Шевченко Р. В., Раскин С. Ю., Бочков П. О., Жердев В. П. Фармакокинетические закономерности в проявлении действия психотропных лекарственных средств. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2020;4:3–8. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-4-3-8.

2. Иванникова И. В., Жердев В. П., Бойко С. С., Блынская Е. В., Турчинская К. Г., Алексеев К. В. Исследование фармакокинетики и биодоступности в создании новых оригинальных лекарственных средств пептидной структуры и их оптимальных лекарственных форм. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2013;2:1–17.

3. Алифоренко А. Е., Быков В. В., Мотов В. С., Павловский В. И., Венгеровский А. И. Анальгетическая активность антагониста рецепторов брадикинина — производного 1,4-бензодиазепин-2-она. XXIX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» 4–7 апреля 2022 г. Сборник тезисов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(2S):3–190. DOI: 10.15829/1728–8800–2022–S2.

4. Mishra P., Pandey C. M., Singh U., Keshri A., Sabaretnam M. Selection of appropriate statistical methods for data analysis. *Annals of Cardiac Anaesthesia*. 2019;22(3):297–301. DOI: 10.4103/aca.ACA\_248\_18.

# ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЦИКОРИЯ НА ФЕРТИЛЬНОСТЬ КРЫС САМОК И РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА ПРИ ВВЕДЕНИИ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ

А.Н. Бабенко\*, Л.В. Крепкова, О.П. Дмитриева, М.В. Боровкова  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и  
ароматических растений г. Москва, Россия  
e-mail: alexandra.mogileva@gmail.com

**Ключевые слова:** цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.), крысы самки, потомство, антенатальное и постнатальное развитие.

**Введение.** В настоящее время в связи со значительным увеличением распространенности заболеваний печени различного генеза, большими затратами на их диагностику и лечение продолжается активный поиск новых лекарственных средств, обладающих гепатопротекторным действием. Особый интерес представляют препараты из лекарственных растений, оказывающих влияние на основные механизмы развития заболеваний. К таким растениям относится цикорий обыкновенный – *Cichorium intybus* L., из надземной части которого во ВНИИ лекарственных и ароматических растений получен экстракт сухой (ЦОТЭС), обладающий гепатопротекторным, иммуномодулирующим, противовоспалительным, гипогликемическим действием [1-4].

**Цель.** Изучить влияние цикория обыкновенного травы экстракта сухого на фертильность крыс самок и их потомство в пре- и постнатальном периоде развития при введении экстракта во время беременности.

**Материалы и методы.** Объектом данного исследования являлся сухой экстракт из надземной части цикория обыкновенного дикорастущего, стандартизованный по сумме фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту ( $9,20 \pm 0,43\%$ ).

Эксперименты на животных проводили с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей, и получили одобрение биоэтической комиссии.

В первой серии экспериментов цикория обыкновенного травы экстракт сухой вводили в желудок крысам с 1 по 6 день беременности в дозах 100 и 500 мг/кг. Животные в эксперименте были разделены на следующие группы: I группа – контроль – беременные крысы, получавшие очищенную воду в эквивалентных объемах (n=20), II группа – беременные крысы, получающие исследуемый экстракт в дозе 100 мг/кг (n=20), III группа – беременные крысы, получающие исследуемый экстракт в дозе 500 мг/кг (n=20).

В второй серии экспериментов ЦОТЭС вводили в желудок крысам с 6-19 дни беременности в тех же дозах. В данном эксперименте беременные крысы I группы – контроль получали очищенную воду в эквивалентных объемах (n=21), II группы – исследуемый экстракт в дозе 100 мг/кг (n=20), III группа – беременные крысы, получающие исследуемый экстракт в дозе 500 мг/кг (n=20).

В течение беременности еженедельно учитывали прирост массы тела беременных крыс. В обеих сериях экспериментов полученных беременных самок в каждой группе делили на две подгруппы: в первой подгруппе самок эвтаназию проводили на 20-й день беременности, подсчитывали количество желтых тел, мест имплантаций, резорбций, живых и мертвых плодов, рассчитывали пред- и постимплантационную гибель, плоды подвергали внешнему осмотру, исследовали состояние у них костной системы по методу Доусона и внутренних органов по методу Вильсона. Другую подгруппу беременных самок оставляли для рождения и вскармливания крысят. У потомства до 21-го дня жизни учитывали прирост массы тела и выживаемость. Оценивали скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания по тестам: переворачивание на плоскости (7-й день), избегание обрыва (7-й день), «отрицательный геотаксис» (7-й день). Исследовали эмоционально-двигательное поведение и способность к тонкой координации движений в тесте «открытое поле» (30-й день). В опытах обследовалось все потомство.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью лицензионной программы Statistica version 13 (TIBCO Software Inc, США).

**Результаты.** Введение исследуемого экстракта самкам в испытанных дозах в разные сроки беременности не вызывало статистически достоверного снижения их массы тела по сравнению с контролем. В обеих сериях экспериментов изучаемый экстракт не влиял на пред- и постимплантационную гибель эмбрионов, массу и краниокаудальный размер 20-дневных плодов крыс. Исследуемые показатели опытных групп были на уровне контроля.

При оценке состояния внутренних органов 20-дневных эмбрионов, полученных от самок, которым вводили экстракт на ранних сроках беременности, на серийных срезах по методу Вильсона установлено, что количество плодов с нарушениями (кровоизлияния в брюшную и грудную полости, под кожу) в опытных группах составило (14,2±3,5)%, (13,7±4,2)% соответственно, что не превышало спонтанного уровня в контроле (13,9±5,3)% ( $p>0,05$ ). При исследовании внутренних органов эмбрионов от крыс, которым вводили ЦОТЭС в период с 6-19 дни беременности аналогичные нарушения были зафиксированы в опытных группах – (11,3±3,3)%, (10,8±4,4)% соответственно по сравнению с контрольными (9,8±3,5)% ( $p>0,05$ ).

Изучение костной системы плодов по методу Доусона во второй серии экспериментов не выявило различий общего количества плодов с нарушениями развития скелета у крыс, получавших сухой экстракт травы цикория в испытанных дозах – (17,1±5,2)%, (15,9±4,7)% по сравнению контролем – (13,9±4,8)% ( $p>0,05$ ). При введении крысам-самкам исследуемого экстракта на поздних сроках беременности в дозе 100 мг/кг выявлено (15,6±3,3)% плодов с нарушением оссификации, 500 мг/кг – (14,5±4,2)%, что не имело статистически значимых различий по сравнению с контролем (13,9±3,5)% ( $p>0,05$ ).

При исследовании влияния цикория обыкновенного травы экстракта сухого на постнатальное развитие потомства было установлено, что при введении в разные сроки беременности в испытанных дозах 100 и 500 мг/кг лекарственное средство не влияло на продолжительность беременности крыс, количество новорожденных крысят в помете, массу их тела и смертность на протяжении 21 дня жизни.

При исследовании состояния центральной нервной системы потомства крыс, полученного от самок, которым вводили исследуемый экстракт с 1-6 дни беременности в тестах «переворачивание на плоскости», «избегание обрыва», «отрицательный геотаксис» - на 7-й день жизни и «открытое поле» (30-й день), не выявлено статистически значимых различий в показателях у крысят опытных групп по сравнению с контролем

При введении экстракта на поздних сроках беременности, при прохождении тестов на формирование сенсорно-двигательных рефлексов у крысят опытных групп, получавших экстракт в максимально испытанной дозе – 500 мг/кг наблюдалось статистически достоверное увеличение времени прохождения тестов «отрицательный геотаксис» -23,2 ±2,3 сек. ( $p<0,05$ ) и «избегание обрыва» - 13,5±1,5 сек. ( $p<0,05$ ) по сравнению с контрольными показателями 16,1±1,1 сек. и 9,8±0,8 сек. соответственно, что говорит о возможном седативном влиянии экстракта на крыс-матерей. Другие показатели, характеризующие формирование рефлексов, эмоционально-двигательных реакций и координации у крысят опытных групп находились на уровне контрольных.

**Заключение.** Учитывая полученные изменения при изучении влияния изученного экстракта на постнатальное развитие потомства в поздние сроки беременности, назначение препаратов на основе цикория обыкновенного травы экстракта сухого беременным женщинам при последующих клинических исследованиях необходимо проводить под наблюдением врача с соблюдением терапевтической дозы.

*Исследования выполнены в соответствии с НИР ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Направленный скрининг, оценка фармакологической активности и безопасности биологически активных веществ и фармацевтических композиций на их основе» (регистрационный номер темы 122022600102-6, шифр темы FGUU-2022-0010).*

### **Литература.**

1. Убеева Е. А., Николаев С.М., Убеева И.П. Основные направления фитотерапии заболеваний печени. *Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация.* 2017; №3: 3-9.
2. Сайбель О.Л., Даргаева Т.Д., Пупыкина К.А., Петрова И.В., Фархутдинов Р.Р. Оценка антиоксидантной активности травы цикория обыкновенного (*Cichorium intubus* L.). *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.* 2017; 2 (2): 85-88.
3. Сайбель О.Л., Радимич А.И., Даргаева Т.Д., Лупанова И.А. Фенольные соединения и фармакологический скрининг экстракта травы цикория обыкновенного. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10 (4): 36-45.
4. Лупанова И.А., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н., Сайбель О.Л. Экспериментальное исследование противовоспалительных свойств экстракта травы дикорастущего цикория обыкновенного (*Cichorium intubus* L.) *in vivo*. // Сборник материалов юбилейной международной научной конференции «90 лет - от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы», ФГБНУ ВИЛАР, Москва. 2021:563-567. DOI: 10.52101/9785870191003\_2021\_563.

## ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВОГО СТИМУЛЯТОРА РАСТВОРИМОЙ ГУАНИЛАТЦИКЛАЗЫ

В.В. Быков<sup>1,2\*</sup>, В.А. Хазанов<sup>2</sup>, А.И. Венгеровский<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия  
<sup>2</sup>ООО «Ифар», г. Томск, Россия  
e-mail: preclin5\_dep@iphar.ru

**Ключевые слова:** стимулятор растворимой гуанилатциклазы, сердечно-сосудистые заболевания, агрегация тромбоцитов, фармакокинетика, токсикология

**Введение.** Дефекты функций сигнального пути оксид азота–растворимая гуанилатциклаза-циклический гуанозинмонофосфат (NO–pГЦ–цГМФ) сопровождаются ремоделированием стенки сосудов, повышением артериального давления, усилением агрегации тромбоцитов, формированием тромбов и атеросклеротических бляшек, развитием воспаления [1, 2]. Такие нарушения становятся важным звеном патогенеза артериальной гипертензии, сердечной недостаточности, атеросклероза, сахарного диабета, ревматических заболеваний, патологии гемостаза и иммунитета [3]. Перспективным способом коррекции данных состояний является стимуляция pГЦ независимо от NO. Производное индолинона, обозначенное шифром GRS, является стимулятором pГЦ — взаимодействует с восстановленной формой фермента, содержащего гем с двухвалентным железом, восполняет дефицит активирующих стимулов NO при эндотелиальной дисфункции, оказывает в эксперименте антиагрегантное, антигипертензивное и противоатеросклеротическое действие, обладает линейной фармакокинетикой в дозах, близких эффективным, является низкотоксичным соединением.

**Цель.** Доклинические исследования нового стимулятора pГЦ, разрабатываемого в качестве антитромботического лекарственного средства.

**Материалы и методы.** В рамках доклинических исследований изучена специфическая фармакологическая активность, фармакокинетика и профиль безопасности производного индолинона GRS.

**Результаты.** Терапевтическая эффективность производного индолинона GRS подтверждена на моделях тромбоза и сердечно-сосудистой патологии (инфаркт миокарда, ишемический инсульт, артериальная гипертензия, легочная гипертензия, атеросклероз, тромбоз глубоких вен). Соединение GRS устраняет эндотелиальную дисфункцию, развивающуюся при моделях сердечно-сосудистых заболеваний. В отличие от антиагрегантов ацетилсалициловой кислоты, клопидогрела и дипиридамола, вещество GRS оказывает прямое антиагрегантное действие в сочетании с восстановлением

антитромботических и сосудорасширяющих свойств эндотелия. В отличие от известного стимулятора рГЦ риоцигуата, производное индолинона GRS не оказывает побочного гипотензивного действия при нормальном артериальном давлении. Оно восстанавливает структуру и функции головного мозга, сердца, легких, печени и почек при их патологии. Доказана безопасность соединения GRS при его однократном и курсовом введении в дозах до 20 эффективных (до 24 мес). В диапазоне эффективных доз оно обладает линейной фармакокинетикой. В эксперименте соединение GRS не нарушает репродуктивных функций, не оказывает эмбриотоксического, тератогенного, мутагенного и канцерогенного действия.

**Заключение.** Разработано антитромботическое средство, производное индолинона GRS с новым молекулярным механизмом и уникальным профилем фармакологической активности и безопасности. Новое соединение характеризуется линейной фармакокинетикой, перспективно для профилактики тромбозов и сердечно-сосудистых событий. Доклиническое исследование позволяет предположить, что производное индолинона GRS проявит терапевтическую эффективность и уменьшит смертность больных ишемической болезнью сердца и другими сердечно-сосудистыми заболеваниями, в патогенез которых вовлечена эндотелиальная дисфункция.

#### **Литература.**

1. Islet cell DNA is a target of inflammatory attack by nitric oxide / K. Fehsel, A. Jalowy, S. Qi et al. *Diabetes*. 1993;42(3): 496–500.
2. Activated macrophages kill pancreatic syngeneic islet cells via arginine-dependent nitric oxide generation / K.D. Kröncke, V. Kolb-Bachofen, B. Berschick et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991;175(3):752–758.
3. Donvito G., Nass S. R., Wilkerson J. L., Curry Z. A., Schurman L. D., Kinsey S. G., Lichtman A. H. The Endogenous Cannabinoid System: A Budding Source of Targets for Treating Inflammatory and Neuropathic Pain. *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(1):52–79. DOI: 10.1038/npp.2017.204.
4. Lange, M. Role of nitric oxide in shock: the large animal perspective / M. Lange, P. Enkhbaatar, Y. Nakano, D.L. Traber. *Front. Biosci. (Landmark Ed.)*. 2009;14(5):1979–1989.

## ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АГОНИСТА КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ

Н.В. Гуркин<sup>1,2\*</sup>, В.В. Быков<sup>1,2</sup>, И.В. Ильина<sup>3</sup>, К.П. Волчо<sup>3</sup>, Н.Ф. Салахутдинов<sup>3</sup>,  
А.И. Венгеровский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ООО «Ифар», г. Томск, Россия

<sup>3</sup>НИОХ СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: nvgurkin@yandex.ru

**Ключевые слова:** производное 2H-хромена, анальгетик, противовоспалительное действие, крысы.

**Введение.** Сигнальная эндоканнабиноидная система включает каннабиноидные СВ<sub>1</sub>- и СВ<sub>2</sub>-рецепторы, их эндогенные лиганды, ферменты синтеза и инактивации эндоканнабиноидов [0]. Эндогенные каннабиноиды и ферменты их метаболизма (гидролаза амидов жирных кислот и моноацилглицероллипаза), регулируя продукцию цитокинов, препятствуют развитию боли и воспаления [0]. Агонист каннабиноидных рецепторов производное 2H-хромена, обозначенное шифром CHR, оказывает анальгетическое и противовоспалительное действие. Представляет интерес изучить влияние соединения CHR на воспаление, вызванное подкожной инъекцией медиатора воспаления гистамина.

**Цель.** Изучить противовоспалительную активность нового агониста каннабиноидных рецепторов, производного 2H-хромена (кодовое наименование — CHR) на модели острого экссудативного воспаления, вызванного гистамином.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили на 20 крысах самцах стока Sprague Dawley (4 группы по 5 особей). Животным однократно в желудок вводили соединение CHR в дозах 5 и 25 мг/кг (1 и 5 терапевтической дозы соответственно) или препарат сравнения диклофенак натрия в эффективной дозе 10 мг/кг. Крысы контрольной группы получали растворитель этих веществ — 2 % водный раствор твин-80. Через 1 ч после введения соединений вызывали отек задней конечности подкожной инъекцией 0,1 мл гистамина в 2 % водном растворе. Величину отека оценивали с помощью плетизмометра («UGO BASILE», Италия) через 0,5 ч после инъекции гистамина [0]. Результаты обрабатывали статистически с использованием программы Statistica (StatSoft, США). Нормальность распределения значений признака оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее значение,  $m$  — стандартная ошибка среднего значения. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Через 0,5 ч после введения гистамина соединение CHR в дозах 5 и 25 мг/кг и диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг уменьшали величину отека задней конечности крыс на 30, 25 и 48 % соответственно ( $p < 0,05$ , табл.). По выраженности противовоспалительного эффекта соединение CHR в изученных дозах не уступало диклофенаку натрия в дозе 10 мг/кг ( $p > 0,05$ ).

По данным исследований *in vitro*, соединение CHR не связывается с каннабиноидными рецепторами и не влияет на активность ферментов метаболизма эндогенных каннабиноидов, хотя его анальгетический эффект устраняется антагонистом CB<sub>1</sub>-рецепторов римонабантом [0]. Это указывает на вовлеченность эндоканнабиноидной системы в механизм анальгетического действия производного 2H-хромена CHR.

Таблица. Противовоспалительный эффект производного 2H-хромена и диклофенака натрия при остром экссудативном воспалении, вызванном гистамином ( $M \pm m$ )

Условия эксперимента	Величина отека через 0,5 ч, мл
2 % водный раствор твин-80 (контроль)	0,61 ± 0,01
Соединение CHR, 5 мг/кг	0,43 ± 0,03*
Соединение CHR, 25 мг/кг	0,46 ± 0,02*
Диклофенак натрия, 10 мг/кг	0,32 ± 0,01*

Примечание — Знак «\*» означает статистически значимые различия с показателем в контрольной группе.

Разработка аллостерических модуляторов каннабиноидных рецепторов — перспективное направление в медицинской химии и фармакологии. Модуляторы могут оказывать терапевтическое действие без нежелательного психотропного влияния и опасности развития психической зависимости [0]. Один из вероятных механизмов действия соединения CHR — активация аллостерического сайта связывания CB<sub>2</sub>-рецепторов, локализованных на мембране тучных клеток. При активации этих рецепторов тормозится выброс гистамина в очаге воспаления.

**Заключение.** Производное 2H-хромена CHR не слабее нестероидного противовоспалительного средства диклофенака оказывает антиэкссудативное действие при остром экспериментальном воспалении, вызванном гистамином.

#### **Литература.**

1. Chanda D., Neumann D., Glatz J. F. C. The endocannabinoid system: Overview of an emerging multi-faceted therapeutic target. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2019;140:51–56. DOI: 10.1016/j.plefa.2018.11.016.
2. Donvito G., Nass S. R., Wilkerson J. L., Curry Z. A., Schurman L. D., Kinsey S. G., Lichtman A. H. The Endogenous Cannabinoid System: A Budding Source of Targets for Treating

Inflammatory and Neuropathic Pain. *Neuropsychopharmacology*. 2018;43(1):52–79. DOI: 10.1038/npp.2017.204.

3. Holsapple M. P., Schnur M., Yim G. K. Pharmacological modulation of edema mediated by prostaglandin, serotonin and histamine. *Agents and actions*. 1980;10(4):368–373. DOI: 10.1007/BF01971442.

4. Li-Zhulanov N.S., Il'ina I.V., Chicca A., Schenker P., Patrusheva O.S., Nazimova E.V. et al. Effect of chiral polyhydrochromenes on cannabinoid system. *Med Chem Res*. 2019;28:450–464. DOI: 10.1007/s00044-019-02294-9.

5. Lu, D., Immadi S.S., Wu, Z., Kendall D.A. Translational potential of allosteric modulators targeting the cannabinoid CB1 receptor. *Acta Pharmacol Sin*. 2019;40(3):324–335. DOI: 10.1038/s41401-018-0164-x.

## ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА НА АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ НОРМОТЕНЗИВНЫХ КРЫС

О.И. Дунаева\*, О.И. Алиев, А.Н. Волов, А.В. Сидехменова, М.Б. Плотников  
Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени  
Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр  
Российской академии наук, Томск, Россия  
e-mail: olgadunaeva24@mail.ru

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, ангиотензин II, блокаторы рецепторов ангиотензина II, лозартан.

**Ведение.** Важную роль в сердечно-сосудистой регуляции занимает ренин-ангиотензиновая система (РАС), один из компонентов которой, ангиотензин II имеет сосудосуживающее действие и занимает ключевое место в патогенезе артериальной гипертензии (АГ) [1]. Согласно руководству по фармакотерапии АГ 2021г. несмотря на значительное количество существующих антигипертензивных препаратов, их безопасность, доступность и хорошую переносимость, менее 14% людей имеют контроль над заболеванием [2]. В ходе проведенного исследования впервые показана гипотензивная активность новых производных индол-3-бензойной кислоты и производных индол-3-уксусной кислоты, способных блокировать рецепторы к ангиотензину II [3,4]. Изучено влияние соединений на показатели артериального давления, с целью выявления наиболее перспективных веществ для терапии артериальной гипертензии.

**Цель.** Исследование влияния новых производных индола на уровень артериального давления у нормотензивных крыс при однократном введении.

**Материал и методы.** Эксперименты проведены на 48 крысах самцах сток Вистар. Исследовано влияние производных индола (соединение 1-4) на системное артериальное давление у бодрствующих крыс при однократном внутривенном введении в дозе 0,5 мг/кг и однократном внутрижелудочном введении в дозе 5 мг/кг. Артериальное давление измеряли неинвазивно у бодрствующих животных с помощью системы NIBP200A («Biorac Systems, Inc.», США). В качестве препарата сравнения использовали лозартан. Для оценки достоверности различий использовали непараметрические критерии Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни.

**Результаты.** Наиболее выраженный ответ на внутривенное введение лозартана регистрировали через 6 часов. Систолическое артериальное давление (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД) статистически значимо отличались по сравнению с исходными значениями (табл. 1). У исследуемых соединений отмечалось снижение показателей АД уже через час, по сравнению с препаратом сравнения. При введении соединения 1 статистически значимое снижение показателей АД регистрировали через 3 часа, по сравнению с группой лозартана (табл. 1). Соединение 2 при внутривенном введении не имело статистически значимых отличий по сравнению с препаратом сравнения, на протяжении всех измерений в течение 24 часов (табл. 1). Соединение 3

приводило к снижению САД и ДАД через 1, 3 и 24 часа, по сравнению с исходными значениями, а так же с группой лозартана (табл. 1). При внутривенном введении соединения 4 через 1, 3 и 6 часов наблюдалось статистически значимое снижение САД, по сравнению с препаратом сравнения. В то же время показатели ДАД статистически значимо отличались только в точках измерения 1 и 6 часов (табл. 1).

Таблица 1. Влияние однократного внутривенного введения соединений 1–4 (0,5 мг/кг) на САД и ДАД (мм рт.ст.) у бодрствующих крыс Вистар

Группа	До введения		60 мин		3 ч		6ч		24 ч	
	САД	ДАД	САД	ДАД	САД	ДАД	САД	ДАД	САД	ДАД
Лозартан	108±2	73±1	106±2	65±1*	124±3*	78±2	96±3*	60±3*	96±1*	65±2*
Соединение 1	107±1	67±5	94±6*	67±2	91±3*+	67±2+	95±2*	69±3+	100±4	70±2
Соединение 2	106±10	75±4	84±3*	56±4*	91±3*	66±8	103±4	74±1	112±12	85±6
Соединение 3	95±8	62±6	59±16*+	40±1+	71±3*+	46±2*+	88±13	62±13	75±3*+	56±4+
Соединение 4	90±3	64±1	70±3*+	50±2*+	77±12+	55±12	68±4*+	48±3*+	78±7+	61±5

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями; + –  $p < 0,05$  по сравнению с животными, получавшими лозартан.

Лозартан при внутрижелудочном введении имел статистически значимое отличие показателей САД и ДАД у бодрствующих крыс Вистар через 3 часа, по сравнению с исходными значениями (табл. 2). При внутрижелудочном введении соединения 1 показатели САД и ДАД на всех точках измерения статистически значимо отличались от исходной величины. Соединение 1 через 3 часа после введения имело статистически значимые отличия по сравнению с группой лозартана (табл. 2). Через 1, 3 и 6 часов после внутрижелудочного введения соединения 2 значения САД и ДАД статистически значимо отличались как от исходной величины, так и от животных получавших лозартан (табл. 2). При внутрижелудочном введении соединения 3 уровень САД и ДАД снижался к 3 и 6 часу после введения, и имел статистически значимые отличия только от исходного уровня (табл. 2). При внутрижелудочном введении соединения 4 статистически значимых изменений уровня САД и ДАД на протяжении всех проводимых измерений не наблюдалось (табл. 2).

Таблица 2. Влияние однократного внутрижелудочного введения соединений 1–4 (5 мг/кг) на САД и ДАД (мм рт.ст.) у бодрствующих крыс Вистар

Группа	До введения		60 мин		3 ч		6ч		24 ч	
	САД	ДАД	САД	ДАД	САД	ДАД	САД	ДАД	САД	ДАД
Лозартан	93±8	68±7	92±2	63±2	77±9*	50±2*	87±3	61±4	92±4	65±1
Соединение 1	133±10	98±7	103±11*	73±9*	95±7*+	66±6*+	103±3*	76±1*	109±4*	71±5*
Соединение 2	106±2	76±2	55±23*+	31±15*+	69±8*+	30±5*+	72±7*+	33±5*+	90±5	62±1
Соединение 3	104±4	77±1	82±4*	59±3*	88±5*	63±4*	102±7	68±11	102±9	73±9
Соединение 4	106±5	78±6	90±4	62±5	101±3	70±7	93±5	67±3	92±7	67±5

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями;

+ –  $p < 0,05$  по сравнению с животными, получавшими лозартан.

**Заключение.** Однократное внутривенное и внутрижелудочное введение новых производных индола приводило к выраженному гипотензивному эффекту, полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейшего доклинического изучения соединений в качестве антигипертензивных средств.



### **Литература.**

1. Payne K. A., Esmonde-White S. Observational studies of antihypertensive medication use and compliance: is drug choice a factor in treatment adherence? *Current hypertension reports*. 2000;2(6): 515-524.
2. Al-Makki A. et al. Hypertension pharmacological treatment in adults: a World Health Organization guideline executive summary. *Hypertension*. 2022;79(1):293-301.
3. Burtsev, I. D. Synthesis, characterization and photochemical properties of novel octakis (p-fluorophenoxy) substituted phthalocyanine and its gallium and indium complexes/ Burtsev, I. D., Platonova, Y. B., Volov, A. N., & Tomilova, L. G. *Polyhedron*. 2020;188:114697.
4. Paz Ocaranza M. et al. Counter-regulatory renin-angiotensin system in cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2020; 2:116-129.

### **ДИУРЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЛОПУХА**

Л.В. Жалнина<sup>1</sup>, Н.Э. Коломиец<sup>1,2</sup>, А.К.Х. Али<sup>1</sup>, Т.П. Новожеева<sup>1,3\*</sup>, Р.С. Боев<sup>1,4</sup>,  
С.М.Сафронов<sup>1,4</sup>, С.В.Бородина<sup>5</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово,  
Россия

<sup>3</sup> НИИ психического здоровья Томский национальный исследовательский медицинский  
центр РАН, Томск, Россия

<sup>4</sup>ООО «Вистerra», Барнаул, Россия

<sup>5</sup> НИИ биологии и биофизики Томский государственный университет, Томск, Россия  
e-mail: ntp1953@mail.ru

**Ключевые слова:** лопух большой (*A. lappa*), лопух войлочный (*A. tomentosum*), диуретическая активность.

**Введение** Современные представления об этиопатогенезе заболеваний мочевыделительной системы предполагают нормализацию уродинамики и иммунокоррекцию. Восстановление нормального оттока мочи может быть достигнуто только фитотерапевтическим путем. Использование диуретиков синтетического происхождения недопустимо, т.к. все они активно секретируются в канальцах: воспаленные канальцы или не отреагируют на мочегонный препарат, или такая терапия усилит воспалительный процесс. Выбор фитопрепаратов весьма прост – извлечения из лекарственных растений с мочегонными свойствами. Однако более предпочтительны те виды лекарственного растительного сырья, которые, помимо диуретического действия, обладают иммунотропными, противовоспалительными, детоксицирующими свойствами и широким спектром воздействия на возбудителей заболеваний.

Официальным растением, используемым в урологии, является только один вид рода хвощ – хвощ полевой. Настой из травы хвоща полевого применяют в качестве диуретического средства при различных нефропатиях, что судя по данным литературы может быть обусловлено действием гликозифицированных флавоноидов, соединений кремния и сапонинов, содержащихся в указанных растениях [1]. Перспективны в качестве диуретических средств и препараты, полученные из фармакопейных растений – лопуха большого (*A. Lappa*) и лопуха войлочного (*A. Tomentosum*) и обладающих комплексным влиянием на организм.

**Цель** Целью данного исследования явилось сравнительное изучение диуретического действия водных экстрактов, полученных из корней, листьев и семян лопуха большого (*A. Lappa*) и лопуха войлочного (*A. Tomentosum*) в эксперименте на крысах-самцах линии Вистар.

**Материалы и методы** Фармакопейные растения - лопух большой (*A. Lappa*) и лопух войлочный (*A. Tomentosum*), относятся к семейству Астровых (Сложноцветных) и обладают комплексным влиянием на организм. Известен богатый химический состав всех

органов лопуха, которые имеют высокую биологическую активность [2]. Для проведения сравнительного исследования нами взяты водные экстракты листьев, семян и корней лопуха, полученные весной и осенью в экологически чистом районе Алтайского края (с. Алтайское). При получения сухих экстрактов из жидкого растворитель (воду) удаляли дистилляционным методом в условиях вакуума и подвергали сушке в вакуум-сушильном шкафу при температуре 40°C [3].

Эксперимент проводился на 30 крысах-самцах линии Вистар массой 280-320 г, полученных из питомника «Рассвет» (г.Томск). Животных содержали в условиях лабораторного вивария, на стандартной диете, при нормальном световом режиме. Содержание экспериментальных животных соответствовало правилам, принятым Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986) и правилами лабораторной практики (приказ МЗ РФ (19.06.2003, N267). В течение 4-10 дней крысам-самцам 1-й группы вводили зондом внутрижелудочно крахмальную слизь в эквивалентном количестве, крысам 2-й группы вводили экстракт листьев в крахмальной слизи (100 мг/кг), крысам 3-й группы – экстракт семян (100 мг/кг) в крахмальной слизи, животным 4 и 5 группы вводили экстракт корней весеннего и осеннего сбора, соответственно, также в дозе 100 мг/кг. Для изучения диуретической активности экстрактов животных помещали в обменные домики на 18 часов с 15.00 до 9.00 следующих суток для сбора мочи. Измеряли объем мочи, рН, глюкозы, белка, затем мочу замораживали для последующего определения креатинина и электролитов. Кроме того, оценивали интегральные показатели – динамику массы, внешний вид, а также поведенческую и двигательную активности животных. В условиях длительного применения экстракты вводили крысам ежедневно на протяжении 10 дней в одно и то же время с 9.00 до 11.00. До введения препаратов были сняты фоновые показатели (фон), затем замеры проводили после 4-х дней и 10 дней введения и через 3 дня после отмены экстрактов. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Фишера.

**Результаты** В эксперименте исследовали влияние 4-х кратного и длительного – 10-ти дневного – введения водных экстрактов листьев, семян и корней (весна и осень) на функцию почек у крыс. Параметры почечной функции и интегральные показатели оценивали до начала эксперимента (фон), через 4 и 10 дней введения экстрактов и через 3 дня после окончания введений. В таблице 1 представлены результаты курсового введения экстрактов, полученных из листьев, семян и корней лопуха большого и лопуха войлочного. Из данных таблицы видно, что в условиях 4-х кратного введения экстрактов изученных органов лопуха существенных изменений со стороны интегрального показателя функции почек не происходило: выявлялась лишь тенденция увеличения диуреза под влиянием экстракта семян (112%). Это могло быть обусловлено некоторым возрастанием скорости клубочковой фильтрации [4]. При длительном – 10 дневном введении экстрактов наблюдалось еще более выраженное усиление диуреза по влиянием водного экстракта семян (127%) и лишь тенденция к увеличению диуреза под влиянием экстрактов из весенних и осенних корней, 109% и 115% от фоновых показателей. После отмены экстрактов через 3 дня наблюдалась тенденция к увеличению диуреза в группе животных, получавших ранее экстракт листьев лопуха (110%) и сохранилось мочегонное действие в группах крыс, ранее получивших 10-тидневный курс экстрактов из семян лопуха (122%) и экстракта корней, заготовленных осенью (118%).

Таблица 1. Влияние курсового введения водных экстрактов из лопуха на функцию почек (диурез) у крыс-самцов (M±m, p; n=6)

Объекты исследования	Фон, за 3 дня до начала введения экстрактов, диурез, мл	Введение экстрактов лопуха 4-х кратное, диурез, мл	Введение экстрактов 10-ти кратное, диурез, мл	Отмена введения экстрактов в течение 3-х дней, диурез, мл
Фон Контроль	4,1±0,16	4,1±0,16 4,3±0,30	4,1±0,16 3,9±0,42	4,1±0,16 4,1±0,23
Фон Экстракт из листьев (100мг/кг)	4,2±0,13	4,2±0,13 3,9±0,46	4,2±0,13 4,1±0,43	4,2±0,13 4,6±0,21*
Фон Экстракт из семян (100мг/кг)	4,1±0,26	4,1±0,26 4,6±0,25*	4,1±0,26 5,2±0,37* **	4,1±0,26 5,0±0,28* **
Фон Экстракт из весенних корней (100мг/кг)	3,5±0,31	3,5±0,31 3,3±0,20	3,5±0,31 3,8±0,18*	3,5±0,31 3,4±0,20
Фон Экстракт из осенних корней (100мг/кг)	3,3±0,12	3,3±0,12 3,6±0,25	3,3±0,12 3,8±0,10*	3,3±0,12 3,9±0,16*

**Заключение.** Сравнительная оценка диуретического действия водных экстрактов корней, листьев и семян лопуха большого (*A. lappra*) и лопуха войлочного (*A. tomentosum*) показала, что экстракты семян, листьев, корней обладают мягким диуретическим действием, сохраняющимся в течение нескольких дней после отмены. При этом наиболее выраженным действием обладает экстракт семян лопуха.

#### **Литература.**

1. Ботиров Э.Х., Боначева В.М., Коломиец Н.Э. Химический состав и биологическая активность метаболитов растений рода *Equisetum* L. *Химия растительного сырья*. 2021;1:5-26. DOI: 10.14258/jcprgm.2021017760.

2. Коломиец Н.Э., Боев Р.С., Жалнина Л.В., Тихомирова В.А., Кашапов Д.Р., Бондарчук Р.А., Новожеева Т.П., Абрамец Н.Ю., Сафронов С.М., Али А.К.Х. Химический состав и биологическая активность метаболитов видов рода *Artium* L. *Химия растительного сырья*. 2021;2: 29-57. DOI: 10.14258/jcprgm.2021028315.

3. Общая фармакопейная статья ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты» / Государственная фармакопея Российской Федерации, XV издание. - М.: 2023 год, Т.1. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-4/1-4-1/ekstrakty/> (дата обращения: 15.09.2023).

4. Коломиец Н.Э. Фармакогностическое исследование рода *Equisetum* L. Флоры Сибири как источника лекарственных средств. *Дисс. ....д-ра фарм. наук*. Москва, 2010. 414

## КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У КРЫС ЭКСТРАКТОМ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО

Л.В. Крепкова\*, А.Н. Бабенко, С.В. Лемясева, О.С. Кузина  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений г. Москва, Россия  
e-mail: krepkova2011@yandex.ru

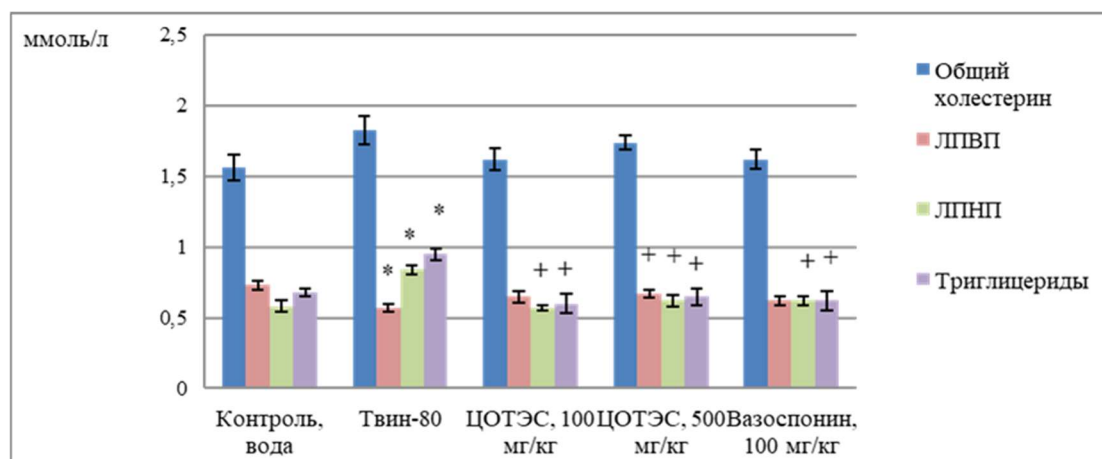
**Ключевые слова:** цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.), экстракт сухой, модели гиперлипидемии, крысы

**Введение.** Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают оставаться главной причиной смерти во всех развитых странах. Основным фактором риска является нарушение липидного обмена, коррекция которого лежит в основе профилактики ССЗ [1]. Наряду с немедикаментозной и медикаментозной терапией дислипидемий возможно комбинированное лечение, которое использует альтернативные гиполипидемические лекарственные средства, в том числе растительного происхождения [3-7]. Из этого следует, что создание новых лекарственных средств из растений для коррекции нарушений липидного обмена с целью снижения сердечно-сосудистого риска, продолжает оставаться актуальным. В качестве такого средства мы предлагаем применять экстракт сухой из травы цикория обыкновенного (*Cichorium intybus L.*), полученный во Всероссийском НИИ лекарственных и ароматических растений, и обладающий иммуномодулирующими, гепатопротекторными, гипогликемическими свойствами [8-10].

**Цель.** Изучить гиполипидемическую активность сухого экстракта цикория на 2-х моделях экспериментально воспроизведенной гиперлипидемии для установления его новых фармакологических свойств и определения возможности применения для коррекции нарушений липидного обмена.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлся цикория обыкновенного травы экстракт сухой (ЦОТЭС), стандартизованный по сумме фенольных соединений ( $9,20 \pm 0,43\%$ ) в пересчете на цикориевую кислоту. Исследование выполнено на 80 крысах *Wistar* (самцы) с первоначальной массой тела 400-500 г. в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации. Животные были получены из питомника ФГБНУ ВИЛАР и содержались в контролируемых и стандартных условиях вивария. Дизайн эксперимента был рассмотрен и одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР. В первом эксперименте (твиновая модель) подопытные животные были разделены на пять групп по 8 крыс в каждой: I-ая группа являлась контролем (вода); II-ая группа получила однократно внутрибрюшинно Твин-80 в дозе 200 мг/100 г массы тела (модель патологии); животным III-ей и IV-ой групп до введения твина-80 ежедневно в течение 14 дней вводили в желудок ЦОТЭС, соответственно в дозах 100 и 500 мг/кг (2- и 10-кратные терапевтические); V-ая группа до введения Твина-80 по той же схеме получала гиполипидемический препарат растительного происхождения «Вазоспонин®» в дозе 100 мг/кг (суточная терапевтическая доза). Модель алиментарной гиперлипидемии крыс (второй эксперимент) вызывали ежедневным внутрижелудочным введением холестерина 3 % и мерказолила в дозе 10 мг/кг в течение 28 дней. Животные были разделены на 5 групп по 8 крыс в каждой: I-ая группа - контроль (вода); II-ая группа получала ежедневно внутрижелудочно холестерин 3 % + мерказолил в дозе 10 мг/кг (модель патологии); III-ей и IV-ой группам вводили в желудок ЦОТЭС соответственно в дозах 100 и 500 мг/кг; V-ая группа получала препарат сравнения «Вазоспонин®» в дозе 100 мг/кг. Исследуемый экстракт и препарат сравнения в виде водных растворов, приготовленных *ex tempore*, вводили за 1 час до введения холестерина 3 % + мерказолила ежедневно в течение 28-ти дней. Холестерин 3 % + мерказолил готовили из расчета: 30 мг холестерина и 1 мг мерказолила на 100 г массы тела, перемешивали с теплым растительным маслом, ранее прогретым при высокой температуре и охлажденным. Все животные получали стандартный полнорационный экструдированный комбикорм для лабораторных крыс (ООО «Лабораторкорм», Россия). В конце эксперимента у всех крыс, предварительно лишенных корма на 8 часов, из хвостовой вены брали пробы периферической крови для изучения показателей липидного обмена: содержание общего холестерина, липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов сыворотки крови. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью лицензионной программы Statistica version 13 (TIBCO Software Inc, США), используя метод вариационной статистики с применением t - критерия Стьюдента. Достоверность различий с контролем считали при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Однократное внутрибрюшинное введение Твина-80 вызывало статистически достоверное увеличение содержания ЛПНП и триглицеридов, а также некоторое повышение уровня общего холестерина и снижение содержания ЛПВП в сыворотке крови крыс относительно контроля (рисунок 1). Профилактическое введение ЦОТЭС в дозах 100 и 500 мг/кг и препарата сравнения «Вазоспонин®» в дозе 100 мг/кг в течение 14 дней до введения Твина-80 статистически значимо снижало содержание ЛПНП и триглицеридов, а также статистически достоверно повышало уровень ЛПВП в сыворотке крови крыс по сравнению с моделью патологии и восстанавливало исследуемые показатели липидного обмена до уровня контроля. При этом гиполипидемическое действие ЦОТЭС было сопоставимо с действием лекарственного препарата «Вазоспонин®» в дозе 100 мг/кг (рис. 1).



\* - достоверность различий с контролем ( $p < 0,05$ );

+ - достоверность различий с моделью патологии ( $p < 0,05$ ).

Рисунок 1. Показатели липидного обмена крыс-самцов с твиновой моделью гиперлипидемии, получавших профилактически ЦОТЭС и «Вазоспонин®»

При внутрижелудочном введении крысам холестерина 3% и мерказолила зарегистрировано увеличение содержания общего холестерина на 10% и триглицеридов на 30% в сыворотке крови крыс, а также некоторое повышение содержания ЛПНП относительно контроля. Введение ЦОТЭС в исследованных дозах в желудок крысам с моделью алиментарной гиперлипидемии статистически значимо снижало в сыворотке крови уровень триглицеридов с  $0,99 \pm 0,08$  ммоль/л (модель патологии) до  $0,69 \pm 0,04$  и  $0,78 \pm 0,02$  ммоль/л соответственно ( $p < 0,05$ ) и уровень общего холестерина с  $1,82 \pm 0,04$  ммоль/л до  $1,56 \pm 0,07$  и  $1,53 \pm 0,05$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ); а также уровень ЛПНП на 11% и 17% соответственно. По показателям липидного профиля крови ЦОТЭС на указанной модели гиперлипидемии проявлял гиполипидемическую активность, сопоставимую с препаратом сравнения.

**Заключение.** Полученные результаты являются важным дополнением к фармакологической характеристике изученного экстракта и позволяют рекомендовать лекарственные препараты, созданные на его основе в комплексной терапии гиперлипидемии с целью коррекции нарушений липидного обмена.

Исследования выполнены в соответствии с НИР ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Направленный скрининг, оценка фармакологической активности и безопасности биологически активных веществ и фармацевтических композиций на их основе» (регистрационный номер темы 122022600102-6, шифр темы FGUU-2022-0010).

#### **Литература.**

1. Сергиенко И.В., Аншелес А.А., Ежов М.В., Попова А.Б., Нозадзе Д.Н., Зубарева, М.Ю. Дислипидемии и атеросклероз. Москва: ООО «ПатиСС», 2020. 57 с.

2. Рекомендации ЕОК/ЕОА по диагностике и лечению дислипидемий 2019: коррекция нарушений магистральных артерий у больных с мультифокальным атеросклерозом. *CardioСоматика*. 2021;12(1):41–47. DOI: 10.26442/22217185.2021.1.200631.
3. Карабаева, В.В., Сидельникова Г.Ф., Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Ферубко Е.В. Пасенин – гиполипидемическое средство из пажитника сенного (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018; 21(10):67–71. DOI:10.29296/25877313-2018-10-13.
4. Карабаева В.В., Крепкова Л.В., Лупанова И.А., Бабенко А.Н., Мизина П.Г. Ретроспективный анализ экспериментального и клинического изучения пасенина – лекарственного средства для лечения дислипидемии у пациентов с сахарным диабетом. 2022;25(10): 56-63. DOI:10.29296/25877313-2022-10-08.
5. Лемясева С.В., Крепкова Л.В., Кузина О.С. Гиполипидемическая активность сухих растительных экстрактов на модели гиперлипидемии у крыс. // Сборник материалов Международной научной конференции молодых ученых «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения». М., 2021: 452-458.
6. Лемясева, С.В., Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Бабенко А.Н. Исследование гиполипидемической активности винограда культурного (*Vitis Vinifera* L.) листьев красных экстракта сухого. // Сборник научных трудов, М.: ФГБНУ ВИЛАР. 2021: 574-578. DOI: 10.52101/9785870191003\_2021\_574.
7. Лемясева С.В., Крепкова Л.В., Бабенко А.Н., Боровкова М.В., Кузина О.С. Новые возможности применения сухого экстракта красных листьев винограда культурного (*Vitis vinifera* L.). *Вопросы обеспечения качества лекарственных препаратов*. 2022; 2 (36):28-34. DOI:10.34907/JPQAI.2022.56.49.004.
8. Лемясева С.В., Крепкова Л.В., Бабенко А.Н. Гепатопротекторное действие лекарственного средства на основе цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.). Материалы 5-й Росс. конф. по мед. химии «МедХим-Россия 2021». Волгоград: Изд. ВолгГМУ, 2021: 150. DOI: 10.19163/MedChemRussia2021-2021-150.
9. Сайбель О.Л., Радимич А.И., Даргаева Т.Д., Лупанова И.А., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н., Мартынич И.А. Фенольные соединения и фармакологический скрининг экстракта травы цикория обыкновенного. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):36-45.
10. Saybel O.L., Rendyuk T.D., Dargaeva T.D., Nikolaev S.M., Khobrakova V.B. Phenolic Compounds and Immunomodulating Activity of Chicory (*Cichorium intybus* L.) Extract. *Pharmacogn J*. 2020; 12(5):1104-1107.

## ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КАПСУЛ ЗЮЗНИКА ЕВРОПЕЙСКОГО

О.С. Кузина\*, М.В. Боровкова, Л.В. Крепкова  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва, Россия  
e-mail: oskt@list.ru

**Ключевые слова:** зюзник европейский (*Lycopus europaeus* L.), щитовидная железа, тиреостатическое действие, кролики самцы.

**Введение.** Согласно статистическим данным прирост числа заболеваний щитовидной железы в мире составляет 5% в год, в данный момент тиреоидными патологиями обладают более 665 млн. человек. В связи с большой распространенностью заболеваний щитовидной железы Европейская тиреологическая ассоциация в 2008 году учредила Всемирный день щитовидной железы, который отмечается ежегодно 25 мая [1]. Высокая эффективность биологически активных веществ, входящих в состав растений доказана многочисленными доклиническими и клиническими исследованиями самых разнообразных заболеваний. В этой связи остается актуальным поиск новых эффективных

и безопасных лекарственных средств растительного происхождения, обладающих анти tireоидным эффектом, одним из которых является зюзник европейский (*Lycopus europaeus* L.).

**Цель.** Доклиническое токсикологическое исследование лекарственного препарата зюзника капсул 0,2г, созданного в ФГБНУ ВИЛАР из сухого экстракта, обладающего тиреостатическим действием.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлись капсулы по 0,2 г, созданные на основе сухого экстракта, полученного из надземной части зюзника европейского в Центре химии ФГБНУ ВИЛАР, стандартизованного по сумме фенольных соединений в пересчете на розмариновую кислоту 6,25% и обладающего тиреостатическим действием. Эксперименты одобрены биоэтической комиссией института и выполнены в соответствии современными Правилами лабораторной практики и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012).

В хроническом эксперименте в течение 90 дней капсулы зюзника вводили кроликам-самцам породы Шиншилла, распределенным на три группы по 5 животных в каждой. Готовую лекарственную форму вводили в желудок один раз в день (утром) в дозах 60 и 120 мг/кг, которые являлись 10-ти и 20-ти кратными суточными терапевтическими. Контрольные животные получали плацебо капсул.

В течение всего периода наблюдений у животных регистрировали интегральные показатели здоровья: внешнее состояние и отклонения в потреблении корма и воды (ежедневно), прирост массы тела (еженедельно). На 31-й и 91-й дни эксперимента брали пробы периферической крови для определения гематологических и биохимических показателей. В те же сроки оценивали функциональное состояние сердечно-сосудистой системы кроликов по результатам электрокардиограмм, снятых во II стандартном отведении. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии в CO<sub>2</sub> камере и некропии для проведения патоморфологического исследование внутренних органов с целью определения влияния на них исследуемого препарата.

После завершения экспериментальных исследований проводили статистическую обработку полученных результатов методом вариационной статистики с применением «t» - критерия Стьюдента. Достоверность различий с контролем считали при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Длительное введение в желудок капсул в испытанных дозах не влияло на общее состояние и поведение животных: они имели опрятный внешний вид, гладкий шерстный покров, у них сохранялась обычная двигательная активность. Динамика массы тела кроликов, получавших исследуемый препарат, во все периоды наблюдения не имела статистически достоверных различий с показателями в контроле. В течение всего эксперимента не отмечено гибели животных.

При исследовании периферической крови кроликов, получавших зюзника капсулы в дозах 60 и 120 мг/кг в течение всего хронического эксперимента, не выявлено влияния исследуемого препарата на функциональное состояние печени, почек и поджелудочной железы животных. Биохимические и гематологические показатели не имели статистически достоверных изменений и находились в пределах нормы для данного вида лабораторных животных.

Введение зюзника капсул в испытанных дозах не нарушало функциональное состояние сердечно-сосудистой системы кроликов по записи электрокардиограмм, снятых во II стандартном отведении.

При патогистологическом исследовании внутренних органов (головной мозг, гипофиз, тимус, сердце, печень, почки, надпочечники, поджелудочная железа, семенники) кроликов всех экспериментальных групп не выявлено морфологических изменений, связанных с токсическим действием препарата. Отмечено умеренное раздражающее действие капсул на слизистые желудочно-кишечного тракта.

Патогистологическими исследованиями подтверждено наличие у препарата иммуностимулирующих свойств (слабое стимулирующее влияние на пролиферативную способность клеток иммунокомпетентных органов), а также структурных изменений

щитовидной железы в виде уплощения эпителия фолликулов, наличия мелких фолликулов с густым коллоидом, свидетельствующих о его специфическом тиреостатическом действии.

**Заключение.** Установлено, что капсулы зюзника 0,2 г при введении кроликам в желудок в 10-ти и 20-ти кратных суточных терапевтических дозах, хорошо переносятся животными и не оказывают повреждающего действия на их основные органы и системы организма. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности проведения клинических исследований изученного препарата в качестве антитиреоидного лекарственного средства.

#### **Литература.**

1. Савина А.А. Тенденции показателей заболеваемости болезнями эндокринной системы взрослого населения Российской Федерации. *Социальные аспекты здоровья населения* [сетевое издание]. 2021;67(4): 6.

## ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ БЕТУЛИНОВОГО ЭФИРА ИНДОМЕТАЦИНА ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ МЫШАМ

В.Ю. Миронов, О.А. Кайдаш

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
г. Томск, Россия

e-mail: vitaka50@gmail.com

**Ключевые слова:** бетулин, индометацин, острая токсичность

**Введение.** В настоящее время остро встает вопрос о терапии боли. Большинство пациентов, страдающих хроническими заболеваниями или перенесшие оперативное вмешательство испытывают проявления болевого синдрома различной степени интенсивности [1]. Самой доступной группой препаратов против боли среди населения являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Однако данная группа лекарственных средств наиболее часто вызывает ряд побочных эффектов, таких как ulcerогенное действие, нефротоксичность и гепатотоксичность [2]. В связи с этим появляется интерес к модификациям молекул НПВС, способным снизить их побочные эффекты, не ухудшив при этом основного фармакологического действия. Одним из вариантов трансформации является соединение НПВС с молекулами растительного происхождения. Одной из таких молекул является бетулин – тритерпеноид, проявляющий в экспериментах анальгетическую и противовоспалительную активность [3].

**Цель.** Изучить острую токсичность бетулинового эфира индометацина в сравнении с индометацином в эквивалентных дозах.

**Материалы и методы.** В настоящем исследовании была проведена оценка эквитоксичности субстанции на основе эфиров бетулина и индометацина в сравнении с токсичностью индометацина. Распределение животных по группам представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Дизайн исследования острой токсичности субстанции на основе эфиров бетулина и индометацина

Номер группы	Вид животного	Вводимое вещество	Доза, мг/кг	Количество и пол животных	Объем введения, мл
Группа № 1	Мышь	индометацин	100	5 ♂	Не более 1
Группа № 2	Мышь		50	5 ♂	Не более 1
Группа № 3	Мышь		25	5 ♂	Не более 1
Группа № 4	Мышь	исследуемое соединение	100	5 ♂	Не более 1
Группа № 5	Мышь		50	5 ♂	Не более 1



Номер группы	Вид животного	Вводимое вещество	Доза, мг/кг	Количество и пол животных	Объем введения, мл
Группа № 6	Мышь		25	5 ♂	Не более 1

Исследуемую субстанцию и индометацин вводили в виде суспензии в 1% растворе крахмальной слизи внутрижелудочно однократно с использованием атравматичного зонда. Дозы изучаемого соединения и лекарственного средства были рассчитаны для каждого животного индивидуально, исходя из массы тела.

Клиническое наблюдение за животными осуществлялось непрерывно в первые часы после введения (8 часов), затем дважды в день в течение 14 дней после введения. Фиксировалась смертность, токсические проявления и общее состояние животных. Все животные, погибшие в период наблюдения (до наступления состояния окоченения), а также все выжившие животные по окончании наблюдения были подвергнуты некропсии. При некропсии макроскопически оценивалось состояние внутренних органов и тканей.

**Результаты.** После однократного внутрижелудочного введения индометацина в течение 4 суток регистрировалась гибель животных во всех группах. На вторые сутки после введения в первой группе погибло 3 животных, во второй – 1, в третьей – 1. Все остальные мыши в группах, получивших индометацин, проявляли признаки клинического неблагополучия: малоактивны, отсутствие груминга, замершая поза с выгибанием спины в дугу (признаки внутрибрюшинной боли), прищуренный взгляд, сморщенный нос, вибриссы располагались параллельно полу. При вынимании из клетки не убегали от захвата, были инфантильны, не проявляли интерес к происходящему вокруг. Вокализация при прикосновениях отсутствовала. На третьи сутки после введения во второй группе погибло 3 животных, в третьей – 2. На пятые сутки в первой группе погибло 1 животное. Таким образом, к седьмым суткам от начала эксперимента в группе 1 осталось живым 1 животное, в группе 2 – 1 животное, в группе 3 – 2 животных.

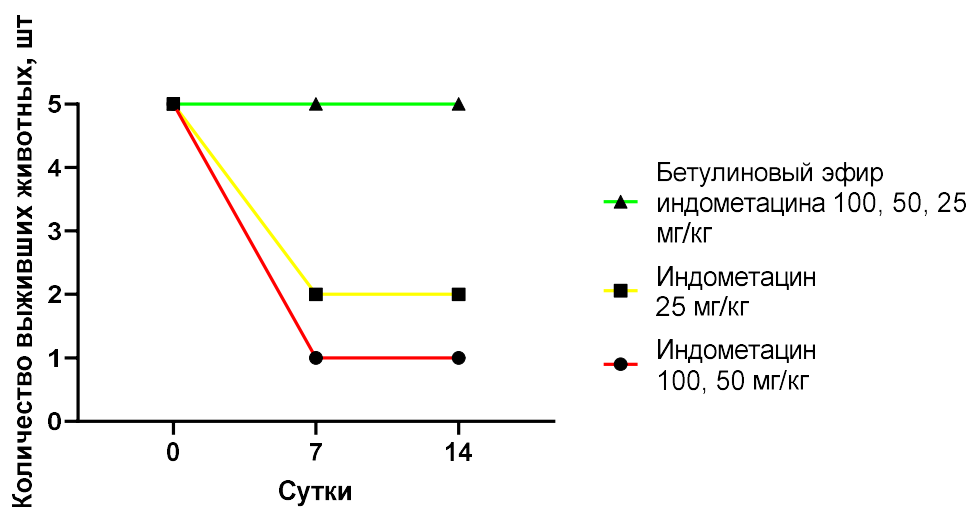


Рисунок 1. Выживаемость животных в эксперименте по оценке острой токсичности субстанции на основе эфиров бетулина и индометацина

При регистрации массы тела на 7 и 14 сутки от введения индометацина значимого различия в весе животных не наблюдалось. При неплановой некропсии у всех животных регистрировался асцит и наличие перфораций в разных отделах желудка и кишечника. В ходе плановой некропсии у второго животного 3 группы наблюдалась спайка между печенью и верхним отделом двенадцатиперстной кишки. При изучении характера спайки было установлено, что она заполнена кишечным содержимым. Вероятно, спайка образовалась в месте перфорации кишечника на фоне токсического действия индометацина. У первого животного группы 2 регистрировалось изменение цвета печени (бледно-коричневая), нарушение дольковой структуры и консистенции (мягкая), края были

заострены, на разрезе отсутствовало выраженное дольчатое строение. Все эти признаки указывают на развитие токсического гепатита. У остальных выживших животных групп индометацина при плановой некропии изменения органов и тканей не наблюдалось.

После однократного внутривенного введения эфира бетулина и индометацина в течение всего эксперимента гибель животных во всех группах не регистрировалась. В течение 14 дней клинического наблюдения животные не проявляли признаков неблагополучия, вес оставался неизменным (не наблюдается достоверных отличий). При плановой некропии у всех животных не регистрировались отклонения в структурах органов.

**Заключение.** Исследуемая субстанция эфира бетулина и индометацина в изучаемых дозах не проявляет токсических эффектов. Индометацин во всех исследуемых дозах оказывает токсическое действие, вплоть до гибели животных.

#### **Литература.**

1. Кукушкин М.Л., Табеева Г.Р., Подчуфарова Е.В. Болевой синдром: патофизиология, клиника, лечение. *Клинические рекомендации*. ИМА-ПРЕСС; 2014. 64 с.

2. Викторова И.А., Трухан. Д.И., Иванова Д.С. Современные возможности лечения и профилактики НПВП-индуцированных энтеропатий. *Медицинский Совет*. 2020;(5):30-40. DOI: org/10.21518/2079-701X-2020-5-30-40.

3. Jager S., Laszczyk M., Scheffler A. A preliminary pharmacokinetic study of betulin, the main pentacyclic triterpene from extract of outer bark of birch (*Betulae alba cortex*). *Molecules*. 2008;13(12):3224-35. DOI: 10.3390/molecules13123224.

### РАЗРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА, ОКАЗЫВАЮЩЕГО АНТИТОКСИЧЕСКОЕ И АНКСИОЛИТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Т.П. Новожеева<sup>1,2\*</sup>, Т.В. Шушпанова<sup>1</sup>, Н.Э. Коломиец<sup>2</sup>, Л.Н. Новицкая<sup>2</sup>, А.В. Матвеев<sup>2</sup>,  
М.В. Мелешко<sup>2</sup>, С.М. Сафронов<sup>2,3</sup>, Р.С. Боев<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>НИИ психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский  
центр РАН, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, г. Томск, Россия

<sup>3</sup>ООО «Вистерра», Барнаул, Россия  
e-mail: ntp1953@mail.ru

**Ключевые слова:** этанол, алкогольная интоксикация, репешок волосистый (*Agrimonia pilosa*), фармакотерапия алкоголизма

**Введение.** Поиск и создание новых фармакологических средств, снижающих токсические эффекты алкоголя на организм, основан на разработке препаратов различных фармацевтических групп: ноотропов, адаптогенов, модуляторов нейрорецепторных систем мозга, вторичных мессенджеров - средств, оказывающих влияние на токсикодинамику и/или токсикокинетику этанола. Под действием алкоголя нарушаются процессы возбудимости и торможения в ЦНС, передачи нервного импульса, синаптическая пластичность в нейронных сетях [1]. Хроническая интоксикация алкоголем сопровождается развитием тревожных расстройств и когнитивного дефицита [1-3]. Описан ряд нейрохимических систем, вовлеченных в механизмы комплексного воздействия алкоголя на ЦНС, включая лиганд- и потенциал-зависимые ионные каналы, дофамин, серотонин, ГАМК, глутамат, опиоидные пептиды, эндоканнабиноиды, субстанция Р, орексин, аденозин и др. [1, 2]. Необходим дифференцированный подход при фармакотерапии алкоголизма из-за различной клинической типологии и сопутствующих заболеваний. Важной задачей отечественного здравоохранения является обеспечение фармацевтического рынка лекарственными средствами с высоким качеством, эффективностью и безопасностью [4]. В сравнении с синтетическими препаратами

растительные средства обладают низкой токсичностью и несколькими видами активности, усиливающих эффективность их действия. Исследование и разработка технологии изготовления новых лекарственных средств на основе репешка волосистого (*Agrimonia pilosa*) являются перспективными.

**Цель.** Целью данного исследования явилось изучение противотревожного и антитоксического действия экстракта репешка волосистого (*Agrimonia pilosa*) на ЦНС в эксперименте при остром влиянии алкоголя на беспородных мышей и крыс линии Вистар.

**Материалы и методы.** Репешок волосистый (*Agrimonia pilosa*) – травянистое многолетнее растение, относится к семейству розоцветных. Известен богатый химический состав репешка волосистого, которые имеют высокую биологическую эффективность. В надземной части растения содержатся дубильные вещества (1,5 – 8,9%), флавоноиды (7,1%), углеводы (19,5%), органические кислоты и их производные; а также высшие алифатические спирты (цетиловый); воска (пальмиат и стеарат цетилового спирта); жирные кислоты (Растительные ресурсы СССР, 1987). Листья репешка волосистого содержат: тритерпеноиды), стероиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества (5,89%), катехины, флавоноиды (рутин, кверцитин, изокверцитин, кемпферол, в гидролизатах кверцитрин, кемферол, цианидин). Первоначально получали жидкий экстракт из травы репешка волосистого (1:1) с использованием батареи из 5-ти перколяторов с законченным циклом методом реперколяции (по Н.А. Чулкова). При получения сухого экстракта этанол из жидкого экстракта репешка удаляли при температуре 40°C дистилляционным методом в условиях вакуума и подвергали сушке в вакуум-сушильном шкафу при температуре 40°C.

Эксперимент проводился на 36 беспородных мышках-самцах (32-33 гр.) и 50 крысах-самцах линии Вистар (160-180 гр.), полученных из питомника НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН (г.Томск). Животных содержали в условиях лабораторного вивария, на стандартной диете, при нормальном световом режиме. Содержание экспериментальных животных соответствовало правилам, принятым Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986) и правилами лабораторной практики (приказ МЗ РФ (19.06.2003, N267). В течение 4-х дней мышам 1-й группы вводили зондом внутрижелудочно крахмальную слизь, мышам 2-й группы вводили «Напиток Алтайский № 12» в крахмальной слизи (100 мг/кг) и мышам 3-й группы – экстракт репешка волосистого (100 мг/кг) в крахмальной слизи. В течение 4 дней крысам-самцам 1-й группы также вводили внутрижелудочно крахмальную слизь в эквивалентном количестве. Для определения эффективной дозы экстракт репешка применяли в двух дозах: крысам во 2-й и 3-й группе вводили внутрижелудочно экстракт репешка волосистого, соответственно, в дозе 100 мг/кг и 150 мг/кг в крахмальной слизи. В качестве референтного препарата применялся экстракт зверобоя, соответствующий по содержанию гиперцицина (препарат Негрустин), в дозе 100 мг/кг в га основе крахмальной слизи. Изучение поведенческой и двигательной активности животных осуществляли в тесте «открытое поле» на 5-й день эксперимента и через 24 часа после этанолового наркоза. Для исследования влияния экстракта репешка волосистого на чувствительность к алкоголю экспериментальным животным внутрибрюшинно вводили 12,5% раствор этанола в дозе 4,5 мг/кг массы тела, с учетом возможной повышенной чувствительности к этанолу. Время наступления этанолового наркоза фиксировали по боковому положению тела животного и выхода из этого состояния. Препаратом сравнения в исследовании на мышках был выбран напиток Алтайский № 12(100 мг/кг), в состав которого входят сухие экстракты крушины, льна, проявляющие антиоксидантной активность, обволакивающее и иммуномодулирующее действие, способные оказывать антитоксическое действие при алкогольной интоксикации. Экстракты брусники, бессмертника, родиолы розовой, шиповника, солодки, входящие в состав напитка, снижают токсический эффект алкоголя, способны быть эффективны при лечении и в реабилитации больных алкоголизмом. Напиток Алтайский, растворенный в крахмальной слизи использовали в дозе 100 мг/кг в исследовании с беспородными белыми

мышами. Экстракт зверобоя (препарат Негрустин), стандартизированный по гиперину, растворенный в крахмальной слизи использовали в дозе 100 мг/кг в исследовании на крысах-самцах (линии Вистар). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Фишера.

**Результаты.** При проведения эксперимента – тестирования белых беспородных мышей в «открытом поле» - установлено, что экстракт репешка волосистого уменьшал ориентировочно-исследовательскую активность поведения и способствовал адаптации животных к стрессу в сравнении с контролем и действием растительного напитка чайного Алтайского №12. Кроме того, у мышей, получавших экстракт репешка волосистого, снижалась чувствительность к введению этанола: латентный период засыпания сократился в 1,6 раза, а длительность сна - в 3 раза по сравнению с группой мышей, получавшей крахмальную слизь. У крыс, получавших экстракт репешка волосистого в дозах 100 мг/кг и 150 мг/кг, длительность этанолового сна уменьшалась в 1,8 и 2,4 раза по сравнению с животными, получавшими экстракт зверобоя, что свидетельствует о выраженном антитоксическом эффекте изучаемого экстракта. Более того, экстракт репешка волосистого значительно снижал груминг во всех группах животных, что связано с его анксиолитическим - противотревожным - действием и является крайне важным для редукции развития делирия при острой алкогольной интоксикации.

**Заключение.** Перспективна разработка фармацевтического средства на основе экстрактов репешка волосистого (*Agrimonia pilosa*), обладающего, по нашим данным, антитоксическим и анксиолитическим действием. Антиалкогольная направленность экстракта, позволяет создать растительный препарат, не вызывающий привыкания и стимулирующий процессы детоксикации, что, безусловно, повысит эффективность терапии алкоголизма, снизит токсические эффекты лечения [4,5,6].

#### **Литература.**

1. Шушпанова Т.В., Бохан Н.А., Станкевич К.С., Новожеева Т.П., Мандель А.И., Счастный Е.Д., Кисель Н.И., Шушпанова О.В., Удут В.В., Сафронов С.М., Боев Р.С., Князева Е.М. Инновационный модулятор ГАМК рецепторов – активатор митохондриальной цитохром-Р450 оксидазной системы печени у больных алкоголизмом. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020; 11 (54): 9-16. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-11-9-16>
2. Маркова Е.В., Савкин И.В., Княжева М.А., Шушпанова Т.В. Антиконвульсант с иммуномодулирующими свойствами в терапии алкоголизма: экспериментальное исследование. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2020; 1 (106): 14–22. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2020-1\(106\)-14-22](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2020-1(106)-14-22)
3. Шова Н.И., Михайлов В.А. Тревожное расстройство как фактор риска суицидальных намерений у пациентов с эпилепсией. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2019; 4 (105): 89–94. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2019-4\(105\)-89-94](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2019-4(105)-89-94)
4. Новожеева Т.П., Шушпанова Т.В., Удут В.В., Бохан Н.А. Создание фармакологических средств активации систем детоксикации: опыт и перспективы. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2017; 80(6 Прил): 23.
5. Кисель Н.И., Бедарев Р.И., Мандель А.И., Шушпанова Т.В., Мазурова Л.В., Новожеева Т.П., Солонский А.В., Гарганеева Н.П., Бурдовицина Т.Г., Гончикова И.А., Попова Т.А. Алгоритм персонализированной терапии больных алкоголизмом с коморбидными нарушениями детоксицирующей функции печени и когнитивными расстройствами. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2022;4 (117): 33-43. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2022-4\(117\)-33-43](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2022-4(117)-33-43)
5. Ху Диан. Клинико-биологические исследования депрессий и алкогольной зависимости среди населения Китая. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2019; 2 (103): 113–117. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2019-2\(103\)-113-117](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2019-2(103)-113-117)

## ВЛИЯНИЕ ХЛОРОХИНА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ *OPISTHORCHIS FELINEUS IN VITRO*

Е.А. Перина<sup>1\*</sup>, Е.Е. Буйко<sup>1</sup>

Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск  
e-mail: perina.ea@ssmu.ru

**Ключевые слова:** описторхоз, *Opisthorchis felineus*, гемозоин, хлорохин, мариты, окислительный стресс

**Введение.** Описторхоз – природно-очаговое заболевание, вызываемое трематодами рода *Opisthorchis*. По оценкам Всемирной Организации Здравоохранения 46 % территории России эндемично по данному заболеванию. Риску заражения подвержены более 12 миллионов человек на территории России и в структуре биогельминтозов на долю описторхоза приходится 74,4 % заболеваемости. [0].

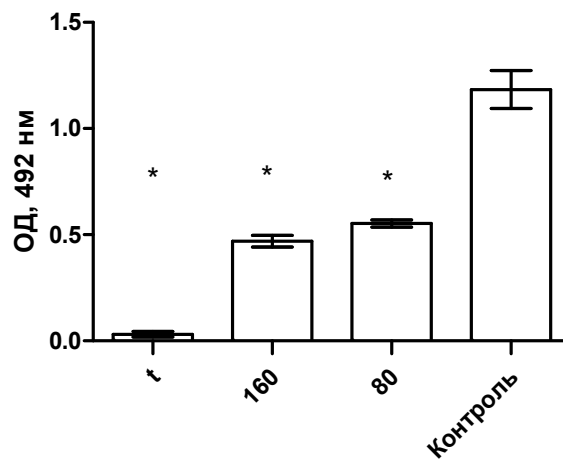
Описторхоз сопровождается значительными повреждениями органов гепатобиллиарной системы человека. Наиболее серьезными осложнениями описторхоза являются цирроз печени и злокачественное перерождение тканей пораженных органов, приводящее к развитию холангиокарциномы [0]. В настоящее время основным антигельминтным препаратом является празиквантел, который применяется в лечении описторхоза и других заболеваний, вызванных трематодами. Несмотря на высокую антигельминтную активность празиквантеля его лечебное действие определяется по оценкам разных авторов в 62,0-84,5 % случаев [0].

В процессе жизнедеятельности печеночный сосальщик *O. felineus*, в отличие от *O. viverrini*, распространенного в Юго-Восточной Азии, продуцирует гемозоин, что является адаптивной реакцией паразитов к гематофагии [0]. Известно, что гемозоин является мишенью действия антималярийных средств – лекарственных препаратов хинолиновой природы (в том числе хлорохина) [0]. Один из механизмов действия хлорохина на плазмодии основан на разрушении молекулы гемозоина, выводу свободного железа, которое инициирует свободнорадикальное окисление. Можно предполагать, что использованием препаратов хинолиновой природы, приведет к увеличению чувствительности печеночного сосальщика к активным формам кислорода, повреждению поверхности червя (тегумента) и изменению иммунного ответа хозяина против гельминта.

**Цель.** Определить влияние окислительного стресса, индуцированного хлорохином, на жизнеспособность ювенильных форм *O. felineus*.

**Материалы и методы.** Модель экспериментального описторхоза воспроизведена на самцах золотистых хомяков *Mesocricetus auratus* согласно рекомендациям фармакологического комитета Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития [0]. Спустя 3 месяца после инвазии взрослые формы печеночного сосальщика извлекали из желчных протоков и инкубировали 24 часа при 37 °С в атмосфере углекислого газа (5%) в питательной среде RPMI 1640, содержащей 10г/л глюкозы и 2г/л NaHCO<sub>3</sub>, 100 мкг/мл и стрептомицина 100 Ед/мл. Оценка жизнеспособности марит описторхов проведена с использованием одноступенчатого МТТ-теста - колориметрического способа оценки метаболической активности клеток с использованием MTS реагента (Promega) [0]. Эксперимент проводился в четырех повторностях и повторялся три раза. В качестве отрицательного контроля использовались зрелые формы гельминта, которых предварительно нагрели до 65°С в течение 20 мин.

**Результаты.** В результате экспериментов установлено, что инкубация зрелых форм *O. felineus* в присутствии хлорохина приводило к снижению жизнеспособности марит, о чем свидетельствует уменьшение оптической плотности MTS реагента (Рисунок 1). Величина эффекта зависела от концентрации хлорохина, и в дозе 80 и 160 мкМ жизнеспособность марит снижалась на 39,6% и 46,7 % соответственно.



\* - статистически значимый уровень различий относительно контрольной группы  $p < 0,05$ .

Рисунок 1. Результаты MTS теста, отражающие жизнеспособность взрослых форм *O. felineus* после инкубации с хлорохином

**Заключение.** Хлорохин *in vitro* снижает жизнеспособность клеток ювенильных форм печёночного сосальщика *O. felineus*. Известно, что наряду с нарушением структуры гемозоина и выходом свободного железа, хлорохин также препятствует образованию гемозоина [5]. Можно предполагать, что нарушение пути неферментативного образования гемозоина у печёночного сосальщика под действием хлорохина, также будет оказывать противоопистархозное действие *in vivo*.

#### Литература.

1. Ogorodova L. M. et al. Opisthorchiasis: an overlooked danger. *PLoS neglected tropical diseases*. 2015; 9(4): e0003563.
2. A Mordvinov V., P Furman D. The Digenea parasite *Opisthorchis felineus*: a target for the discovery and development of novel drugs. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*. 2010;10(5):385-401.
3. Толоконская Н. П., Литвинова М. А., Чабанов Д. А. Способ лечения описторхоза. – 2004.
4. Hemozoin “knobs” in *Opisthorchis feneus* infected liver / A. G. Pershina, I.V. Saltykova, V.V. Ivanov, E.A. Perina et al. *Parasites & vectors*. 2015; 8(1):459–467.
5. Coronado L. M., Nadovich C. T., Spadafora C. Malarial hemozoin: from target to tool *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2014;1840(6):2032-2041.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных / под ред. А.М. Миронова. – М.:Гриф и К, 2012. – 944 с.
7. Berridge M. V., Herst P. M., Tan A. S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology annual review*. 2005;11:127-152.

### ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ НАКОПЛЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОГО ГЕПАТОТРОПНОГО КОНТРАСТНОГО СОЕДИНЕНИЯ GDOF-Mn-DTPA В ПЕЧЕНИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ НА МОДЕЛЯХ ДИФFUЗНОЙ ПАТОЛОГИИ

А.С. Подъяблонский<sup>1,3\*</sup>, М.В. Белоусов<sup>1,2</sup>, О.Ю. Бородин<sup>2,3</sup>, Т.П. Новожеева<sup>2,4</sup>, С.В. Бородина<sup>5</sup>, В.Ю. Усов<sup>6</sup>

<sup>1</sup>НИ Томский политехнический университет, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО СибГМУ, г. Томск, Россия

<sup>3</sup>ОГАУЗ Томский областной онкологический диспансер, г. Томск, Россия

<sup>4</sup>Томский национальный исследовательский медицинский центр, г. Томск, Россия

<sup>5</sup>НИИ биологии и биофизики, г. Томск, Россия

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография, гепатотропное контрастное соединение, марганец.

**Введение.** Метаболическая активность клеток печени напрямую влияет на накопление специфических контрастных соединений для магнитно-резонансной томографии. В свою очередь изменение метаболизма и/или повреждение клеток может привести к ухудшению диагностических свойств контрастными препаратами. Например, клинически применяемый магнитно-резонансный гепатоспецифический препарат Примовист (Gd-EOB-DTPA) в случае развития желтухи у пациентов теряет свои специфические свойства из-за нарушения транспортировки желчных кислот из гепатоцитов в желчные пути, что является его недостатком при проведении магнитно-резонансного исследования у пациентов при диффузной патологии печени.

Таким образом диффузные патологические состояния, например желтуха различного генеза, ишемия ткани, гепатит или цирроз должны учитываться при назначении контрастного усиления для пациентов.

Поиск органоспецифических контрастных соединений, которые позволят проводить диагностику очаговых образований при диффузных изменениях, является перспективным направлением исследований.

Эти соображения побудили нас исследовать влияние диффузной патологии печени на динамику накопления нового экспериментального контрастного соединения GDOF-Mn-DTPA в печени на моделях патологии.

**Цель.** Исследовать динамику накопления контрастного соединения GDOF-Mn-DTPA в печени лабораторных животных на моделях токсического гепатита, подпеченочного холестаза, тотальной ишемии и алкогольной интоксикации печени.

**Материалы и методы.** Модель острого токсического гепатита формировалась на крысах Wistar (n = 6) средней массой 350–400 мг, которые содержались в одинаковых условиях согласно международным нормам содержания лабораторных животных. В течение трех суток крысам через интрагастральный зонд вводили 50% масляный раствор четыреххлористого углерода в дозировке 0,3 мл/кг. Контрольной группе крыс (n = 6) вводили через интрагастральный зонд оливковое масло.

Для моделирования тотальной ишемии печени проводилась внутриполостная операция на брюшной полости крыс Wistar (n = 6): крысам вводили Золетил-100 дозой 2 мг/100 г для наркоза, по центральной линии обеспечивали хирургический доступ, выделяли печеночную артерию и плоским атравматичным зажимом пережимали сосуд на 20 минут.

При моделировании подпеченочного холестаза выполнялась внутриполостная операция на брюшной полости крыс Wistar (n = 6): крысам вводили Золетил-100 дозой 2 мг/100 г для наркоза, по центральной линии обеспечивали хирургический доступ, выделяли общий печеночный проток и перевязывали нитью кетгута.

Контрольной группе крыс (n = 5) проводили ложную операцию с формированием хирургического доступа с последующим ушиванием раны.

Модель алкогольной интоксикации проводилась по следующей схеме: крысам Wistar (n = 6) в течение 7 дней вводили интрагастрально через зонд 40% алкоголь из расчета 10 мл на кг массы тела.

На третий день с формирования каждой модели патологии проводилось исследование фармакокинетики исследуемого препарата, для наркоза крысам внутримышечно вводили Золетил-100 дозой 2 мг/100 г. Контрастное соединение GDOF-Mn-DTPA в дозировке 0,025 ммоль/кг вводили в бедренную вену через периферический катетер 29G.

Исследование динамики накопления соединения GDOF-Mn-DTPA проводилось на МРТ Toshiba Vantage Titan с напряженностью магнитного поля 1,5 Тл с использованием протокола 3D FFE с подавлением сигнала от жира со следующими параметрами: TR = 4,4

мс, TE = 1,9 мс, угол наклона = 15°, FOV = 35x27 см, матрица 208x208. Измерение выполнялись непрерывно с момента введения препаратов в течение 60 минут.

Также для обработки полученных значений использовался коэффициент контрастирования печени:

$$\text{Коэффициент контрастирования} = \frac{\Delta I_{\text{ио}}}{\Delta I_{\text{м}}},$$

где  $\Delta I_{\text{ио}}$  – среднее значение интенсивности для пяти измерений печени крыс,  $\Delta I_{\text{м}}$  – среднее значение интенсивности для пяти измерений в области мышц нижней конечности экспериментального животного. Строились графики зависимости коэффициентов контрастирования от времени для парамагнетика.

Для оценки достоверности полученных данных проводилось внутри- и межгрупповое сравнение полученных коэффициентов по критерию Краскела-Уоллиса с уровнем значимости  $p = 0,05$ . Обработка данных проводили в программе SPSS Statistics.

**Результаты.** В ходе исследования было выявлено значимое снижение динамики накопления соединения GDOF-Mn-DTPA в печени крыс при модели токсического гепатита (межгрупповой критерий Краскела-Уоллиса,  $p < 0,001$ ) и при модели алкогольной интоксикации (межгрупповой критерий Краскела-Уоллиса,  $p = 0,017$ ). Данные результаты могут свидетельствовать о том, что токсическое изменение или нарушение целостности клеток печени животных прямо влияет на коплёные соединения. Кривые накопления вещества представлены на рисунке 1.

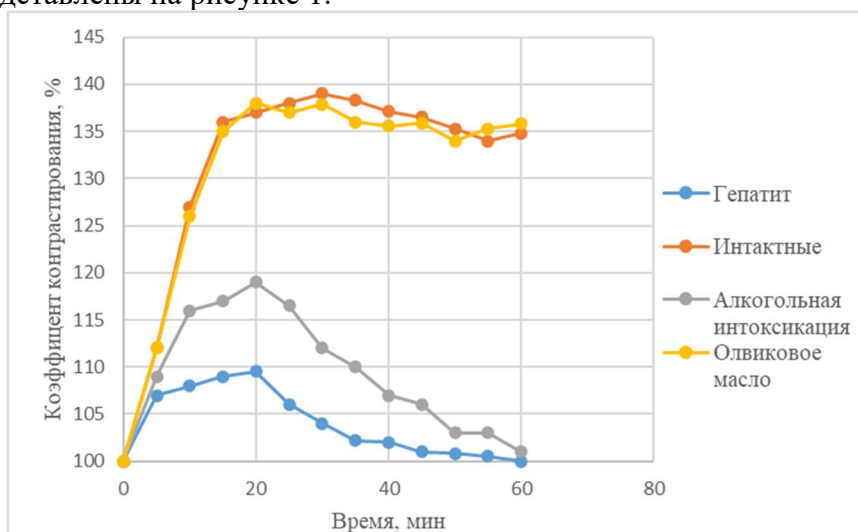


Рисунок 1. Динамика накопления контрастного соединения в печени крыс для групп с моделью токсического гепатита, алкогольной интоксикации, контрольной группы с оливковым маслом и интактных животных

При сравнении динамики накопления соединения GDOF-Mn-DTPA в печени интактных крыс, на моделях тотальной ишемии, подпеченочного холестаза, а также для контрольных групп животных, было выявлено отсутствие значимой разницы в уровнях контрастного усиления (межгрупповой критерий Краскела-Уоллиса,  $p = 0,067$ ). Динамику контрастного усиления можно оценить по графикам на рисунке 2.



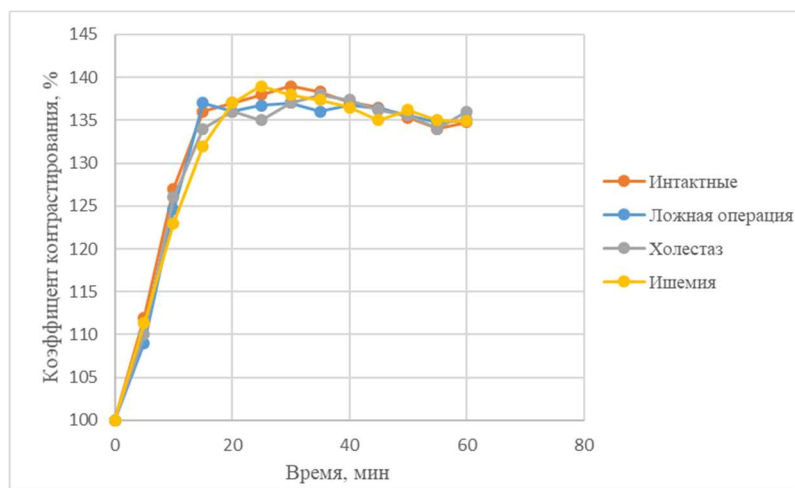


Рисунок 2. Динамика накопления контрастного соединения в печени крыс для групп с моделью подпеченочного холестаза, тотальной ишемии и контрольной группы ложнооперированных животных

### **Заключение.**

- На модели токсического гепатита у лабораторных животных накопление соединения GDOF-Mn-DTPA в печени снижено, что обусловлено повреждением клеток ткани. Алкогольная интоксикация также снижает накопление контрастного соединения GDOF-Mn-DTPA в печени.

- Таким образом контрастированием соединением GDOF-Mn-DTPA позволяет проводить оценку степени токсического повреждения ткани печени.

- Не происходит накопление контрастного соединения при развитии подпеченочной желтухи., что может быть обусловлено отсутствием транспорта вещества вместе с желчными кислотами. На модели тотальной ишемии печени также не происходит накопления соединения GDOF-Mn-DTPA в ее ткани, что может быть обусловлено взаимодействием соединения с мембранной гепатоцитов без внутриклеточного транспорта.

- Возможно, холестаз и ишемия не будут влиять на диагностические качества вещества GDOF-Mn-DTPA при оценке очагового поражения печени, что является преимуществом данного соединения перед современным аналогом Примовист..

### **Литература.**

1. Г.Г. Кармазановский, Н.Л. Шимановский. *Контрастные средства для лучевой диагностики: Руководство*. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022.
2. Н.Л. Шимановский. *Диагностическая и интервенционная радиология*. 2009;3(1),5-15.
3. Н.Л. Шимановский, М.А. Епинетов, М.Я. Мельников. *Молекулярная и нанофармакология* – Москва (2009). 624 С.
4. О.Ю.Бородин, М.Л.Белянин, Е.В.Семичев, В.Д.Филимонов. *Лучевая диагностика и терапия.*; (3), 43–53 (2011).
5. О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, Г.Ц. Дамбаев. *Российский электронный журнал лучевой диагностики*. 2(2), 86–87 (2012).

## **ПРИМЕНЕНИЕ ЛАКТОФЕРРИНА В ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА**

М.М. Рахматуллаева

Бухарский государственный медицинский институт, Бухара, Узбекистан

e-mail: mahfuzar@inbox.ru

**Ключевые слова:** бактериальный вагиноз, лактоферрин, пробиотики, пребиотики.

**Введение.** Бактериальный вагиноз (БВ) – наиболее распространенная инфекция нижних отделов репродуктивного тракта среди женщин репродуктивного возраста, характеризующаяся истощением ассоциированных со здоровьем лактобактерий и чрезмерным ростом анаэробов [4]. Метронидазол рекомендуется в качестве терапии первой линии для лечения БВ на протяжении десятилетий. Хотя в большинстве случаев лечение позволяет излечиться, рецидивирующие инфекции БВ серьезно влияют на репродуктивное здоровье женщин. Существует несколько недостатков, связанных с терапией антибиотиками, включая суперинфекции патогенными микроорганизмами, чувствительность лактобактерий к клиндамицину и повышенную лекарственную устойчивость анаэробных бактерий [1, 2]. По этим причинам необходимо искать альтернативные терапевтические агенты.

**Цель исследования:** определить эффективность использования лактоферрина в лечении и профилактике рецидивирующего бактериального вагиноза.

**Материал и методы исследования.** В исследование включены 60 женщин с БВ (основная группа – 1-группа (n=38) с выраженным анаэробным дисбиозом и 2-группа (n=32) с выраженным смешанным дисбиозом). Группу контроля составили 26 практически здоровых женщин с нормоценозом влагалища. Проведен анализ клинико-anamnestических данных, результатов микроскопического исследования влагалищных мазков по Граму, микробиологических характеристик влагалищного мазка методом ПЦР с использованием тест-системы Фемофлор-16, содержания цитокинов IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  и IL-10 и белков острой фазы воспаления С-реактивного белка (СРБ), прокальцитонина (ПКТ), С3 компонента комплемента (СС3) и лактоферрина (ЛФ) в отделяемом влагалища. Полученные нами при исследовании данные подверглись статистической обработке на персональном компьютере Pentium-IV с помощью программного пакета Microsoft Office Excel-2003, включая использование встроенных функций статистической обработки. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Группы исследования не отличались по возрасту, паритету, соматическим заболеваниям. pH влагалищных выделений составил  $6,2 \pm 0,03$  в основной группе,  $4,1 \pm 0,07$  в группе контроля ( $p < 0,001$ ).

Исследование лабораторных критериев БВ показало присутствие признаков дисбиоза у женщин основной группы в отличие от контрольной. При микроскопии влагалищных мазков выявлено угнетение лейкоцитарной реакции, большое число эпителиальных клеток, присутствие «ключевых клеток», массивное число полиморфной микрофлоры. При исследовании микробиоты влагалища с применением Фемофлор-16 в 63,3% случаях выявлен выраженный анаэробный дисбиоз и в 36,7% – выраженный аэробно-анаэробный дисбиоз. В отличие от доминантного содержания лактобактерий в контрольной группе, в основной группе выявлено их сниженное количество –  $3,92 \pm 0,22$  lg ГЭ/мл. Наиболее часто выявляемой группой микроорганизмов была Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas ( $p < 0,001$ ). Частота встречаемости Atopobium vaginae, облигатно-анаэробных микроорганизмов Sneathia/Leptotrichia/Fusobacterium, Megasphaera/Veillonella/Dialister, Lachnobacterium/Clostridium была статистически значимо выше относительно контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Выявлено статистически значимое повышение концентрации всех изученных иммунобиологических показателей во влагалищном отделяемом ( $p < 0,001$ ).

Была применена двухэтапная терапия БВ: местно метронидазол при анаэробном дисбиозе и хлоргексидин при смешанном дисбиозе, на втором этапе лечения – пробиотики или препарат аскорбиновой кислоты.

Через 3 месяца после лечения в единичных случаях во всех группах появились жалобы и симптомы, характерные для БВ. При оценке характера нарушений микрофлоры влагалища получены результаты, указывающие на выраженный анаэробный (2 (5,3%) – в 1-группе) и аэробно-анаэробный (6 (18,7%) – во 2-группе), что совпадало с рецидивами БВ.

В случаях рецидива БВ была применена противорецидивная терапия. Противорецидивная терапия также применялась и в случаях с умеренным дисбиозом, при

наличии жалоб на обильные выделения из половых путей, поскольку данный вид дисбиоза создает предпосылки для более глубоких нарушений микробиоты влагалища с переходом в БВ. В 1-группе были использованы пробиотики вагинально 10 дней (12 женщин – 1-группа с ПТ), во 2-группе – наряду с вагинальным введением пробиотиков лактоферрин перорально в течение месяца (14 женщин – 2-группа с ПТ). Остальные 26 женщин в 1-группе и 18 женщин во 2-группе составили группу наблюдения (1- и 2-группы без ПТ соответственно).

Отдаленная эффективность лечения была оценена через 3 месяца после проведенной противорецидивной терапии. В группах женщин, применявших противорецидивную терапию микробиота влагалища во всех случаях соответствовала абсолютному и условному нормоценозу. В группах женщин, не получавших противорецидивную терапию выявлены случаи выраженного и умеренного дисбиозов.

Сравнительный анализ состава микрофлоры влагалища показал отличия по содержанию некоторых групп микроорганизмов в сравниваемых группах. Так, при использовании лактоферрина содержание облигатных анаэробов, аэробных ( $p=0,027$ ) и комменсальных ( $p<0,05$ ) микроорганизмов было значительно ниже относительно группы женщин, применявших только пробиотики.

Концентрация иммунобиологических показателей во всех случаях в группах женщин, получавших противорецидивную терапию, соответствовала показателям контрольной группы. В группах женщин, не получавших противорецидивные меры выявлены разносторонние колебания уровня цитокинов. Содержание белков острой фазы воспаления в 1-группе без ПТ достоверных отличий от контроля не имело. Во 2-группе без ПТ выявлено повышение уровня СРБ и ПКТ, и низкий уровень ССЗ и ЛФ ( $p<0,05$ ).

Проведенный нами вариант лечения можно обосновывать и тем, что пероральное введение про/пребиотиков, дает дополнительную пользу в виде профилактики рецидивирующих инфекций половых путей, поскольку бактерии и грибы, колонизирующие толстую кишку, представляют собой основной резервуар урогенитальных инфекций. ЛФ может также активировать различные кишечные клетки (как иммунокомпетентные, так и некомпетентные) для производства иммунологических медиаторов, таких как цитокины, хемокины и нейротрансмиттеры, которые распределяются по всем органам и демонстрируют системные эффекты перорально вводимого ЛФ [5]. Активированные лимфоциты переселяются на слизистые оболочки других органов, повышая их иммунитет (интегральная слизистая резистентность) [3]. Таким образом, пероральное введение лактоферрина оказывая системную эффективность может улучшить и микросреду влагалища.

**Заключение.** Благодаря позитивному влиянию на состав микрофлоры влагалища, а также усилению местной неспецифической защиты лактоферрин имеет долгосрочное преимущество в предотвращении рецидива бактериального вагиноза.

#### **Литература.**

1. Савичева А.М., Тапильская Н.И., Крысанова А.А. и др. Отдаленные результаты двухэтапного лечения бактериального вагиноза с применением антисептиков и пробиотиков. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* 2021;9(4):19–28. DOI:10.33029/2303-9698-2021-9-4-19-28.

2. Саидова Ф.И. Инсулинорезистентность и липидный обмен. *Материалы XXVI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье».* 2023;119-120.

3. Kruzel M.L., Olszewska P., Pazdrak B. et al. New insights into the systemic effects of oral lactoferrin: transcriptome profiling. *Biochemistry and Cell Biology.* 2021;99:47–53. DOI: 10.1139/bcb-2020-0069.

4. Rakhmatullaeva M.M. Clinical and epidemiological features of bacterial vaginosis. *The American Journal of Medical Sciences and Pharmaceutical Research.* 2020;2(08):140–145. DOI:10.37547/TAJMSPR/Volume02Issue08-21

5. Wang B., Timilsena Y.P., Blanch E., Adhikari B. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59:580–596. DOI: 10.1080/10408398.2017.1381583.

## ДОЗА – ЭФФЕКТ (ФАРМАКОКИНЕТИКА-ФАРМАКОДИНАМИКА) ПРЯМЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ

М.А. Соловьев<sup>1\*</sup>, Н.И. Гуляев<sup>2</sup>, Л.Ю. Котловская<sup>1</sup>, П.О. Федорова<sup>1</sup>, В.В. Удут<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, г. Томск, Россия,

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр высоких медицинских технологий – Центральный военный клинический госпиталь имени А.А. Вишневского Минобороны России, г. Красногорск, Россия

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск, Россия

**Ключевые слова:** Антикоагулянты, Дабигатран, Ривароксабан, Апиксабан, гемостаз.

**Введение.** Одним из важнейших аспектов контроля эффективности действия антикоагулянтов является мониторинг их фармакодинамики. При этом аксиоматична связь эффективности этой терапии от биодоступности и процессов метаболизма каждого препарата - фармакокинетики [1]. Особый интерес это представляет для прямых оральных антикоагулянтов (ПОАК) - Дабигатрана этексилата, Ривароксабана и Апиксабана, применение которых якобы не нуждается в контроле эффективности [4, 5.]. Хорошо известна и сравнима фармакокинетика этих препаратов и определены пути их выведения.

Исходя именно из этих данных сформированы схемы назначения препаратов с дискретностью от одного (для Ривароксабана), до двух раз в сутки (для Апиксабана и Дабигатрана этексилата) [2, 6]. Однако кроме декларации об отсутствии необходимости контроля за состоянием системы гемостаза при применении ПОАК, данные их фармакодинамики достаточно противоречивы [3].

**Цель.** Мониторинг фармакодинамики ПОАК на этапах оценки их фармакокинетики у здоровых лиц в условиях однократного приема средней терапевтической дозы препарата.

**Материалы и методы.** В работе обследовано 35 здоровых добровольцев в возрасте от 35 до 45 лет, разделенные на группы в соответствии с принимаемым препаратом (1 группа – 11 человек, принимавших Дабигатран этексилат, 2 группа – 12 человек, принимавших Ривароксабан, 3 группа – 12 человека, принимавших Апиксабан), из них мужчины – 52, женщины – 28. Все участники исследований подписали форму информированного согласия на обследование, в соответствии с Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации. Функциональное состояние системы гемостаза оценивали методом низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ) на аппаратно-программном комплексе АРП-01М (Меднорд, Россия)

**Результаты.** По результатам мониторинга фармакокинетики максимальные концентрации в плазме здоровых добровольцев быстро достигались, практически не отличаясь по времени для всех изучаемых ПОАК. Таким образом антикоагулянтный эффект возникал достаточно быстро, если сравнивать с антагонистами витамина К, при применении которых антикоагулянтное действие наступает в течение нескольких дней из-за особенностей фармакодинамики. Период полувыведения аналогично максимальным концентрациям был сопоставим между Дабигатраном этексилатом, Ривароксабаном и Апиксабаном, варьируя от 7 до 14 часов. При проведении параллельных исследований гемостатического потенциала (ГП) у исследуемых условно здоровых добровольцев в разрезе персонифицированной медицины были выявлены различия на начальном этапе коагуляции, фазе ретракции и лизиса сгустка.

По данным НПТЭГ в группе Дабигатрана этексилата (группа 1), определяется на 2-х и 4-х часах при концентрации препарата  $\approx 150$  и  $80$  нг/мл соответственно, характеризуясь: хронометрической гипокоагуляцией (максимальное повышение  $t_3$  и  $t_5$ ), снижением агрегационной активности (повышение ИКК (интенсивность контактной коагуляции), повышением суспензионной стабильности крови (повышение  $t_1$ ). При этом интенсивность протеолитического этапа была максимально снижена на 4-х часах (максимальное уменьшение КТА (константа тромбиновой активности) и ИКД (интенсивность коагуляционного драйва). Через 8 часов, при концентрации препарата в плазме крови  $\approx 47$  нг/мл, как и через 16 часов (концентрация  $\approx 10$  нг/мл) характеристики анализируемых параметров НПТЭГ были идентичны исходным данным с сохраняющимися минорными различиями в показателях КТА и ИКД. На всех периодах наблюдения определялось снижение амплитудных параметров, характеризуя структурную гипокоагуляцию (по амплитудным характеристикам графика НПТЭГ), что не только подтверждает эффективность действия исследуемого антикоагулянта при его «рабочих» концентрациях в плазме крови, но и сохраняющийся эффект при остаточных концентрациях по данным фармакокинетики препарата.

При оценке фармакокинетических параметров данного антикоагулянта у здоровых добровольцев  $C_{\max}$   $125$  [110;139] нг/мл ( $p < 0,05$ ) достигается через 2 часа (рис. 19). После достижения пикового значения концентрации препарата происходит незначительное снижение до  $122$  [108;137] нг/мл на трехчасовой точке, после чего, на четырехчасовой точке, концентрация уменьшается до  $105$  [95;120] нг/мл, далее, на 8-ми часах, до  $70$  [60;83] нг/мл и так далее на 22 и 24 часу, где концентрация препарата определяется в пределах  $10$  [9;11] нг/мл. Здесь стоит отметить тот факт, что характерна значительная фармакокинетическая вариабельность в отношении их плазменных концентраций (изменение  $C_{ss}$  в среднем до 40 %). Так как Ривароксабан на 92–95 % связывается с белками плазмы (объем распределения — 50 литров), период полувыведения для данной группы в среднем составляет 8,5 часов.

Фармакодинамические эффекты: у исследуемых добровольцев наблюдалось дозозависимое ингибирование фактора Ха. Ривароксабан оказывает дозозависимое влияние на протромбиновое время и хорошо коррелирует с концентрациями в плазме ( $r = 0,98$ )

Пик антикоагулянтного действия Ривароксабана наблюдался в примерно через 3-4 часа, что подтверждается данными фармакокинетических исследований.

По результатам проведенных исследований методом НПТЭГ группы Ривароксабана, через 4 ч после приема препарата регистрируется выраженный сдвиг показателей вправо и вниз. Значимая хронометрическая гипокоагуляция отмечается на всех этапах фибринолиза. Фаза контактной активации увеличивается от 2 до 5 мин, что сопровождается повышением суспензионной активности крови и усилением агрегационной активности ФЭК в пределах референтных величин здоровых лиц. Не менее выраженные изменения характеристик НПТЭГ выявляются на этапах амплификации и пропации (снижение КТА от  $36$  [32;40] до  $19$  о.е.; увеличение времени наступления ТЖ (точка желирования) от  $7,7$  [5,95;9,45] до  $18,5$  [17,5;19,5] мин, которая возвращается к исходным показателям; сокращение ИКД от  $36$  до  $18$  о.е.).

Менее выраженные изменения отмечаются на этапах латеральной сборки фибрина и его стабилизации (ИПС снижается от  $18$  до  $12$  о.е.;  $t_5$  возрастает от  $30$  до  $40$  мин). При этом на этапе формирования ПСФ регистрируется структурная гипокоагуляция (МА (максимальная амплитуда) снижается от  $513$  до  $485$  о.е.), правда менее выраженная, чем на предшествующих этапах фибринолиза.

Довольно широкий интервал гипокоагуляционного эффекта отмечается при оценке продолжительности действия препарата. Гипокоагуляционный (хронометрической и структурной) тренд наблюдался во всех случаях после приема Ривароксабана. В некоторых случаях продолжительность гипокоагуляции значима в течение 24 ч после приема препарата (пик на 4-й час), при этом влияние Ривароксабана отмечается на всех этапах

фибриногенеза. В других примерах структурная и хронометрическая гипокоагуляция на всех этапах фибриногенеза регистрируется в течение 12 ч. К 24-му часу регистрируется слабо выраженная хронометрическая гипокоагуляция только на заключительном этапе фибриногенеза (формирование ПСФ (поперечно-сшитого фибрина). Необходимо отметить, что подобная реакция ГП наблюдалась нами у 1 из 5 обследуемых здоровых добровольцев.

По фармакокинетической кривой мы наблюдаем, что после однократного приема Апиксабана в дозировке 5 мг у здоровых добровольцев имеет место дозозависимое продление времени свертывания во всем диапазоне доз. Данный препарат быстро всасывается, характеризуясь быстрым приростом концентрации, уже через час достигая 97 [86;105] нг/мл, 110 [99;121] нг/мл через 2 часа, на 3-х часовой точке мониторинга 123[110;135] нг/мл, а  $C_{max}$  определяется через 4 часа после приема препарата (130 [117;144] нг/мл). Далее идет снижение плазменной концентрации Апиксабана, которая через 10 часов составляет 97 [88;107] нг/мл. Период полувыведения ( $T_{1/2}$ ) через 12 ч, концентрация препарата определяется в пределах 84 [75;93] нг/мл. На 24-х часах мониторинга концентрация препарата в плазме крови достигает 19 [17;22] нг/мл.

Опираясь на полученные результаты, с уверенностью можно констатировать, что доза Апиксабана в 5 мг обеспечивает необходимый антикоагулянтный эффект в течение 12 часов, а тезис о ненужности контроля ГП при проведении терапии Апиксабаном ошибочен, ввиду того, что возможно снижение эффекта уже после 6 часов. Об этом свидетельствуют такие показатели как КТА (исходно 13,3 [9;13,3] о.е., через 12 часов 12,5 [11,3;14,3] о.е.) и ИКД (исходно 36,4 [29,1;36,2] о.е. и через 12 часов 35,6 [25,7;32,5] о.е., а также МА, который практически равен исходным значениям (исходно 840 [650;850] о.е. и МА 12 часов 825 [675;850] о.е.).

Проведение исследования НПТЭГ у здоровых добровольцев демонстрирует гипоагуляционный эффект Апиксабана индивидуально на каждом временном промежутке, давая максимально точную картину всех фаз свертывания крови. Это в свою очередь может помочь при выборе режима персонафицированной антикоагулянтной терапии с использованием данного препарата.

Таким образом, использование глобального теста НПТЭГ при оценке ГП цельной крови в случаях назначения существующих ПОАК позволяет выявить эффективность проводимой терапии и контроль действия данных препаратов на всех этапах фибриногенеза: инициации, амплификации, пропации и латеральной сборки.

**Заключение.** Целью исследования явилось проведение параллелей между фармакокинетическими и фармакодинамическими данными при назначении официально зарегистрированных ПОАК (Дабигатран, Ривароксабан и Апиксабан) в рекомендуемых дозировках. Нами обследованы 35 условно здоровых добровольцев в возрасте от 35 до 45 лет из сибирской популяции. Использование глобального теста низкочастотной пьезотромбоэластографии при оценке гемостатического потенциала цельной крови при назначении НПОАК позволяет оценить не только в целом систему гемостаза на всех этапах образования поперечно-сшитого фибрина: инициации, амплификации, пропации и латеральной сборки, но и дает возможность персонафицировать антикоагулянтную терапию и принципиально определять дозы и дискретность назначения лекарственных средств.

#### **Литература.**

1. Вавилова Т. В. Антикоагулянтная активность прямых ингибиторов фактора Ха свертывания крови как инструмент обеспечения эффективности и безопасности приема препаратов. *Кардиология*. 2019;59(11S):28-35.
2. Гиляревский С. Р., Вереина Н. К., Голшмид М. В. Современные возможности использования лабораторных методов контроля эффективности и безопасности применения прямых пероральных антикоагулянтов. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2023;19(3):290-297.
3. Изможерова Н. В. Клиническая фармакология варфарина: электронное учебное пособие. – 2020.

4. Кочетков А. И., Остроумова О. Д. Оптимизация фармакотерапии прямыми оральными антикоагулянтами: необходимость правильного выбора режима дозирования. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2019;15(4):593-603.

5. Попова Л. В. и др. Рекомендации по применению прямых пероральных антикоагулянтов у пациентов с фибрилляцией предсердий (по материалам Европейской Ассоциации по изучению ритма сердца, 2018 г.). *Кардиология*. 2019;59(5):68-79.

6. Соловьев М.А., Момот Д.А., Котловская Л.Ю., Тютрин И.И., Удут В.В. Возможности мониторинга фармакодинамики дабигатрана этексилата *Якутский медицинский журнал*. 2021;4: 47-52.

## СТРЕССПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА

Е.В. Ферубко

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва, Россия  
e-mail: eferubko@yandex.ru

**Ключевые слова:** растительный экстракт, стресспротективные свойства, модель нейрогенной язвы.

**Введение.** Важнейшей задачей современной науки является разработка и внедрение новых эффективных лекарственных препаратов, предназначенных для профилактики и лечения социально значимых заболеваний органов пищеварения, в т.ч. язвенной болезни желудка. Среди причин развития язвенной болезни выделяют наследственную предрасположенность, нейropsychические факторы, алиментарные факторы, вредные привычки, неконтролируемый прием нестероидных противовоспалительных препаратов, инфекцию *Helicobacter pylori*. Учитывая поливалентность этиологии язвенной болезни желудка, возможным подходом к фармакотерапии этого заболевания может быть использование многокомпонентных растительных композиций [].

**Целью** нашего исследования является изучение стресспротективных свойств растительного экстракта в условиях модели нейрогенной язвы у лабораторных животных.

**Материалы и методы.** Объект исследования: многокомпонентный экстракт сухой, полученный из листьев подорожника большого (*Plantago major* L.) - 187,5 г, травы сушеницы топяной (*Gnaphalium uliginosum* L.) - 187,5 г, корневищ и корней девясила высокого (*Inula helenium* L.) - 187,5 г, цветков ромашки аптечной (*Matricaria chamomilla* L.) - 125 г, корней солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.) - 125 г, травы горца птичьего (*Polygonum aviculare* L.) - 62,5 г, листьев крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) - 62,5 г, плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) - 62,5 г. Экстракт получен путем экстрагирования отдельных компонентов 70% спиртом этиловым с последующим объединением полученных извлечений. В полученном экстракте содержатся каротиноиды, флавоноиды, дубильные вещества, полисахариды, тритерпеновые сапонины, стероиды, белки, сесквитерпеновые лактоны, органические кислоты, витамины, макро- и микроэлементы, эфирные масла и другие природные соединения. Стандартизация его осуществлена по сумме флавоноидов в пересчете на рутин; содержание суммы флавоноидов регламентируется не менее 1,6. Изучение острой токсичности разработанного экстракта проводили по методу Кербера. Стресспротективные свойства экстракта изучали при 7-дневном экстракте в установленной нами ранее экспериментально-терапевтической дозе 150 мг/кг на фоне экспериментальной модели нейрогенной язвы у крыс. Для этого определяли показатели стресс-реакции: инволюцию селезенки и тимуса, гипертрофию надпочечников, количество повреждений в слизистой желудка с подсчетом индекса Паулса. В сыворотке крови определяли активность антиоксидантной системы и интенсивность процессов свободнорадикального окисления по активности каталазы и содержанию малонового диальдегида.

**Результаты.** Полученные данные свидетельствуют о наличии у многокомпонентного растительного экстракта при курсовом его введении крысам в экспериментально-терапевтической дозе 150 мг/кг на фоне нейрогенной язвы у крыс достоверно выраженного стресспротективного действия, за счет препятствия развития признаков триады Селье. Также изучаемый экстракт оказывает достоверно выраженное антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие.

**Заключение.** Разработанный экстракт является перспективным объектом для создания нового эффективного лекарственного препарата с целью применения в комплексной терапии у больных язвенной болезнью желудка.

*Данная работа проведена согласно плану научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме: «Направленный скрининг, оценка фармакологической активности и безопасности биологически активных веществ и фармацевтических композиций на их основе» (FGUU-2022-0010).*

#### **Литература.**

1. Николаев, С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний. Улан-Удэ: Изд-во БГУ; 2012. 286 с.

2. Ферубко Е.В., Пупыкина К.А., Николаев С.М. Патент 2711048 Российской Федерации. Противоязвенный сбор лекарственных растений. № 2019100964/19 заявл. 10.01.2019 опубл. 14.01.2020. – Бюл. № 2.

## ВЛИЯНИЕ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ КАЛЛУСНЫХ КЛЕТОК МОРКОВИ, СОДЕРЖАЩИХ РЕКОМБИНАНТНУЮ ЩЕЛОЧНУЮ ФОСФАТАЗУ ЧЕЛОВЕКА, НА МИКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА МЫШЕЙ С ДИЗБИОЗОМ, ИНДУЦИРОВАННЫМ АМПИЦИЛЛИНОМ

Ю.В. Чекусова<sup>1,2\*</sup>, Е.Н. Мотова<sup>1</sup>, В.С. Мотов<sup>1</sup>, В.В. Быков<sup>1,2</sup>, Н.А. Шмыкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ООО «Ифар», г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия

e-mail: ulia034672@gmail.com

**Ключевые слова:** микрофлора кишечника, дисбиоз, антибиотик, щелочная фосфатаза, морковь, кишечная палочка, мыши.

**Введение.** Кишечник — наиболее важный биотоп в организме человека, который включает в себя более 700 родов бактерий и 2500 различных видов микроорганизмов [1]. Кишечные бактерии оказывают влияние на барьерные функции кишечника, синтезируют жизненно необходимые витамины и витаминоподобные вещества [2]. Кишечная щелочная фосфатаза, продуцируемая энтероцитами тонкого кишечника, дефосфорилирует липополисахариды и уменьшает их иммуногенность, а также этот фермент способствует нормальному функционированию кишечной микробиоты, дефосфорилирует нуклеозидфосфаты и ингибиторы роста кишечных бактерий [3].

В качестве источника щелочной фосфатазы для коррекции дисбиоза разрабатывается продукт, представляющий собой генно-модифицированные каллусные клетки моркови, содержащие ген кишечной щелочной фосфатазы человека. Представляет интерес изучить его восстановительные свойства по отношению к микробиоте на примере кишечной палочки организма мыши.

**Цель.** Изучить динамику восстановления кишечной палочки у мышей при длительном потреблении генно-модифицированных каллусных клеток моркови, содержащих рекомбинантную щелочную фосфатазу человека (кодовое наименование — ЩФ-М) в сравнении с эффектами корнеплода моркови обыкновенной (МРК-О) и клеток моркови без щелочной фосфатазы (МРК) при ампициллиновом дисбиозе.

**Материалы и методы.** Эксперимент проводили на 25 мышах самках линии CD-1. Мышей поделили на 5 групп по 5 самок в каждой. У животных из групп №№ 2–5



индуцировали дисбиоз введением в желудок ампициллина в дозе 500,0 мг/кг 1 раз в день на протяжении 7 дней в объеме 1,0 мл [4]. В течение периода индукции дисбиоза и 10 дней после индукции животные группы № 2 имели свободный доступ к обычному полнорационному гранулированному корму, группа № 3 — к смеси корма с МРК-О в соотношении (1,5:0,5) по массе, группа № 4 — к смеси корма с МРК в соотношении (1:1) по массе, группа № 5 — к смеси корма с ЩФ-М в соотношении (1:1) по массе. Группа № 1 была интактной (без дисбиоза) и имела доступ к обычному полнорационному гранулированному корму. Выбранный режим дозирования ЩФ-М позволил животным получать эффективную дозу щелочной фосфатазы около 100 ЕД [4]. Для оценки способности ЩФ-М восстанавливать нормальную микрофлору кишечника мышей при дисбиозе определяли количество кишечной палочки в фекалиях мышей на протяжении всего эксперимента: до начала эксперимента и ежедневно с 1-го по 17-й день потребления испытуемых веществ. По окончании эксперимента животных эвтаназировали методом цервикальной дислокации. Анализ данных проводили с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft, США). Были получены усредненные логарифмические данные. Различия между группами выявляли критерием Манна-Уитни и считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** До индукции дисбиоза и потребления испытуемых веществ у животных всех экспериментальных групп в фекалиях количество кишечной палочки было сопоставимо ( $p > 0,05$ ). У интактных мышей этот показатель оставался на одном уровне на протяжении всего эксперимента ( $p > 0,05$ ). У контрольных мышей с 4-го по 9-й день эксперимента бактерии обнаружены не были, что указывает на формирование у животных тяжелого дисбиоза. У мышей, потреблявших корм + МРК-О с 4-го по 6-й день эксперимента бактерии также не были обнаружены. С 6-го дня количество кишечной палочки начинало восстанавливаться, но достигло уровня интактных животных лишь к 14-му дню эксперимента ( $p > 0,05$ ), как и у контрольных животных. У мышей, потреблявших корм + МРК, с 4-го по 6-й день эксперимента бактерии не обнаруживались. С 6-го дня количество кишечной палочки начинало восстанавливаться, но достигло уровня интактных животных лишь к 14-му дню эксперимента ( $p > 0,05$ ), как и у контрольных животных. У мышей, потреблявших корм + ЩФ-М, на 4-й день эксперимента бактерии не были обнаружены, а уже на 5-й день количество кишечной палочки начало восстанавливаться, и к 12-му дню эксперимента достигло уровня интактных животных ( $p > 0,05$ ).

Динамика количества кишечной палочки в течении эксперимента представлена на рисунке 1.

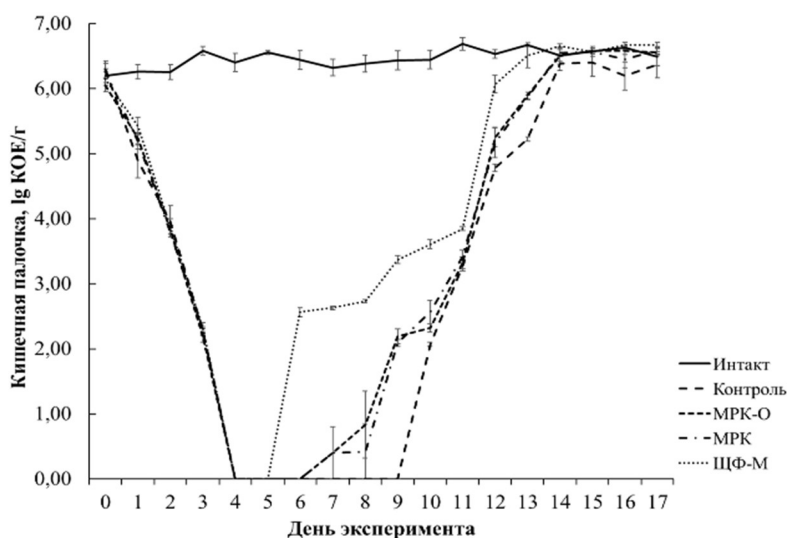


Рисунок 1. Динамика количества кишечной палочки в фекалиях мышей в течение эксперимента

**Заключение.** МРК и МРК-О обладают схожими пребиотическими свойствами, но именно продукт ЩФ-М, применяемый во время антибиотикотерапии, обеспечивает более быстрое восстановление количества кишечной палочки в фекалиях мышей с ампициллиновым дисбиозом, как во время приема антибиотика, так и после. ЩФ-М может использоваться как альтернатива существующим эубиотикам, действие которых направленно на определенный род бактерий, так как, являясь природным ферментом человека, может обладать универсальными пребиотическими свойствами.

#### **Литература.**

1. Юдина Ю. В., Корсунский А. А., Аминова А. И., Абдуллаева Г. Д., Продеус А. П. Микробиота кишечника как отдельная система организма. *Доказательная гастроэнтерология*. 2019;8(4-5):36-43. DOI: 10.17116/dokgastro2019804-05136.
2. Fischbach M. A., Segre J. A. Signaling in Host-Associated Microbial Communities. *Cell*. 2016;164(6):1288-1300. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.02.037>
3. Дудакова Ю. С., Бабушкина И. В., Понукалин А. Н., Бородулин В. Б., Клименко И. А., Сакала М. М., Горошинская И. А. Биологическое действие высокодисперсных порошков металлов на ферменты сыворотки крови мышей. *Известия ВУЗов. Северо-Кавказский регион*. 2010;№ 2(156):84-88.
4. Geddes K., Philpotts D. J. New Role for Intestinal Alkaline Phosphatase in Gut Barrier Maintenance. *Gastroenterology*. 2008;135:8-12 DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.06.006>

## **Регенеративная медицина и клеточные технологии**

### **MIR-191-5P И MIR-192-5P В ПЕЧЕНИ ПАЦИЕНТОВ: ПРОТЕКТОРЫ ИЛИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ В НАЖБП?**

М.М. Бограя<sup>1\*</sup>, А.Н. Минченко<sup>2</sup>, М.А. Вульф<sup>1</sup>, Н.Д. Газатова<sup>1</sup>, Л.С. Литвинова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, Россия

<sup>2</sup>Высшая школа живых систем, Балтийский федеральный университет им. И. Канта  
e-mail: mbograya@mail.ru

**Ключевые слова:** микроРНК, НАЖБП, ожирение, СД2Т.

**Введение:** По мере роста эпидемии ожирения и сахарного диабета 2 типа (СД2Т) во всем мире увеличивается распространенность неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) [1]. НАЖБП включает две стадии: стеатоз и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) [2]. Несмотря на широкую распространённость этой нозологии, мы только начинаем понимать молекулярные механизмы и вклад генетических факторов в развитие НАЖБП. Наиболее изученными эпигенетическими маркерами при НАЖБП являются микроРНК [3]. МикроРНК представляют собой некодирующие РНК длиной 18–25 нуклеотидов и играют важную роль в регуляции широкого спектра процессов. Важными микроРНК в НАЖБП признаны miR-191-5p и, особенно, miR-192-5p. miR-192 весьма хорошо исследована в рамках НАЖБП и относится к разряду «непротиворечивых» микроРНК: неоднократно показано, что сывороточный уровень miR-192 повышен при НАЖБП человека [4–6] и, помимо этого, положительно коррелирует с тяжестью заболевания [4–7]. Однако в печени ее уровень изучен мало, но имеются данные, что она понижена при НАЖБП [6]. miR-191-5p понижена в сыворотке при НАЖБП [8], а в печени человека ее уровень не изучался.

**Цель:** Данная работа направлена на изучение уровней miR-191-5p и miR-192-5p у пациентов с ожирением, СД2Т и НАЖБП и поиск их взаимосвязей со степенью тяжести заболевания и биохимическими показателями крови.

**Материалы и методы:** В исследование были включены 59 пациентов в возрасте от 24 до 84 лет: 13 пациентов контрольной группы с индексом массы тела (ИМТ)  $< 25 \text{ кг/м}^2$ , 12 пациентов с предожирением ( $25\text{--}29,9 \text{ кг/м}^2$ ), 20 с ожирением ( $>30 \text{ кг/м}^2$ ) без СД2Т и 14 с СД2Т. Диагностирование и набор пациентов проводился в Областной клинической больнице г. Калининграда. Перед операцией пациенты проходили стандартную коррекцию диеты и прекращали прием лекарственных препаратов, влияющих на углеводный и липидный обмены за 36 часов до операции. Образцы крови брали перед операцией утром натощак, печени – во время операции. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА (2000 г.) и одобрено локальным этическим комитетом, протокол №1 БФУ им. И. Канта от 21.06.2022.

Анализ биохимических показателей крови проводили на биохимическом анализаторе Furuno SA-180 (*Furuno Electric Company, Япония*) с использованием тест-систем DiaSys (*DiaSys Diagnostic Systems, Хольцхайм, Германия*). НАЖБП диагностировался у пациентов по результатам гистологического анализа срезов биопсии печени. Диагноз стеатоз ставился при наличии стеатоза  $\geq 5\%$ . Диагноз НАСГ ставился при одновременном наличии у пациента стеатоза, баллонной дистрофии и лобулярного воспаления. Был проведен гистологический анализ 42 биопсий: группу контроля составили 21 пациент, НАЖБП на стадии стеатоза диагностирован у 12 пациентов, 9 пациентов имели НАСГ.

Образцы печени были законсервированы в RNeasy Lysis Buffer (*Ambion, США*) и хранились при  $-80^\circ\text{C}$ . МикроРНК были выделены из печени с помощью RNeasy Plus Mini Kit (*Qiagen, Германия*) согласно протоколу производителя и хранились при  $-80^\circ\text{C}$  до ОТ-ПЦР. Специфическая ОТ для микроРНК была проведена с использованием набора Applied Biosystems TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit (*Thermo Fisher Scientific, США*) согласно протоколу производителя. Количественная ПЦР проводилась с помощью Applied Biosystems TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (*Thermo Fisher Scientific, США*) с использованием специфических зондов TaqMan MicroRNA Assay (*Thermo Fisher Scientific, США*) в соответствии с протоколом производителя. Амплификацию осуществляли на термоциклере CFX96 (*Bio-Rad, США*). Экспрессия была нормализована на референсную микроРНК RNU6. Статистическая обработка данных проводилась в GraphPad Prism 9.3.1.

**Результаты.** Уровень экспрессии miR-191-5p в печени статистически значимо снижался у всех групп пациентов по сравнению с контрольной группой, как показано на Рис. 1а. Больше всего ее уровень был снижен у пациентов с предожирением (в 1.87 раза). Аналогичный паттерн экспрессии демонстрировала miR-192-5p – ее уровни были снижены у всех групп пациентов и были наименьшими при предожирении (снижены в 2.11 раза) (Рис. 1с). Однако уровень экспрессии обеих микроРНК значимо не изменялся при НАЖБП (Рис. 1b и d). Поиск корреляций показал (Рис. 1e), что значения, отражающие уровень экспрессии как miR-191-5p, так и miR-192-5p, взаимодействуют с рядом биохимических и гистологических показателей. Так, экспрессия miR-191-5p в печени значимо ( $p < 0.05$ ) положительно коррелировала с общим и непрямым билирубином ( $r = 0.31$  и  $0.35$ , соответственно) и отрицательно с ИМТ ( $r = -0.34$ ) и уровнем триглицеридов ( $r = -0,28$ ). Кроме того, miR-191-5p положительно коррелирует со степенью фиброза ( $r = 0.34$ ) и отрицательно со степенью стеатоза и баллонной дегенерацией ( $r = 0.34$  и  $0.32$ , соответственно), как отображено на Рис. 1f. miR-192-5p показала две статистически значимые отрицательные корреляции – с ИМТ и уровнем триглицеридов ( $r = 0.33$  и  $0.29$ , соответственно) (рис. 1e).

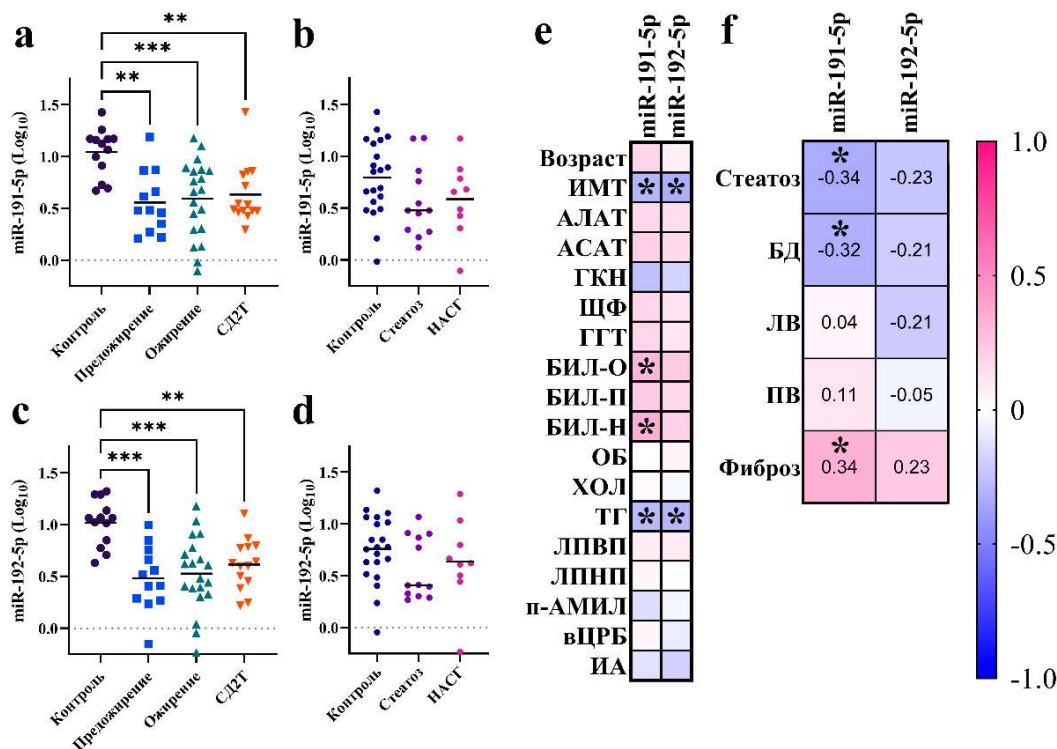


Рисунок 1. Экспрессия микроРНК в печени пациентов и корреляции с показателями: **(а)** miR-191-5p в четырех группах пациентов; **(б)** miR-191-5p в зависимости от стадии НАЖБП; **(с)** miR-192-5p в четырех группах пациентов; **(д)** miR-192-5p в зависимости от стадии НАЖБП; **(е)** корреляция экспрессии микроРНК с антропометрическими и биохимическими показателями пациентов,  $r$  рассчитана по Пирсону; **(ф)** корреляция экспрессии микроРНК с гистологическими показателями,  $r$  рассчитана по Спирману. АЛАТ, аланинаминотрансфераза; АСАТ, аспаратаминотрансфераза; БД, баллонная дегенерация; БИЛ-Н, непрямой билирубин; БИЛ-О, общий билирубин; БИЛ-П, прямой билирубин; ГГТ, гамма-глутамилтрансфераза; ГКН, глюкоза в крови натощак; ИМТ, индекс массы тела; ЛВ, лобулярное воспаление; ЛПВП, липопротеины высокой плотности; ЛПНП, липопротеины низкой плотности; ОБ, общий белок; п-АМИЛ, панкреатическая амилаза; ПВ, портальное воспаление; ТГ, триглицериды; ХОЛ, холестерин; ЩФ, щелочная фосфатаза

**Заключение:** уровни miR-191-5p и miR-192-5p были снижены (~ в 2 раза) в печени пациентов с ИМТ >25 кг/м<sup>2</sup> и отрицательно коррелировали с ИМТ, а также уровнем триглицеридов в крови. Однако при НАЖБП (как стеатозе, так и НАСГ) их экспрессия в печени значимо не изменялась. Обнаружены корреляции miR-191-5p с различными гистологическими показателями (положительная со степенью фиброза и отрицательные со степенью стеатоза и баллонной дегенерацией гепатоцитов). Таким образом, роль miR-191-5p и miR-192-5p в печени при НАЖБП пока не определены, несмотря на доказанный диагностический потенциал их сывороточных уровней. Полученные в данной работе результаты требуют дальнейшего изучения для развития проспектов регенеративной медицины социально-значимых патологий.

#### Литература.

1. Younossi, Z.M. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease – A Global Public Health Perspective. *J. Hepatol.* 2019; 70: 531–544. doi:10.1016/j.jhep.2018.10.033.
2. Chalasani, N.; Younossi, Z.; Lavine, J.E.; Diehl, A.M.; Brunt, E.M.; Cusi, K.; Charlton, M.; Sanyal, A.J.; American Gastroenterological Association; American Association for the Study of Liver Diseases; et al. The Diagnosis and Management of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology.* 2012; 142:1592–1609. doi:10.1053/j.gastro.2012.04.001.

3. Gjorgjieva, M.; Sobolewski, C.; Dolicka, D.; Correia de Sousa, M.; Foti, M. MiRNAs and NAFLD: From Pathophysiology to Therapy. *Gut*. 2019, 68: 2065–2079. doi:10.1136/gutjnl-2018-318146.
4. Liu, X.-L.; Pan, Q.; Zhang, R.-N.; Shen, F.; Yan, S.-Y.; Sun, C.; Xu, Z.-J.; Chen, Y.-W.; Fan, J.-G. Disease-Specific MiR-34a as Diagnostic Marker of Non-Alcoholic Steatohepatitis in a Chinese Population. *World J. Gastroenterol*. 2016; 22: 9844–9852.
5. Liu, X.-L.; Pan, Q.; Cao, H.-X.; Xin, F.-Z.; Zhao, Z.-H.; Yang, R.-X.; Zeng, J.; Zhou, H.; Fan, J.-G. Lipotoxic Hepatocyte-Derived Exosomal MicroRNA 192-5p Activates Macrophages Through Rictor/Akt/Forkhead Box Transcription Factor O1 Signaling in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology*. 2020; 72: 454–469. doi:10.1002/hep.31050.
6. Pirola, C.J.; Fernández Gianotti, T.; Castaño, G.O.; Mallardi, P.; San Martino, J.; Mora Gonzalez Lopez Ledesma, M.; Flichman, D.; Mirshahi, F.; Sanyal, A.J.; Sookoian, S. Circulating MicroRNA Signature in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: From Serum Non-Coding RNAs to Liver Histology and Disease Pathogenesis. *Gut*. 2015; 64: 800–812. doi:10.1136/gutjnl-2014-306996.
7. López-Riera, M.; Conde, I.; Quintas, G.; Pedrola, L.; Zaragoza, Á.; Perez-Rojas, J.; Salcedo, M.; Benlloch, S.; Castell, J.V.; Jover, R. Non-Invasive Prediction of NAFLD Severity: A Comprehensive, Independent Validation of Previously Postulated Serum MicroRNA Biomarkers. *Sci. Rep.* 2018; 8:10606. doi:10.1038/s41598-018-28854-4.
8. Zarrinpar, A.; Gupta, S.; Maurya, M.R.; Subramaniam, S.; Loomba, R. Serum MicroRNAs Explain Discordance of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Monozygotic and Dizygotic Twins: A Prospective Study. *Gut* 2016; 65: 1546–1554. doi:10.1136/gutjnl-2015-309456.

## GENERATING POLYMERIC PARTICLES VIA ANTI-SOLVENT ELECTROSPRAYING FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

A.M. Gordeeva<sup>1\*</sup>, G.B. Suchorukov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia.

<sup>2</sup>Queen Mary University of London, School of Engineering and Materials Science, London, Great Britain

e-mail: alexandra.Gordeeva@skoltech.ru

**Keywords:** polymeric microparticles, anti-solvent electrospraying, biocompatible polymers.

**Introduction.** In the field of biomedical research, the development of innovative materials and techniques for drug delivery, diagnostics, and tissue engineering has been pivotal in advancing medical therapies and healthcare solutions. Polymeric particles, with their unique properties, have become integral to these applications due to their biocompatibility, tunable characteristics, and versatility.<sup>1</sup> Among the many methods to produce polymer particles, electrospray is a promising method capable of solving various biomedical problems.<sup>2,3</sup>

**Objectives.** The objective of this study is to explore and optimize the essential parameters of the antisolvent electrospray process. By comprehending the influence of solution concentration, flow rate, and applied voltage, our aim is to enhance the efficiency and effectiveness of the electrospray technique. This optimization is particularly vital for applications demanding a substantial quantity of particles. Additionally, this method offers the advantage of generating larger particles compared to conventional electrospraying approaches, where particles are subjected to air-drying, a feature that is required for specific applications as well.

**Materials and methods.** In this study, we generated polymeric microparticles using the anti-solvent electrospraying technique. Specifically, we employed two different polymers: polylactic acid (PLA) and polyvinylidene fluoride (PVDF). These polymers possess biocompatible properties, expanding the potential applications for the particles they compose. To achieve this, we carefully selected distinct polymer/solvent/anti-solvent systems for each material. The primary criteria for these systems included:

1. Polymer solubility in the solvent used for electrospaying.
2. Polymer insolubility in the anti-solvent, located within the receiver vessel.
3. Miscibility between the solvent and the anti-solvent.

For generation of polylactic acid microparticles, we opted for the acetone/isopropanol system, while the DMSO/water system was chosen for PVDF.

The schematic representation of our experimental setup is depicted in Figure 1, illustrating the key components, which include a syringe pump containing the polymer solution, a high voltage generator connected to the needle, and a vessel with anti-solvent.

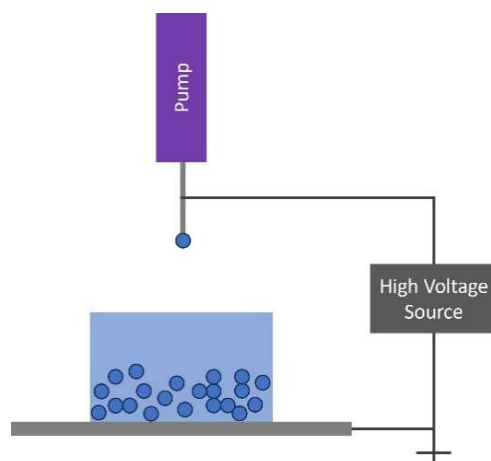


Figure 1. A simplified diagram of the anti-solvent electrospay setup

To assess the microparticles' morphology and size distribution, we conducted characterization using scanning electron microscopy (SEM).

**Results.** In the course of the work, microparticles were successfully obtained from PLA and PVDF (Figure 2).

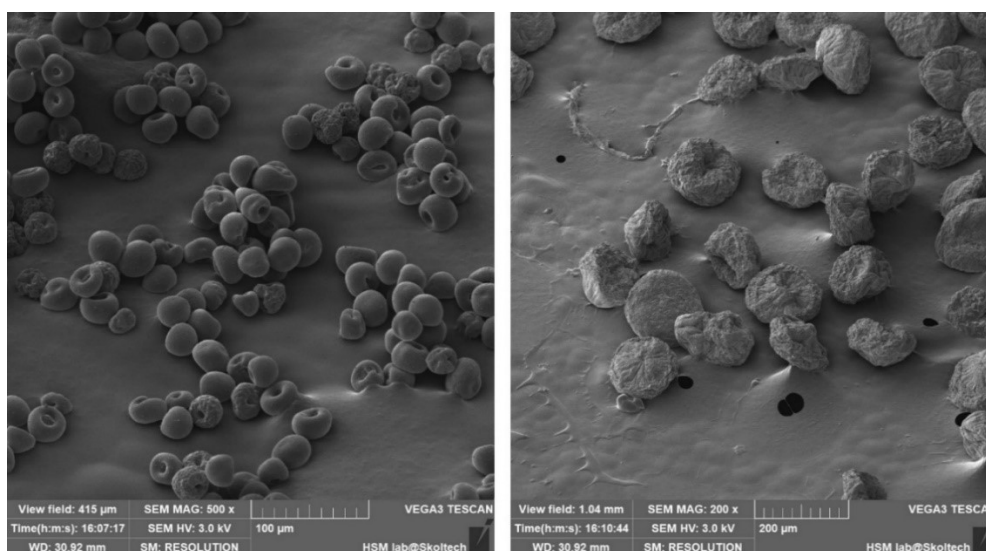


Figure 2. SEM images of PLA (left) and PVDF (right) microparticles

A set of parameters was optimized - polymer concentrations, solvent flow rates, surfactant additives, and applied voltage were tested. Thus, it is necessary to find the optimal viscosity of the polymer solution, at which the solution is sufficiently viscous that the resulting particles remain close to spherical, but not excessively high, at which the polymer dries quickly at the end of the needle. Also, a high concentration of the polymer contributes to the formation of the outer shell of the capsule already in the first moments after contact with the anti-solvent, which prevents particles from sticking together. Introducing a surfactant into the recipient solution serves to diminish the surface tension, thereby promoting the creation of particles with a nearly spherical

morphology. The flow rate and voltage settings were fine-tuned to optimize performance while upholding the desired particle shape and isolation.

**Conclusions.** In conclusion, our study demonstrates the practicality and viability of producing polymer particles using an anti-solvent electrospray process. This solution opens the door to a variety of applications in fields ranging from pharmaceuticals to materials science.

**References.**

1. Fenton, O. S., Olafson, K. N., Pillai, P. S., Mitchell, M. J. & Langer, R. Advances in Biomaterials for Drug Delivery. *Advanced Materials*. **30**, 1705328 (2018).
2. Steipel, R. T., Gallovic, M. D., Batty, C. J., Bachelder, E. M. & Ainslie, K. M. Electrospray for generation of drug delivery and vaccine particles applied in vitro and in vivo. *Materials Science and Engineering: C* **105**, 110070 (2019).
3. Wang, J., Jansen, J. A. & Yang, F. Electrospraying: Possibilities and Challenges of Engineering Carriers for Biomedical Applications—A Mini Review. *Front Chem* **7**, (2019).

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО CAR-КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА «АНТИ-HER2-CAR-T/ CAR-NK»

Н.А. Горячева

<sup>1</sup>Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Пушкино, Россия

<sup>2</sup>Пушинский филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», г. Пушкино, Россия

e-mail: natasha.goryacheva2017@yandex.ru

**Ключевые слова:** химерный рецептор антигена; CAR-T; CAR-NK; иммунология; исследования токсичности

**Введение.** Главным достижением современной терапии рака, является иммунотерапия. Повышению значимости иммунотерапии способствовала разработка клеточной терапии аутологичными опухолеспецифичными Т-лимфоцитами - CAR-клетками, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы (chimeric antigen receptor) [1]. Альтернативным вариантом может быть использование НК-клеток, которые, также играют ключевую роль в иммунном повреждении раковых клеток [2].

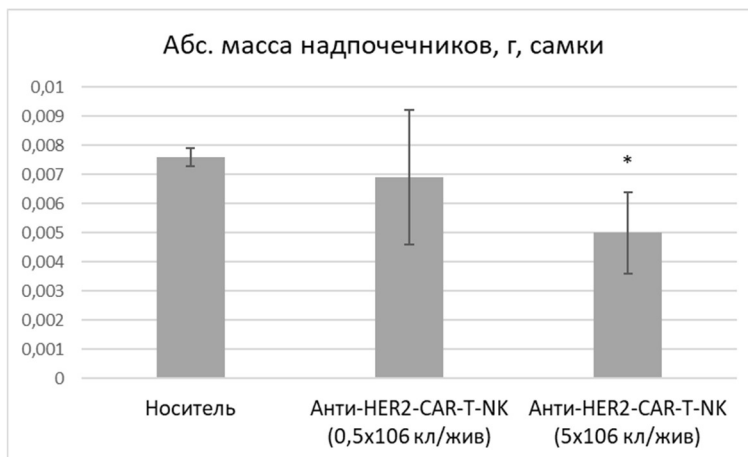
**Целью** данного исследования являлась оценка острой токсичности противоопухолевого препарата на основе генетически модифицированных Т/НК-клеток, экспрессирующих химерный Т-клеточный рецептор против антигена HER2, на иммунодефицитных мышцах линии BALB/c Nude.

**Материалы и методы.** Опытная и контрольная группы включали 5 самцов и 5 самок. Исследуемый препарат, а также носитель (растворитель-криоконсервант) животным вводили однократно внутривенно или внутривентриально, в объеме 0,2 мл/животное. Опытным животным исследуемый препарат вводили в двух дозах:  $0,5 \times 10^6$  клеток/животное, эквивалентной терапевтической дозе для человека, и  $5 \times 10^6$  клеток/животное, в 10 раз превышающей терапевтическую дозу. В ходе исследования у животных регистрировали вес тела, потребление корма и проявление клинических признаков токсичности исследуемого препарата. На 15-й день исследования животные были подвергнуты эвтаназии и некропсии с осмотром макроповреждений органов, их взвешиванием и фиксацией. С целью выявления токсического действия тестируемого биомедицинского клеточного продукта проводили гистологический анализ. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 7.1. Различия определяли при 5% уровне значимости ( $p < 0,05$ ).

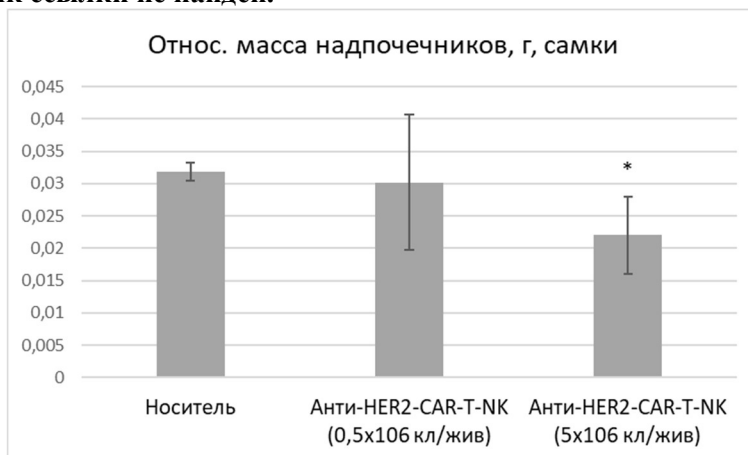
**Результаты.** В ходе исследования гибели животных, тяжёлого состояния, отклонения состояний здоровья, а также выраженных токсикологических клинических

признаков выявлено не было. Введение тестируемого препарата не вызвало отклонений в приросте массы тела животных при обоих способах введения. Статистически значимых межгрупповых различий показателей массы тела и ее прироста ни у самцов, ни у самок, выявлено не было. Тестируемый продукт не вызвал изменений в потреблении корма животными.

В ходе некропсии при внутривенном введении в группе самок, получавших тестируемый препарат в максимальной дозе, было зарегистрировано статистически значимое уменьшение абсолютной и относительной массы надпочечников по сравнению с контрольными значениями ( $p < 0,05$ ; рис. 1, 2). Однако, выявленные отклонения не имели строгой дозовой зависимости, поэтому не связаны с токсическим эффектом исследуемого препарата.



**Ошибка! Источник ссылки не найден.**



**Ошибка! Источник ссылки не найден.**

При макроскопическом обследовании нижнечелюстных лимфоузлов у единичных животных в группе большей дозы и в контрольной группе при двух курсах введения, отмечено увеличение нижнечелюстных лимфоузлов. Поскольку данное изменения имело единичный характер, его нельзя отнести к токсическому проявлению препарата. Гистологический анализ выявил незначительные отклонения. В надпочечниках была выявлена липогенная кортикальная дегенерация эндокриноцитов в виде кластеров эпителиоидных клеток, заполненных липогенным пигментом и пикнотическими ядрами и заметное полнокровие синусоидных капилляров в сетчатой зоне. В контрольных группах после внутривенного и внутрибрюшинного введения и в группе большей дозы тестируемого препарата после внутривенного введения отмечена слабовыраженная вакуолизация цитоплазмы эндокриноцитов в пучковой зоне. Однако, данные отклонения не связаны с токсическим проявлением тестируемого вещества. т.к. вероятно, при введении



T/NK-клеток произошло повреждение коры надпочечников, проявившееся в жировой дегенерации и последующим компенсаторным регенеративным процессом

**Заключение.** Исследуемое лекарственное средство на основе биомедицинского клеточного продукта, содержащего анти-HER2-CAR-T/CAR-NK-клетки, при его однократном внутривенном и внутрибрюшинном введении самцам и самкам иммунодефицитных мышей в предполагаемой терапевтической дозе на 1 кг веса пациента, а также дозировке, в 10 раз превышающей терапевтическую, показал себя в целом безопасным.

Проведенное доклиническое исследование продемонстрировало отсутствие значимых токсических эффектов у CAR-клеточного продукта для терапии злокачественных новообразований «анти-HER2-CAR-T/ CAR-NK».

#### **Литература.**

1. S. Tahmasebi, R. Elahi, E. Khosh, et al., Programmable and multi-targeted CARs: a new breakthrough in cancer CAR-T cell therapy. *Clin Transl Oncol.* 2021;22(9):1003-1019 DOI: 10.1007/s12094-020-02490-9

2. M.A. Geller and J.S. Miller, Use of allogeneic NK cells for cancer immunotherapy. *Immunotherapy.* 2011;3(12):1445-59 DOI: 10.2217/imt.11.131

### КРЕМНИЙ-УГЛЕРОДНЫЕ ПОКРЫТИЯ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ

А.С. Гренадёр<sup>1\*</sup>, А.А. Соловьёв<sup>1</sup>, В.В. Малащенко<sup>1,2</sup>, Л.С. Литвинова<sup>2</sup>,  
О.Г. Хазиахматова<sup>2</sup>, Н.Д. Газатова<sup>2</sup>, И.А. Хлусов<sup>2,4</sup>, М.О. Жульков<sup>5</sup>, А.М. Чернявский<sup>5</sup>,  
Д.А. Сирота<sup>5</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Балтийский федеральный университет им. И. Канта, г. Калининград, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Томск,  
Россия

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г.  
Томск, Россия

<sup>5</sup>Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н.

Мешалкина, г. Новосибирск, Россия

e-mail: 1711Sasha@mail.ru, grenaderov@lae.hcei.tsc.ru

**Ключевые слова:** кремний-углеродные покрытия ( $a\text{-C:H:SiO}_x$ ), плазмохимическое осаждение, адгезия тромбоцитов, биодegradация, цитотоксичность, секреция цитокинов

**Введение.** Алмазоподобные углеродные покрытия обладают уникальным сочетанием физико-механических, трибологических, медико-биологических и антикоррозионных свойств, что делает их востребованными для многих сфер применения, включая медицину. В зависимости от решаемой прикладной задачи углеродную матрицу можно легировать различными элементами с целью адаптации покрытия к конкретным условиям работы.

Одной из разновидностью алмазоподобных материалов являются кремний-углеродные ( $a\text{-C:H:SiO}_x$ ) покрытия, содержащие в качестве легирующей добавки в углеродной матрице - кремний, способствующий улучшению физико-механических и медико-биологических свойств [1]. Известно, что кремний и соединения на его основе (нитриды, оксиды и карбиды) повышают инертность и гемосовместимость материалов, а также снижают адгезионную способность бактерий [2]. Кроме этого,  $a\text{-C:H:SiO}_x$  покрытия обладают высокой твердостью (10-18 ГПа), высокой износостойкостью (коэффициент износа менее  $10^{-7}$   $\text{мм}^3\text{Н}^{-1}\text{м}^{-1}$ ) и хорошей антикоррозионными свойствами (скорость коррозии менее  $10^{-6}$   $\text{мм/год}$ ).

Традиционно для получения аналогичного типа покрытий используют плазмохимический синтез с использованием высокочастотных систем, обеспечивающих подачу смещения к подложке или генерацию непосредственно разряда [3]. Использование высокочастотных систем сопровождается рядом ограничений/недостатков, в частности,

высокая стоимость, необходимость использования согласующих устройств, серьезная проблема при масштабировании вследствие симметричности системы.

**Цель.** Осаждение  $a\text{-C:H:SiO}_x$  покрытий плазмохимическим методом с использованием импульсного биполярного смещения подложки, а также проведение комплекса медико-биологических исследований полученных образцов.

**Материалы и методы.** Осаждение  $a\text{-C:H:SiO}_x$  покрытий осуществлялось на вакуумной ионно-плазменной установке, оснащенной технологическим источником в виде плазмогенератора с источником паровой фазы. В источник паровой фазы, нагреваемый вольфрамовой нитью накала до температуры  $400\text{-}500^\circ\text{C}$ , подавался жидкий прекурсор – полифенилметилсилоксан, переходящий в паровую фазу и используемый для создания углеродсодержащей плазмы. Из генерируемой плазмы формировались  $a\text{-C:H:SiO}_x$  покрытия, состав, структура и свойства которых зависели от технологических условий осаждения. Режимы осаждения оптимизировались для получения покрытий с высокими механическими и трибологическими свойствами [4, 5]. Более детально технологические условия осаждения представлены в более ранней нашей работе [6].

В качестве подложек использовались образцы титанового сплава марки ВТ6 (ВСМПО-АВИСМА, Россия) диаметром 10 мм и толщиной 1 мм.

В исследованиях участвовало 2 группы образцов: 1. Титановый сплав ВТ6 (Т1), 2. Титановый сплав ВТ6 с двухсторонним нанесением  $a\text{-C:H:SiO}_x$  покрытия (Т2). В качестве контроля выступала культура клеток на пластике без образцов (Т0).

Для проведения исследований на адгезию тромбоцитов из крови здорового взрослого донора получали 50 мл плазмы, обогащенной тромбоцитами, с помощью центрифугирования и сепарации форменных элементов крови. Полученную плазму разводили 0,9% раствором хлорида натрия в соотношении 1:1. Образцы материала погружали в полученный раствор тромбоцитов и инкубировали при  $37^\circ\text{C}$  в течение 30 минут. Затем образцы промывали дистиллированной водой для удаления слабо адгезированных тромбоцитов. Оставшиеся на поверхности тромбоциты фиксировали в 2% растворе глутаральдегида при комнатной температуре в течение 1 часа и высушивали в термостате при  $37^\circ\text{C}$ . Перед проведением электронной микроскопии образцы покрывали слоем хрома толщиной 5 нм и получали изображения поверхности с помощью сканирующего электронного микроскопа Tescan-Mira3.

Исследование биодegradации проводили иммерсионным методом (погружение образцов в изотонический (0,9%) раствор хлорида натрия). Образцы помещали в индивидуальные, стерильные, химически инертные, пластиковые пробирки на 15 мл с крышкой (ООО «МиниМед», Беларусь), содержащие растворитель в объеме 2 мл и термостатировали при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение 5 недель. В конце 1-5-й недель термостатирования растворы образцов (экстракты) полностью забирали из пробирок и заменяли свежей порцией растворителя (после 1-4-й недель растворения). Оценку продуктов деградации проводили в соответствии с рекомендациями ГОСТ ISO 10993-9.

Исследование цитотоксичности мононуклеарных клеток крови в отношении полученных образцов осуществляли методом проточной цитофлуориметрии. Сокультивирование клеток с тестируемыми образцами проводилось в течение 24 ч при  $37^\circ\text{C}$ , во влажной атмосфере, содержащей 5%  $\text{CO}_2$ .

Исследование провоспалительного ответа мононуклеарных клеток на полученные образцы проводили методом проточной флуориметрии с использованием коммерческой панели Bio-Plex Pro Human Cytokine Panel, 27-Plex (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), в соответствии с инструкциями производителя.

**Результаты.** Изображения поверхности образцов титанового сплава, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа, после проведения теста на адгезию тромбоцитов, представлены на рисунке 1. Согласно теории и классификации Гудмана наиболее активными являются тромбоциты неправильной формы размером  $\sim 5$  мкм. Это означает, что в таком состоянии они могут высвобождать содержимое гранул, что

приводит к активации других тромбоцитов, их адгезии и образованию тромбов. Дiskoобразные тромбоциты не активны.

На рисунке 1-а представлено СЭМ изображение поверхности образца титанового сплава ВТ6 после проведения теста на адгезию тромбоцитов. Можно заметить, что поверхность образца имеет выраженные борозды, образованные в процессе механической полировки. При этом тромбоциты полностью покрывают поверхность образца в местах выраженных неровностей, образуя конгломераты, не позволяющие произвести точный подсчет количества тромбоцитов. Площадь  $150 \times 150$  мкм<sup>2</sup> полностью занята тромбоцитами, то есть 100%. На рисунке 1-б представлено СЭМ изображение поверхности образца титанового сплава ВТ6 с осажденным покрытием а-С:Н:SiO<sub>x</sub> после проведения теста на адгезию тромбоцитов. На такой поверхности наблюдаются единичные тромбоциты с четкими границами и не образующие конгломератов. Эта поверхность наименее тромбогенна, а площадь, занятая тромбоцитами, составляет менее 20% на таком же участке  $150 \times 150$  мкм<sup>2</sup>. Стоит отметить, что тромбоциты здесь округлые, следовательно, не активные. Аналогичные результаты снижения адгезии тромбоцитов после осаждения покрытий DLC, содержащих кремний или SiO<sub>x</sub> фазу, отмечаются в работах Восіага и Soon-Eng Ong на образцах аустенитной стали марки AISI 316L, титановых сплавах Ti-6Al-4V и Ti-6Al-7Nb.

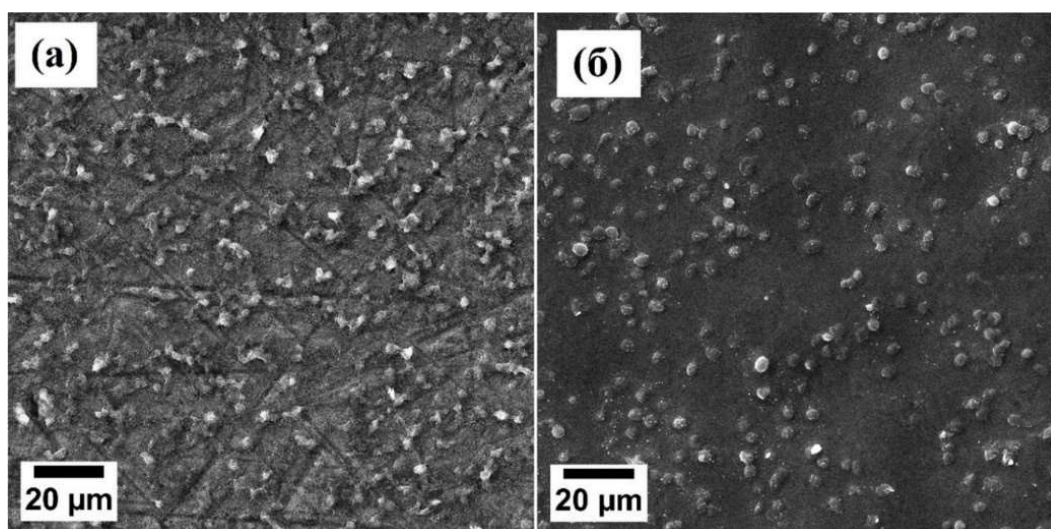


Рисунок 1. СЭМ-изображения морфологии тромбоцитов на образце титанового сплава ВТ6 (а) и образца титанового сплава ВТ6 с осажденным покрытием а-С:Н:SiO<sub>x</sub> (б)

Результаты 5-недельной биodeградации в 0,9% растворе хлорида натрия продемонстрировали минимальное отложение солей на поверхности образцов с осажденным покрытием а-С:Н:SiO<sub>x</sub> (рисунок 2). Согласно методу компьютерной морфометрии цифровых СЭМ изображений с использованием программы Image J 1.38 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) наблюдается значительное уменьшение (в 10-51 раз в сравнении с образцами титанового сплава ВТ6) площади отложения солей из раствора преципитатов на покрытиях а-С:Н:SiO<sub>x</sub> различной толщины. Тем не менее, статистически значимые различия между толщиной покрытий а-С:Н:SiO<sub>x</sub> и площадью отложений не выявлены.

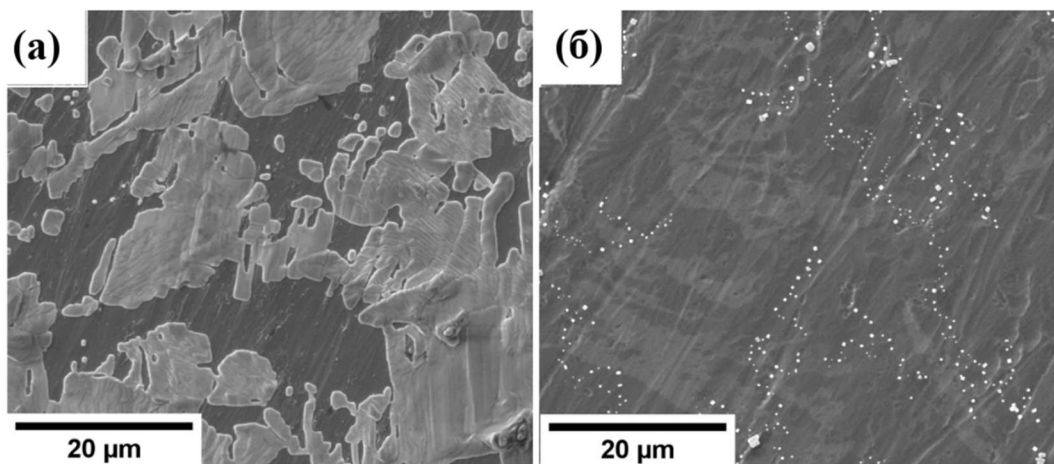


Рисунок 2. СЭМ-изображения поверхности образцов титанового сплава VT6 (а) и образца титанового сплава VT6 с осажденным покрытием а-С:Н:SiO<sub>x</sub> (б) после 5-недельной биодеградациии в 0,9% растворе хлорида натрия

Исследование *in vitro* жизнеспособности лейкоцитов крови методом проточной цитометрии с использованием набора Viability™ Fixable Dyes при прямом 24-ч контакте с исследуемыми образцами с осажденным покрытием а-С:Н:SiO<sub>x</sub> не показало статистических различий в группах без тестируемых образцов и с образцами титанового сплава VT6 без покрытия. Доля жизнеспособных клеток во всех группах составляла более 90%.

В группе клеток крови, контактировавших с подложкой из титанового сплава без покрытия (группа T1), после 24-ч культивирования обнаружены изменения секреции 11 из 16 анализируемых цитокинов. Содержание про- и противовоспалительных цитокинов, в основном, статистически значимо повышались, исключая IL-2 (уровень не менялся) и IL-1Ra (концентрация падала в 1,24 раза), в сравнении с МНК на пластиковых культуральных планшетах без образцов. Максимальное увеличение секреции (практически в 10 раз) отмечено для IL-1b. Таким образом, в проведенном эксперименте подложки из титанового сплава выступали в качестве неспецифических раздражителей, индуцирующих МНК к секреции, преимущественно, биомолекул с провоспалительным потенциалом.

При сокультивировании иммунокомпетентных клеток с образцами титанового сплава с нанесенным а-С:Н:SiO<sub>x</sub> покрытием (группа T2), наблюдались заметные отличия. Концентрации провоспалительных цитокинов IL-6, IL-12(p70), IL-15, IL-17, IFN-g и TNF-α были значимо ниже, чем в группе T1, и практически приближались к контрольным значениям (культура клеток на пластике без образцов T0). В тоже время наблюдалось значительное (практически в 6 раз) усиление продукции противовоспалительной молекулы IL-1Ra. Этот белок-рецептор, находясь в биологических жидкостях, блокирует активность IL-1 альфа и IL-1 бета, модулируя таким путем различные иммунные и воспалительные реакции, связанные с IL-1. Таким образом, образцы с нанесенным а-С:Н:SiO<sub>x</sub> покрытием, с одной стороны, снижали секрецию провоспалительных цитокинов, а с другой стороны, за счет стимуляции секреции IL-1Ra иммунокомпетентными клетками, способствовали нейтрализации воспалительных эффектов, обусловленных белками семейства IL-1.

**Заключение.** Плазмохимическим методом осаждения с использованием импульсного биполярного смещения подложки были получены а-С:Н:SiO<sub>x</sub> покрытия, демонстрирующие не только высокие физико-механические и трибологические свойства, а также способствующие снижению адгезии тромбоцитов, уменьшению площади отложения солей из раствора преципитатов и снижению/замедлению воспалительных реакций.

#### **Литература.**

1. Bociaga D., Sobczyk-Guzenda A., Komorowski P., Balcerzak J., Jastrzebski K., Przybyszewska K., Kaczmarek A. Surface Characteristics and Biological Evaluation of Si-DLC

Coatings Fabricated Using Magnetron Sputtering Method on Ti6Al7Nb Substrate. *Nanomaterials*. 2019;9:812. DOI: 10.3390/nano9060812

2. Mandracci P., Mussano F., Ceruti P., Pirri C.F., Carossa S. Reduction of bacterial adhesion on dental composite resins by silicon-oxygen thin film coatings. *Biomedical Materials*. 2015;10:015017. DOI: 10.1088/1748-6041/10/1/015017

3. Nakazawa H., Kamata R., Miura S., Okuno S. Effects of frequency of pulsed substrate bias on structure and properties of silicon-doped diamond-like carbon films by plasma deposition. *Thin Solid Films*. 2015;574:93-98. DOI: 10.1016/j.tsf.2014.11.078

4. Grenadyorov A.S., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Sypchenko V.S. Influence of deposition conditions on mechanical properties of a-C:H:SiO<sub>x</sub> films prepared by plasma-assisted chemical vapor deposition method. *Surface and Coatings Technology*. 2018;349:547-555. DOI: 10.1016/j.surfcoat.2018.06.019

5. Grenadyorov A.S., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Rabotkin S.V., Elgin Yu.I., Sypchenko V.S., Ivanova N.M. Effect of substrate bias and substrate/plasma generator distance on properties of a-C:H:SiO<sub>x</sub> films synthesized by plasma-assisted chemical vapor deposition. *Thin Solid Films*. 2019;669:253-261. DOI: 10.1016/j.tsf.2018.11.005

6. Grenadyorov A.S., Zhulkov M.O., Solovyev A.A., Oskomov K.V., Semenov V.A., Chernyavskiy A.M., Sirota D.A., Karmadonova N.A., Malashchenko V.V., Litvinova L.S., Khaziakhmatova O.G., Gazatova N.D., Khlusov I.A. Surface characterization and biological assessment of corrosion resistant a-C:H:SiO<sub>x</sub> PACVD coating for Ti-6Al-4 V alloy. *Materials Science & Engineering C*. 2021;123:112002. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112002

## КРИТЕРИИ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В КУЛЬТУРЕ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ

М.В. Дворниченко, И.А. Хлусов, Д.В. Черняховская  
ФГБОУ ВО Сибирский Государственный медицинский университет, г. Томск, Россия  
e-mail: dvornichenko.mv@ssmu.ru

**Ключевые слова:** культура мононуклеаров, дисплазия соединительной ткани.

**Введение.** Недифференцированная дисплазия соединительной ткани (НДСТ код по МКБ-10 – M35.8) характеризуется клиническими проявлениями, не укладывающимися в структуру наследственных синдромов, имеет распространенность 1:5, а отдельные внешние проявления дисморфогенеза соединительной ткани среди молодых составляют 85,4%. Проблема диагностики НДСТ заключается в том, что не существует единого мнения о терминологии и диагностических критериях НДСТ, так как универсальных патологических поражений соединительной ткани, формирующих специфический фенотип нет [1, 2]. Оценка функциональной активности костной ткани *in vitro* по показателям периферической крови является распространенным методологическим подходом, как в клинической практике, так и в научных исследованиях. Биохимические маркеры костеобразования и резорбции дают клинически полезную информацию, отражающую динамику физиологических и патологических процессов, связанных с деятельностью клеток костной ткани [3, 4]. Однако вариабельность молекулярных маркеров периферической крови может быть связана с направленностью регенеративных процессов в кости и отражать активность нейроэндокринной системы. Как следствие, актуальным становится поиск новых фундаментальных подходов, лежащих в основе диагностики, прогностики и коррекции повреждений и заболеваний костной ткани, вариантов реабилитации, ускорения процессов репарации и безопасности исходов регенерации.

**Цель.** определить эффективность краткосрочной 3D-культуры мононуклеарных лейкоцитов периферической крови в присутствии матриксов с разновидностями кальцийфосфатного покрытия как модель персонализированной малоинвазивной оценки дисплазии соединительной ткани.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования являлась венозная кровь 4 пациентов с клинически установленным диагнозом несовершенного остеогенеза (НО), 25 подростков 11-14 лет, учащихся спортивных школ. Все обследованные (их законные представители) были проинформированы по особенностям проводимых манипуляций согласно этическим требованиям (Хельсинкская декларация Всемирной Медицинской Ассоциации, 2013). Исследования выполняли с согласия локального этического комитета Сибирского государственного медицинского университета (заключение № 1646 от 25.10.2010).

Фракцию мононуклеаров периферической крови человека для постановки культуры выделяли из гепаринизированной крови методом градиентного центрифугирования (градиент плотности Histopaque (Sigma, USA) Жизнеспособность выделенных мононуклеарных лейкоцитов составляла 91-95% в тесте ISO 10993-5 с 0,4% раствором трипанового синего. Постановка краткосрочной культуры мононуклеарных лейкоцитов периферической крови осуществляли в 24-луночных пластиковых плоскодонных планшетах (OrangeScientific, Бельгия). Плотность культуры для мононуклеарных лейкоцитов периферической крови составляла  $10^6$  жизнеспособных клеток/лунку в 1 мл культуральной среды.

В экспериментах по культивированию *in vitro* клеток человека использовали полную «неостеогенную» культуральную среду по стандартным протоколам в модификации, описанной в ноу-хау «Способ выявления в периферической крови клеток со стромальным фенотипом» (приказ №43 от 20.02.2014 по ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России).

С целью моделирования трехмерной (3D)-культуры клеток в лунки культуральных планшетов до внесения клеточной взвеси помещали по одному образцу, имитирующему минеральное вещество регенерирующей костной ткани. Пластиковая поверхность культуральных планшетов без образцов служила моделью двумерной (2D) клеточной культуры. Культивирование клеток в присутствии или без образцов 3D-матриц проводили в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора при 5% концентрации углекислоты, 100% влажности и температуре 36°C в течение 52-96 часов. После культивирования образцы удаляли, неприлипающие клетки использовали для определения гибели клеток и внутриклеточных активных форм кислорода, супернатанты (отделяли от клеток центрифугированием в течение 10 мин. при 400 g) – для выявления молекулярных маркеров. Планшеты сушили на воздухе в течение 24 ч. Фиксировали адгезирующие к пластику клетки в парах нейтрального формалина в течение 30 с. Промывали планшеты водой в течение 1 мин и сушили на воздухе в течение 24 ч. С прилипшими клетками осуществляли цитологические и иммуноцитохимические исследования.

В качестве раздражителей клеток применялись трехмерные (3D) модели, имитирующие свойства минерального вещества регенерирующей костной ткани, на основе титановых подложек (марка BT1.0) с линейным размером не более 10-12 мм и толщиной не более 1 мм, несущих композитное (полимерно-кальцийфосфатное) покрытие.

Морфофункциональную реакцию клеток крови определяли с использованием принципов компьютерной морфометрии (морфологические индексы прилипающих к пластику клеток), на основе биохимических (концентрация общего и ионизированного Ca, неорганического P, активности ОЩФ и ОКФ, содержание остеокальцина и CrossLaps, концентрации IL-1b, 2, 4, 6, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  в межклеточной жидкости культуры), иммуноцитохимических (уровень экспрессии клеточными элементами CD34, CD44 и остеокальцина) и цитохимических исследований (щелочная и кислая фосфатазы, неспецифическая эстераза).

**Результаты.** Результаты проведенного нами исследования показали, что доля фибробластоподобных клеток в краткосрочной 2D-культуре мононуклеаров крови у больных с НО варьировала от 4 до 16%, что, в первую очередь, связано с многочисленными переломами и оперативными вмешательствами. При этом максимально выраженная фенотипическая трансформация клеток отмечалась у пациента с наиболее тяжелой клинической формой НО.

Цитохимическая окраска морфологически трансформированных клеток подтверждала ферментативный статус КОЕ-Ф периферической крови человека (положительная окраска на кислую фосфатазу и неспецифическую эстеразу, слабая окраска на щелочную фосфатазу). Среди особенностей 2D-культуры мононуклеаров у пациентов с НО сзарегистрирован высокий уровень CrossLaps в кондиционной среде (0,15 при 0,07 нг/мл у здоровых добровольцев,  $p < 0,05$ ), а также повышенным содержанием в межклеточной жидкости культуры ИЛ-6 ( $138,3 \pm 43,9$  пг/мл), TNF $\alpha$  ( $12,2 \pm 4,3$  пг/мл) и высокой активностью кислой фосфатазы (0,8 ЕД/л) по сравнению с таковыми в культуре мононуклеаров контрольной группы (ИЛ-6 -  $48,0 \pm 11,0$  пг/мл, TNF $\alpha$  -  $2,9 \pm 1,2$  пг/мл, ОКФ - 0,3 ЕД/л) ( $p < 0,05$ ). Моделирование состояния минерального матрикса костной ткани с помощью модельных дисков приводило к изменению морфологии лейкоцитарной культуры у пациентов с НО. После контакта с 3D-матриксом, на фоне общего усиления секреторной активности мононуклеарных клеток (увеличение концентрации TNF $\alpha$  в 5 раз, ИЛ-1b в 22 раза, ИЛ-6 в 3 раза, IFN $\gamma$  в 30 раз, ИЛ-2 в 21 раз, ИЛ-4 в 4 раза,  $p < 0,05$ ), в клеточной культуре возросла экспрессия CD34, CD44 и, самое главное – OCN (маркер остеобластов) (на 38%  $p < 0,05$ ); при этом более чем в 2 раза снизилась концентрация CrossLaps ( $p < 0,05$ ) (маркер разрушения коллагена) и общего кальция (на 10%,  $p < 0,05$ ). Сравнительный анализ результатов культивирования мононуклеаров крови в шкале «здоровые-больные НО» позволил обратить внимание, что после краткосрочного (4 суток) культивирования мононуклеаров периферической крови подростков-спортсменов, как в 2D-, так и 3D-системе, среди прилипающих к пластику клеток были зарегистрированы единичные остеобластоподобные клетки, позитивно окрашивающиеся на остеокальцин. Выявлена ассоциация степени выраженности диспластического фенотипа у подростков-спортсменов с увеличением метаболических признаков остеобластоподобных клеток в 3D-культуре.

**Заключение.** Разработанная модель 3D-культивирования мононуклеарных лейкоцитов крови, в отличие от классических дистантных молекулярных показателей, в фундаментальном плане позволяет получить новые знания о клеточно-молекулярных механизмах, в прикладном аспекте – имеет потенциал не только для разработки персонифицированной малоинвазивной диагностики недифференцированной дисплазии соединительной ткани, прогнозирования исхода и успешности терапии.

#### **Литература.**

1. Акатова Е.В., Богинская О.А., Вершинина М.В., Викторова И.А., Глотов А.В., Головской Б.В., Горева И.Ю. и др. Дисплазия соединительной ткани в практике врачей первичного звена здравоохранения: руководство для врачей. М.: КСТ Интерфорум; 2016:520.

2. Мартынов А.И., Нечаева Г.И., Акатова Е.В., Вершинина М.В., Викторова И.А., Громова О.А. и др. Национальные рекомендации Российского научного медицинского общества терапевтов по диагностике, лечению и реабилитации пациентов с дисплазиями соединительной ткани. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2016;11(1):2-76.

3. Langdahl BL. Is There a Place for Bone Turnover Markers in the Management of Osteoporosis? *J. Bone Miner Res*. 2018 Jul;33(7):1197-1198. doi: 10.1002/jbmr.3478. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29926975.

4. Yan C, Zhang J, An F, Wang J, Shi Y, Yuan L, Lv D, Zhao Y, Wang Y. Research Progress of Ferroptosis Regulatory Network and Bone Remodeling in Osteoporosis. *Front Public Health*. 2022 Jun 30;10:910675. doi: 10.3389/fpubh.2022.910675. PMID: 35844870; PMCID: PMC9280046.

## БИОРЕЗОРБИРУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ТРАВМАТОЛОГИИ

Г.Е. Дубиненко<sup>1</sup>, В.С. Бочаров<sup>1</sup>, Д.А. Попков<sup>2</sup>, А.В. Попков<sup>2</sup>, С.И. Твердохлебов<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет,  
г. Томск, Россия  
<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ ТО имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган,  
Россия  
e-mail: dubinenko@tpu.ru

**Ключевые слова:** поликапролактон, гидроксиапатит, биорезорбируемые имплантаты, остеосинтез, травматология

**Введение.** За последние десятилетия было предложено множество новых материалов и подходов хирургического лечения сегментарных костных дефектов. Одним из наиболее перспективных среди них является реконструкция кости с использованием персонализированных биорезорбируемых композиционных скаффолдов [1]. Как известно, алифатический полиэфир поликапролактон (ПКЛ) обладает высокой эластичностью, биосовместимостью и способностью к биорезорбции в условиях организма, но не имеет биоактивных свойств, необходимых для индукции остеогенеза. Гидроксиапатит (ГА) является биологически активным минералом, способным стимулировать остеогенную дифференцировку стволовых клеток и индуцировать остеогенез, но обладает высокой хрупкостью. Изготовление композита на основе ПКЛ и ГА позволяет получить материал, сочетающий эластичные свойства полимерной матрицы ПКЛ и биоактивные свойства минерального наполнителя ГА [2].

**Цель.** Целью работы являлось получение композиционного биорезорбируемого материала на основе поликапролактона и гидроксиапатита для замещения костных дефектов, а также исследование его физико-химических и биологических свойств в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

**Материалы и методы.** Химическую и термическую стабильность полученных композиционных материалов исследовали методами дифференциальной сканирующей калориметрии, термогравиметрического анализа, рентгенофазового анализа, инфракрасной спектроскопии, гельпроникающей хроматографии. Опытные образцы и модельные имплантаты изготавливали методом 3D печати. Морфологию и механические свойства изготовленных образцов исследовали методами сканирующей электронной микроскопии, механических испытаний на растяжение и сжатие. Цитотоксичность композиционных материалов определяли в исследовании *in vitro* с использованием иммунных клеток костного мозга бедренной кости мыши. Биосовместимость композиционных материалов исследовали в эксперименте *in vivo* по замещению сегментарного дефекта большеберцовой кости овцы.

**Результаты.** Было показано, что изготовленные композиты сохраняют термическую и химическую стойкость в диапазоне температур экструзии филамента и 3D печати модельных имплантатов. При этом изменение массовой доли ГА влияет на кристалличность и молекулярно-массовое распределение ПКЛ. Композиты с наполнением ГА до 20 мас.% сохраняют полидисперсность близкую к 2, что является благоприятным фактором при разработке биорезорбируемых материалов с контролируемым сроком деградации. Композиты с наполнением ГА до 10 мас.% сохраняют высокую эластичность, характерную для ПКЛ. В эксперименте *in vitro* было показано, что образцы, изготовленные методом печати из чистого ПКЛ и композитов с наполнением ГА до 40 мас.% не являются токсичными по отношению к иммунным клеткам костного мозга мыши. В эксперименте *in vivo* было показано, что композиционные модельные имплантаты обеспечивают стабильный репаративный остеогенез и формирование костно-имплантационного блока в течение первого месяца после имплантации (Рисунок 1).



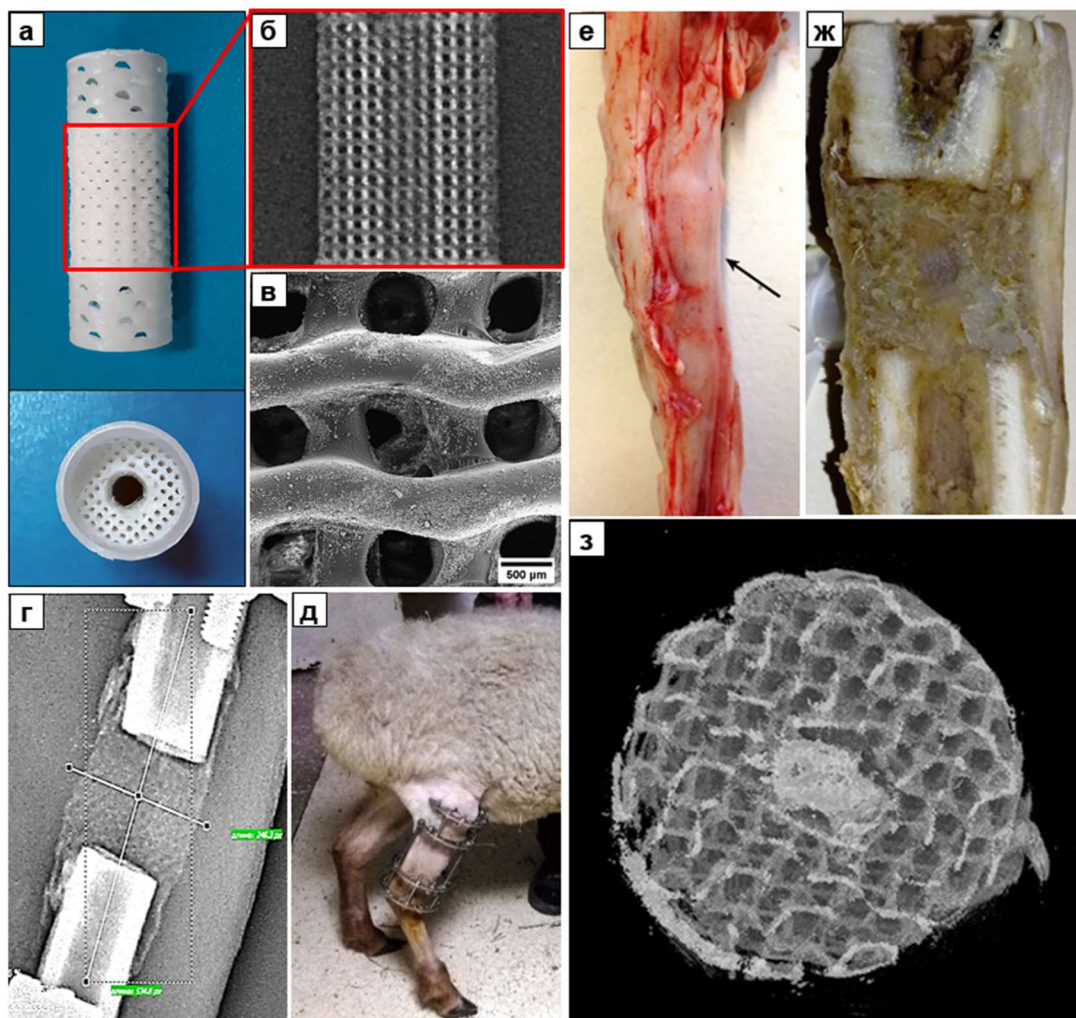


Рисунок 1. Замещение сегментарного дефекта большеберцовой кости овцы композиционным имплантатом: а – цилиндрический имплантат; б – компьютерная томография пористой части имплантата, в – морфология поверхности имплантата, г – рентгенограмма сегментарного дефекта, замещённого имплантатом, д – фото экспериментального животного на 4-е сутки после операции, е – фотография анатомического препарата большеберцовой кости (стрелкой указано расположение имплантата), ж – фотография продольного среза анатомического препарата, з – КТ-изображение поперечного анатомического препарата

**Заключение.** Предложенный в работе метод изготовления композиционного материала обеспечивает гомогенное распределение ГА в полимерной матрице ПКЛ. Композиты с содержанием ГА до 40 мас.% могут быть использованы для изготовления филамента и 3D печати методом экструзии расплава. Термогравиметрический анализ и инфракрасная спектроскопия подтверждают высокую термическую и химическую стабильность композитов в диапазоне температур изготовления филамента и процесса 3D печати. Композиты с наполнением до 40 мас.% ГА обеспечивают высокую жизнеспособность иммунных клеток костного мозга мыши. Пористые композиционные имплантаты обеспечивают стимуляцию репаративного остеогенеза и остеоинтеграции в единый имплантат-костный блок при замещении сегментарного дефекта длинной трубчатой кости.

*Исследования поддержаны Министерством науки и высшего образования, проект Наука FSWW-2023-0007.*

**Литература.**

1. L. Zhang, G. Yang, B.N. Johnson, X. Jia. Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. *Acta Biomaterialia*. 84 (2019): 16–33.

2. J.J. Chung, H. Im, S.H. Kim, J.W. Park, Y. Jung. Toward Biomimetic Scaffolds for Tissue Engineering: 3D Printing Techniques in Regenerative Medicine. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 8 (2020): 1251.

## МАРКЕРЫ ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА В ДИФфуЗИОННОЙ КАМЕРЕ IN VIVO: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Е.А. Зиновьев<sup>1\*</sup>, Н.С. Митрайкин<sup>1</sup>, Е.А. Марзоль<sup>1,2</sup>, М.В. Дворниченко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>Лаборатория клеточных и микрофлюидных технологий, г. Томск, Россия

e-mail: egorzinovyev@mail.ru

**Введение.** Применение диффузионных камер, как экспериментальный метод имплантации клеток, дает возможность изолировать донорский материал от микроокружения реципиента [1-3], что обусловило применение этой методологии в оценке эффективности терапии [4], и в том числе клеточной [5]. Существующие на данный момент конструкции диффузионных камер подразумевают подкожную или интраперитонеальную имплантацию камер в реципиента, при этом клеточный материал донора изолирован полностью изолирован от сосудистого русла реципиента. Вопрос васкуляризации, как фактор, влияющий на пролиферацию и дифференцировку клеточного материала, остается открытым. И экспериментально попытки объединить сосудистое русло реципиента с одновременной изоляцией клеточного материала донора не проводились. Адвентиция крупных сосудов реципиента является депо для клеток-предшественников, которые критически участвуют в васкуляризации клеточного материала, как и *vasa vasorum*<sup>6</sup>. При этом васкуляризация, как известно, является одним из главных факторов, влияющих на приживаемость трансплантата. Необходимость обеспечить васкуляризацию клеточному материалу донора обуславливает создание модели диффузионной камеры, сохранившей доступ к сосудистому руслу реципиента.

**Целью** настоящего исследования являлась оценка показателей васкуляризации костного мозга, имплантированного в диффузионной камере на бедренный сосудисто-нервный пучок крысы.

**Материалы и методы.** В исследовании была проведена сравнительная оценка параметров васкуляризации в эксперименте имплантации диффузионной камеры с костным мозгом, фиксирующейся на магистральный сосудисто-нервный пучок. Была разработана диффузионная камера в виде полимерной капсулы со съемной крышкой, снабженной защелками. и возможностью заполнения полости клеточным материалом в том числе в варианте биоинженерной конструкции. Камера изготовлена из поликапролактона, который представляет собой биоразлагаемый полиэфир с низкой температурой плавления (59-64 градусов). Стерилизацию диффузионных камер проводили в парах 100% этиленоксида при 37 °C в течение 9 ч в газовом стерилизаторе 3M Steri-Vac Sterilizer/Aerator (3M, США) согласно рекомендациям ГОСТ, ISO 11135-2017. Исследование проводили на половозрелых крысах-самцах рода Wistar. Животные были разделены на две группы: 1 – экспериментальная (n=4), в которой происходила имплантация диффузионной камеры на бедренный сосудисто-нервный пучок с костным мозгом, 2 – контрольная (n=2), животные с имплантацией диффузионной камеры без костного мозга. Работа с животными осуществлялась в соответствии с биоэтическими нормами: разрешение этического комитета СибГМУ (ЦДИ-005/5/02.2022). В постимплантационный период велось наблюдение за крысами. Через 40 дней по окончании эксперимента животные были подвергнуты эвтаназии методом CO<sub>2</sub>. Донорами МСК КМ стало 1 животное сопоставимое по массе и возрасту группам исследования. Костный мозг был получен в стерильных условиях ламинарного шкафа от донорских животных путем промывания диафизов культуральной стерильной средой и помещен в имплантационную камеру. Имплантация диффузионных камер экспериментальным животным производилась под общим

ингаляционным наркозом (изофлуран). Объем имплантируемого костного мозга в диффузионных камерах составил 100 мкл. За 15 минут до операции животным внутримышечно вводился атропин в дозировке 0,2 мг/кг для предотвращения гиперсекреции слизи в бронхах. Операционное поле освобождалось от шерстяного покрова, обрабатывалось раствором йода спиртовым. Оперативный доступ выполнялся из разреза в 2-3 см, в глубине паховой складки, кнутри от пульсации бедренной артерии. При освобождении сосудисто-нервного пучка, на него плотно фиксировалась диффузионная камера с костным мозгом. После манипуляции рана ушивалась лавсановыми нитями 4/0-5/0. На раневую поверхность производилось напыление спрея «Алюминий (ВЕТ)» в асептических целях. В послеоперационном периоде за всеми животными велось наблюдение, обработка швов при необходимости. Спустя 6 часов после вмешательства состояние крыс стало стабильным. На 40й день окончания срока имплантации животные были подвергнуты эвтаназии методом CO<sub>2</sub> ингаляции. Приготовление гистологических препаратов осуществляли по стандартной методике (ссылка). Микроскопия проводилась на световом микроскопе Karl Zeuss Observer D1 (Германия) с гистологическим анализом содержимого камеры. Морфометрия с оценкой коэффициента васкуляризации была проведена по изображениям, полученным камерой для световой микроскопии Zeiss AxioCam ICc5 (Германия). Для количественной оценки степени васкуляризации диффузионной камеры с костным мозгом фиксируемой на бедренный сосудисто-нервный пучок крысы применялись следующие коэффициенты: - коэффициент васкуляризации оценивался по формуле:  $KV = S_{\text{сосудов}} / S_{\text{фотографии}}$ , где  $S_{\text{сосудов}}$  -  $S_{\text{фотографии}}$ . Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10.0, IBM (США). Проверку статистических гипотез на характер распределения признака проводили при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. При обработке полученных результатов использовали методы описательной и непараметрической статистики. Исследуемые параметры описывали как медиану (Me), 25 % (Q1) и 75 % (Q3) квантили. При сравнении независимых выборок использовали критерий Краскала-Уоллиса с медианным тестом, для парных сравнений использовали критерий Вилкоксона. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В осмотрах после проведения оперативного вмешательства (2-е, 4-е, 6-е, 10-е и 14-е сутки) послеоперационных и постимплантационных осложнений не наблюдалось. В месте имплантации признаков раздражения и травматизации тканей не выявлено. При результатах морфометрии с оценкой коэффициента васкуляризации в экспериментальной и контрольных группах было выявлено повышение коэффициента васкуляризации в экспериментальной группе  $KV = 0,0128 (0,0093 ; 0,0160)$  по сравнению с контрольной группой  $KV = 0,0065 (0,0037 ; 0,0071)$ , достоверность различия показателей экспериментальной и контрольной группы при уровне значимости  $p \leq 0,01$ . Микроскопия содержимого камеры показала ассоциацию повышения коэффициента васкуляризации с увеличением количества сосудов микроциркуляторного русла. При проведении гистологического исследования в экспериментальной группе у 25% животных в содержимом камеры сформировались участки грубоволокнистой костной ткани, при этом показатель коэффициента васкуляризации у данного животного были самые высокие в экспериментальной группе,  $KV = 0,0130 (0,0091 ; 0,0223)$ . При этом у всех животных экспериментальной и контрольной групп были выявлены участки рыхлой волокнистой соединительной ткани. Участки хрящевой ткани выявлены не были.

**Заключение.** Повышение коэффициента васкуляризации в экспериментальной группе, а также образование участков грубоволокнистой костной ткани у 25% животных в экспериментальной группе указывает на тенденцию влияния степени васкуляризации на вектор дифференцировки МСК костного мозга. В сравнении с данными, представленными в литературе, где имплантация камеры с костным мозгом подкожно привела к образованию только РВСТ и хрящевой ткани в камере. Проведенное исследование позволяет развивать концепцию диффузионной камеры на сосуде как экспериментальную модель оценки эффективности терапевтических решений

### **Литература.**

1. Gonçalves TL, Benvegnú DM, Bonfanti G. Specific factors influence the success of autologous and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Oxid Med Cell Longev.* 2009 Apr-Jun;2(2):82-7. doi: 10.4161/oxim.2.2.8355. PMID: 20357929; PMCID: PMC2763249.
2. Zhang P, Zhang C, Li J, Han J, Liu X, Yang H. The physical microenvironment of hematopoietic stem cells and its emerging roles in engineering applications. *Stem Cell Res Ther.* 2019 Nov 19;10(1):327. doi: 10.1186/s13287-019-1422-7. PMID: 31744536; PMCID: PMC6862744.
3. ALGIRE GH, WEAVER JM, PREHN RT. Growth of cells in vivo in diffusion chambers. I. *Survival of homografts in immunized mice. J Natl Cancer Inst.* 1954 Dec;15(3):493-507. PMID: 13233904
5. Шейко Е.А., Козель Ю.Ю., Златник Е.Ю., Шихлярова А.И. Использование метода диффузионных камер для оценки эффективности лечения гемангиом у детей раннего возраста. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015;8(2):287-289
5. Satoshi Yokose, Yuka Kato, Katsutoshi Matsumoto, Perry R. Klokkevold, Henry H. Takei. Enamel Matrix Derivative in Diffusion Chamber Implanted Subcutaneously in Rat Induces Formation of Fibrous Connective Tissue Containing Abundant Blood Vessels. *In Vivo.* 2021; 35 (1) 313-317; DOI: <https://doi.org/10.21873/invivo.12261>
6. Stenmark KR, Yeager ME, El Kasmi KC, Nozik-Grayck E, Gerasimovskaya EV, Li M, Riddle SR, Frid MG. The adventitia: essential regulator of vascular wall structure and function. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:23-47. doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183802. Epub 2012 Dec 3. PMID: 23216413; PMCID: PMC3762248.

## АДДИТИВНОЕ ПРОИЗВОДСТВО МНОГОСЛОЙНЫХ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПЛЕНОК ЭЛЮИРУЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО

П.И. Прошин<sup>1\*</sup>, А.С. Абдурашитов<sup>1</sup>, О.А. Синдеева<sup>1</sup>, А.А. Иванова<sup>1</sup>, Г.Б. Сухоруков<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия  
<sup>2</sup> Queen Mary University of London, London, UK  
e-mail: pavel.proshin@skoltech.com

**Ключевые слова:** биополимеры; адресная доставка лекарств; 3D-печать; полимерные пленки;

Адресная доставка препаратов с помощью биорезорбируемых полимерных пленок (БПП), выделяющих лекарства, используется уже более двух десятилетий и получила широкое распространение в различных медицинских устройствах [1,2]. Лекарственное покрытие, изготовленное из различных биосовместимых полимеров, например полимолочной кислоты (PLA), поликапролактона (PCL), полигликолевой кислоты (PGA) и их сополимеров, поддерживает концентрацию лекарства в месте нанесения, аналогичную или даже превосходящую концентрацию препарата при системной терапии при использовании гораздо меньшей общей дозы [3].

Двумя наиболее распространенными подходами при производстве БПП являются: (i) формирование композитной пленки, при которой порошок лекарственного средства просто смешивается со слоем покрывающего полимера; и (ii) темплатные методы, при которых целевое лекарственное средство наносится в специальные изолированные упорядоченные микроконтейнеры, сформированные на покровной пленке или непосредственно на поверхности медицинского изделия с помощью специальных шаблонов [4–6].

Композитные методы просты и позволяют производить БПП большой площади в промышленных масштабах, а также позволяют получать многослойные покрытия, способные высвобождать разные лекарственные средства в разные промежутки времени. Недостатком этих методов изготовления пленок является их неэффективность при использовании для длительной профилактики и терапии, что во многом связано с низкой

загрузочной способностью композитных слоев из-за риска объемной эрозии и недостаточного времени высвобождения лекарственного средства [7]. Напротив, темплатные методы способны удерживать значительное количество веществ с различной молекулярной массой, однако темплатный подход нельзя назвать универсальным, поскольку изделие изначально должно проектироваться с учетом шероховатости поверхности и прочностных характеристик пористых материалов [8]. Что касается практического использования, наличие темплатного процесса ограничивает гибкость производства, поскольку каждый новый тип продукта всегда требует создания нового шаблона.

Предлагаемая в данной работе технология PLACE (Printed Layered Adjustable Cargo Encapsulation) использует аддитивный подход к производству пленки (рис.1). Технология PLACE доступна, масштабируема и воспроизводима в любой лаборатории.

Предложенный подход позволяет создавать лекарственные покрытия большой площади с расширенными возможностями, а именно точно контролируемой загрузкой лекарственного средства со значительной полезной нагрузкой до  $1 \text{ мг/см}^2$ , возможностью точного задания формы пленок, необходимых для модификации имплантируемых устройств, а также возможностью изготовления многослойных пленок путем вариации различных лекарств и биополимеров внутри слоев, получая таким образом программируемые многофункциональные покрытия.

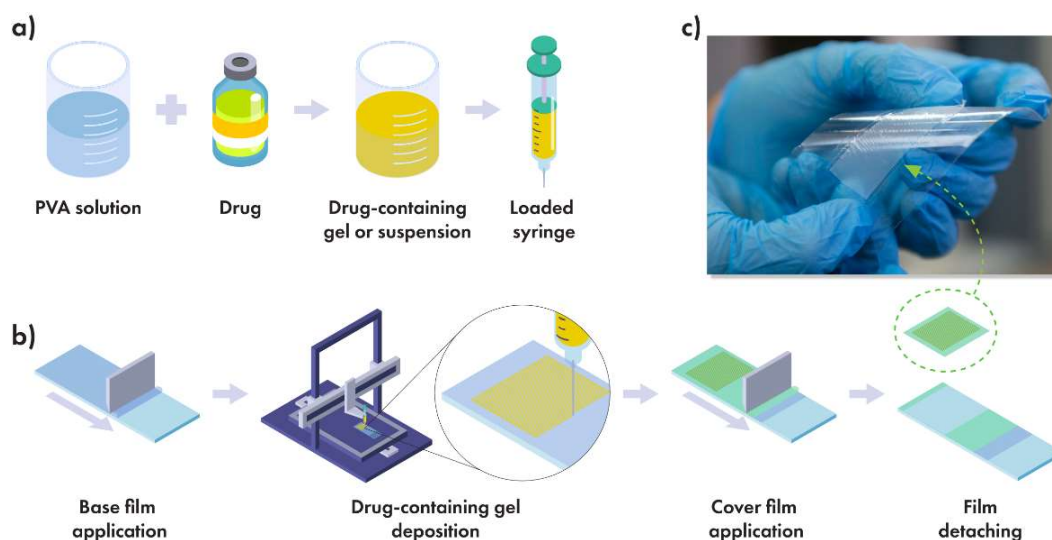


Рисунок 1. Дизайн подхода PLACE. а) Смешивание матрицы, содержащей лекарственное средство, процесс изготовления пленки (b) и готовая к использованию пленка (c)

В качестве демонстрации возможностей технологии мы изготовили слоистые пленки из полигликолевой кислоты, содержащие различные концентрации антибиотика цефазолина и изучили влияние количества загруженного лекарственного компонента на процесс изготовления пленки и кинетику высвобождения.

Удельная нагрузка препаратов была значительно увеличена до  $200\text{-}400 \text{ мкг/см}^2$  при сохранении равномерного высвобождения антибиотика цефазолина в дозировке, достаточной для местной антимикробной терапии в течение 14 дней (рис. 2).

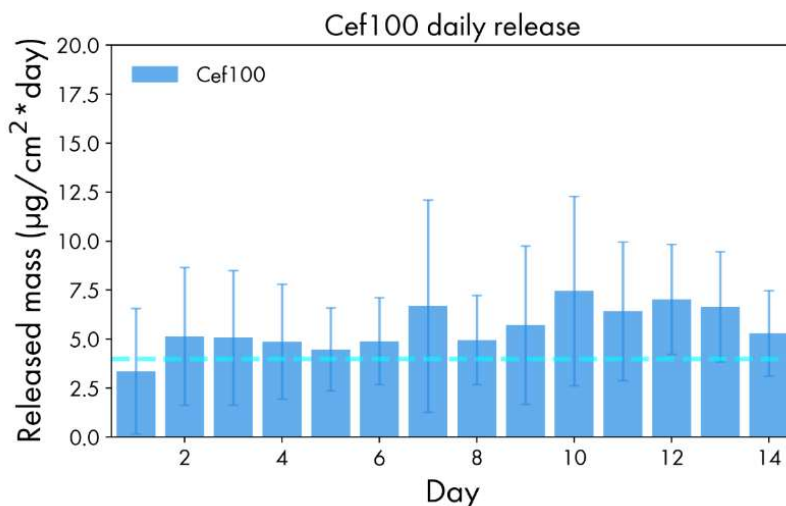


Рисунок 2. Ежедневный профиль релиза пленок с загрузкой цефазолина 100 мкг/мл матрицы. Минимальная ингибирующая концентрация для Метициллин-резистентного золотистого стафилококка показана голубой пунктирной линией

Также было показано, что дальнейшее увеличение количества препарата приводит к кристаллизации вещества, что может привести к специфическим дефектам формирования покрывной пленки и ускорению недельного выхода загрузки.

#### **Литература.**

1. Shah, P.; Chandra, S. Review on Emergence of Nanomaterial Coatings in Bio-Engineered Cardiovascular Stents. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022; 70. doi:10.1016/J.JDDST.2022.103224.
2. Hong, S.J.; Hong, M.K. Drug-Eluting Stents for the Treatment of Coronary Artery Disease: A Review of Recent Advances. *Expert Opin Drug Deliv.* 2022; 19: 269–280. doi:10.1080/17425247.2022.2044784.
3. Bajpai, A.K.; Shukla, S.K.; Bhanu, S.; Kankane, S. Responsive Polymers in Controlled Drug Delivery. *Prog Polym Sci.* 2008;33:1088–1118. doi:10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2008.07.005.
4. Li, W.; Gai, M.; Frueh, J.; Kudryavtseva, V.L.; Sukhorukov, G.B. Polyelectrolyte Multilayer Microchamber-Arrays for in-Situ Cargo Release: Low Frequency vs. Medical Frequency Range Ultrasound. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2018, 547, 19–27, doi:10.1016/J.COLSURFA.2018.03.031.
5. Nagstrup, J.; Keller, S.; Almdal, K.; Boisen, A. 3D Microstructuring of Biodegradable Polymers. *Microelectron Eng* 2011, 88, 2342–2344, doi:10.1016/J.MEE.2010.12.014.
6. Jørgensen, J.R.; Thamdrup, L.H.E.; Kamguyan, K.; Nielsen, L.H.; Nielsen, H.M.; Boisen, A.; Rades, T.; Müllertz, A. Design of a Self-Unfolding Delivery Concept for Oral Administration of Macromolecules. *Journal of Controlled Release.* 2021; 329: 948–954, doi:10.1016/J.JCONREL.2020.10.024.
7. Wang, Q.; Chen, W.; Zhu, W.; McClements, D.J.; Liu, X.; Liu, F. A Review of Multilayer and Composite Films and Coatings for Active Biodegradable Packaging. *npj Science of Food.* 2022; 6:1 2022;6: 1–16. doi:10.1038/s41538-022-00132-8.
8. Chichareon, P.; Katagiri, Y.; Asano, T.; Takahashi, K.; Kogame, N.; Modolo, R.; Tenekecioglu, E.; Chang, C.C.; Tomaniak, M.; Kukreja, N.; et al. Mechanical Properties and Performances of Contemporary Drug-Eluting Stent: Focus on the Metallic Backbone. *Expert Rev Med Devices.* 2019; 16: 211–228. doi:10.1080/17434440.2019.1573142.

# АНТОЦИАНСОДЕРЖАЩИЙ КОМПЛЕКС ИЗ *ARONIA MELANOCARPA* (MICHX.) *ELLIOTT* КАК КОРРЕКТОР ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ МИЕЛОСУПРЕССИИ У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС

О.Ю. Рыбалкина<sup>1,2\*</sup>, Т.Г. Разина<sup>1</sup>, Е.П. Зуева<sup>1</sup>, Г.И. Калинкина<sup>2</sup>, В.Ю. Андреева<sup>2</sup>,  
В.В. Жданов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия  
e-mail: olgatomsk87@gmail.com

**Ключевые слова:** антоцианы, химиотерапия, анемический синдром.

**Введение.** Назначение цитостатических препаратов пациентам со злокачественными новообразованиями в большинстве случаев является единственно эффективным способом воздействия на распространенный опухолевый процесс. В то же время, основным недостатком химиотерапии является высокая токсичность таких препаратов [Iwamoto T., 2013]. Анемия – наиболее распространенная гематологическая токсичность при химиотерапии. В настоящее время, на современном фармацевтическом рынке существует ряд препаратов-корректоров, снижающих гематотоксичность химиотерапии [Ларионова В.Б. и др., 2018]. Однако такие средства обладают рядом недостатков. Поэтому актуальной задачей онкофармакологии является поиск новых веществ с целью создания на их основе лекарственных препаратов, повышающих эффективность и/или снижающих токсическое воздействие химиотерапии на эритроидный росток кроветворения. Одним из подходов к решению проблемы повышения эффективности цитостатической терапии и снижения ее токсичности является использование в схемах лечения природных соединений, которые в большинстве случаев могут сочетать в себе высокую антипролиферативную активность по отношению к опухолевым клеткам и низкую токсичность для нормальных клеток [Majolo F. et al., 2019]. Перспективным источником биологически активных веществ (БАВ) является арония черноплодная (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), содержащая углеводы, органические кислоты, аминокислоты, минералы, витамины, ароматические соединения и полифенолы. Кроме того, арония богата антоцианами. Известно, что антоцианы, а также другие биологически активные вещества, содержащиеся в различных частях *A. melanocarpa*, обладают широким спектром биологической активности и низкой токсичностью.

**Цель.** Оценить возможность снижения с помощью антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa* токсического действия цитостатика на систему крови у животных с карциномой легких Льюис.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на конвенциональных мышах-самках линии С57В1/6 массой 20-21 г в возрасте 3 мес. 1 категории (сертификат качества №188-05), полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга ТНИМЦ. Карциному лёгких Льюис (LLC) перевивали внутримышечно по  $1 \times 10^6$  клеток в 0,1 мл физиологического раствора. Антоциансодержащий комплекс (АСК) из плодов *A. melanocarpa* получали 95% этанолом, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, методом противоточной многоступенчатой реперколяции с законченным циклом. Согласно результатам количественного определения содержания основных групп БАВ в АСК из *A. melanocarpa* входят антоцианты (5,83±0,25 % на сухой остаток), флавоноиды (3,25±0,20 % на сухой остаток), фенолокислоты (0,27±0,01 % на сухой остаток), катехины (0,24±0,02 % на сухой остаток), органические кислоты (4,70±0,40 % на сухой остаток), аскорбиновая кислота (0,87±0,02 % на сухой остаток). АСК деалкоголизировали на водяной бане, доводили до прежнего объема

дистиллированной водой и вводили мышам внутривентрикулярно в дозе 5 мл/кг ежедневно в течение 9 сут, начиная через 24 часа после инъекции доксорубина. Содержание антоцианов в 5 мл растительного комплекса на 95% этаноле в расчете на сухой остаток составляет 165 мг. В эксперименте использовали доксорубин (Phizer, США). Согласно прилагаемой инструкции, препарат растворяли стерильным физиологическим раствором (из ампул заводской фасовки) и вводили внутривентрикулярно животным с LLC на 10 сут после перевивки опухоли в дозе 6 мг/кг. В качестве препарата сравнения был выбран эпоэтин бета (Рекормон, «Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцария), который вводили животным подкожно в дозе 10 Ед/мышь, начиная с 9 сут после перевивки опухоли в течение 5 сут. Показатели периферической крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит) определяли на 3, 5, 7 сут после введения доксорубина мышам с опухолью (что соответствует 13, 15, 17 сут после перевивки опухоли), а также у животных интактного контроля с помощью гематологического анализатора Mythic 18 vet («Orphee», Швейцария). На эти сроки эксперимента исследовали мазки для подсчета ретикулоцитов и клеток костного мозга, полученные стандартными гематологическими методами. Содержание эритроидных предшественников (КОЕ-Э) и оценка эритропоэтической активности (ЭПА) в костном мозге мышей определяли методом клонирования *in vitro* на 3, 5, 7 сут после инъекции цитостатика (что соответствует 13, 15, 17 сут после перевивки опухоли). Миелокарициты культивировали стандартными методами. Тестирование эритропоэтической активности проводили микрометодом в 96-луночных пластиковых планшетах («Corning», США). После инкубации подсчитывали число эритроидных колониеобразующих единиц (КОЕ-Э). Обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона-Манна-Уитни (U) (Microsoft Excel (2007) и SPSS Statistics 17.0 (IBM, США)). Отличия между группами считали достоверными при  $p < 0.05$ . Результаты выражали как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $M \pm m$ ).

**Результаты.** Развитие LLC привело к подавлению костномозгового кроветворения. На 13 и 15 сут эксперимента развитие опухоли приводит к достоверному снижению базофильных и полихроматофильных нормобластов. Также на 15 сут наблюдалось уменьшение количества эритробластов в 1,7 раза ( $P < 0,05$ ) в костном мозге животных с опухолью. При изучении колониеобразующей способности клеток костного мозга показано, что развитие LLC на 13, 15, 17 сут эксперимента привело к достоверному увеличению содержания КОЕ-Э (в 5,6; 23,0; 12,5 раза соответственно). Также было отмечено увеличение ЭПА миелокарицитов. Отражением состояния костномозгового кроветворения явилась картина периферической крови. Так на фоне развития LLC у животных наблюдалось достоверное снижение количества ретикулоцитов. На 3, 5 сут после однократной инъекции доксорубина отмечались отчетливые признаки дополнительного подавления костномозгового кроветворения. Максимальное падение клеточности костного мозга регистрировалась на 5 сут: общее количество карицитов снизилось в 1,8 раза ( $P < 0,01$ ). Использование цитостатика привело к развитию депрессии эритроидного ростка кроветворения: на 3 сут после инъекции препарата число полихроматофильных нормобластов уменьшилось в 1,4 раза ( $P < 0,05$ ). На 5 сут отмечено достоверное снижение количества эритробластов в 1,8 раза, пронормобластов – в 1,4 раза, а также базофильных и полихроматофильных нормобластов в 1,9 и 2,0 раза соответственно. При изучении количества клеток-предшественников эритропоэза в костном мозге мышей с LLC, получавших доксорубин, выявлено достоверное снижение уровня КОЕ-Э на 3, 5 и 7 сут после инъекции цитостатика. На 3 и 7 сут после введения доксорубина животным с опухолью наблюдалось увеличение продукции эритропоэтической активности неадгезирующими клетками. При анализе показателей эритропоэза в периферической крови животных, получавших цитостатик, наблюдалась схожая картина. Добавление в схему химиотерапии рекормона оказало восстановительное действие на эритроидный росток кроветворения, угнетенный цитостатиком. При использовании антоцианосодержащего комплекса из *A. melanocarpa* на фоне введения доксорубина наблюдалась ускоренная регенерация костномозгового кроветворения. На все сроки эксперимента отмечалось



повышение общей клеточности костного мозга по сравнению с показателем в получавшей цитостатик группе. Исследование миелограмм показало, что растительный комплекс стимулирует процессы восстановления эритроидного ростка гемопоэза. Так, содержание эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов в костном мозге в группе мышей, получавших растительный комплекс, на 3-7 сут превосходило значения в группе получавших доксорубин животных, достигая максимальной разницы на 5 сут эксперимента. На 5 и 7 сут после использования доксорубина отмечено увеличение числа пронормобластов в 1,9 и 1,7 раза соответственно ( $P < 0,05$ ). При введении антоцианосодержащего комплекса на фоне доксорубина наблюдалось достоверное увеличение выхода КОЕ-Э в 2,6 и 1,7 раза на 5 и 7 сут соответственно после введения доксорубина. При изучении ЭПА отмечена на 7 сут стимуляция продукции эритропоэтической активности адгезирующими клетками костного мозга у мышей с LLC, получавших растительный комплекс совместно с цитостатиком. Аналогичная картина наблюдалась при анализе показателей эритропоэза в периферической крови животных. Так при курсовом назначении животным растительного комплекса отмечено повышение числа ретикулоцитов в 1,7; 1,6 и 1,7 раза на 3, 5 и 7 сут относительно этого показателя у мышей группы монокимиотерапии. Рост количества эритроцитов в периферической крови животных с опухолью на фоне дополнительной терапии зафиксирован на 5 сут после введения доксорубина в 1,1 раза.

**Заключение.** Проведенные эксперименты показали наличие у антоцианосодержащего комплекса из *A. melanocarpa* способности преимущественно стимулировать процессы регенерации костномозгового эритропоэза, подавленного доксорубином, что выражалось в увеличении содержания эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов в костном мозге, эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови экспериментальных животных с опухолью в период постцитостатического восстановления. Возможный механизм действия растительного комплекса связан с его стимулирующим влиянием на синтез клетками микроокружения гуморальных факторов.

#### **Литература.**

1. Iwamoto T. Clinical application of drug delivery systems in cancer chemotherapy: review of the efficacy and side effects of approved drugs. *Biol. Pharm. Bull.* 2013; 36 (5):715-718.
2. Ларионова В.Б., Крысанов И.С., Снеговой А.В. и др. Рациональная тактика поддерживающей терапии анемии, индуцированной химиотерапией: фармако-экономический анализ применения эритропоэз-стимулирующих препаратов у пациентов с онкологическими заболеваниями в условиях здравоохранения Российской Федерации. *Онкогематология.* 2018;13(2):48–61.
3. Majolo F., de Oliveira Becker Delwing L.K., Marmitt D.J., Bustamante-Filho I.C., Goettert M.I. Medical plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: Important advances for drug discovery. *Phytochem. Lett.* 2019;31:196–207. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.04.003>

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ 4-R-2-ГИДРОКСИ-4-ОКСО-2-БУТЕНОВЫХ КИСЛОТ

Ф.В. Собин<sup>1\*</sup>, Н.А. Пулина<sup>1</sup>, А.И. Краснова<sup>1</sup>, С.С. Зыкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, г. Пермь, Россия  
e-mail: fff-2005@mail.ru

**Ключевые слова:** производные 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот, антигипоксическая активность.

**Введение.** Ранее нами показано, что производные 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых отличаются высокой реакционной способностью, разнообразием химических

превращений и являются удобными конструкционными блоками в комбинаторном синтезе. Нами получены перспективные потенциальные фармацевтические субстанции с широким спектром фармакологического действия. Обнаружены соединения с выраженными антикоагулянтным, гипогликемическим, противовоспалительным и другими биологическими эффектами на уровне и выше препаратов сравнения. Они могут быть предложены для дальнейшего углубленного изучения. Интересным представляется исследование возможного сопутствующего антигипоксического действия данных лекарственных кандидатов.

**Цель.** Изучить антигипоксическую активность потенциальных фармацевтических субстанций в ряду производных 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот, а также установить факторы, связывающие структурные особенности синтезированных соединений с биологической активностью.

**Материалы и методы.** Антигипоксическую активность изучали на модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией на белых нелинейных мышах весом 18-20 г. Исследуемые соединения в виде суспензии или раствора вводили однократно внутривентриально в дозе 50 мг/кг за 30 минут до помещения животного в модельные условия. Контролем выступает группа животных, которым вводили 2 % раствор крахмала. В качестве препарата сравнения использовали Мексидол в дозе 50 мг/кг, который также вводили внутривентриально. Результаты фармакологических исследований обработаны статистически с применением t-критерия Стьюдента и дисперсионного анализа. Различия в данных считали достоверными при уровне  $p < 0,05$  для всех значений представленных в обзоре. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась при помощи программы Sigma Stat 3.5, а также статистических программ Windows XP (Excel).

**Результаты.** Выявлено, что все исследованные вещества обладают антигипоксическим действием, 4 сопоставимы по выраженности эффекта с мексидолом, 2 превышают активность препарата сравнения.

**Заключение.** Изучена антигипоксическая активность потенциальных фармацевтических субстанций в ряду производных 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот. Установлено наличие данного фармакологического эффекта. Обнаружены некоторые закономерности химического строения соединений от выраженности биологического действия. Таким образом, дальнейшие доклинические исследования в ряду производных 4-R-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот необходимо продолжить.

#### **Литература.**

1. Пулина Н.А., Собин Ф.В., Краснова А.И. Поиск отечественных фармацевтических субстанций в ряду металлокомплексов на основе (гет)ариламинов 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот. *Координационная химия*. 2023;49(10): 644-650 DOI: 10.31857/S0132344X23600182
2. Старкова А.В., Карпенко Ю.Н., Сыропятов Б.Я., Собин Ф.В., Пулина Н.А. Изучение влияния концентрации в крови 4-хлорфенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноата тиазолиаммония на антикоагулянтный эффект при подкожном введении. *Пермский медицинский журнал*. 2018;35(1): 88-94 DOI: 10.17816/pmj35188-94
3. Pulina N.A., Sobin F.V., Yushkova T.A., Novikova V.V. Reactions of 4-aryl-n-hetaryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enamides with hydroxylamine and biological activity of the products. *Russian Chemical Bulletin*. 2019;68(3): 628-633 DOI: 10.1007/s11172-019-2466-7
4. Sobin F.V., Pulina N.A., Lipatnikov K.V., Starkova A.V., Yushkova T.A., Naugol'nykh E.A. Synthesis and hemostatic, anti-inflammatory, and anthelmintic activity of 2-hydroxy-4-oxo-4-(thien-2-yl)but-2-enoic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2021;54(10): 1003-1007 DOI: 10.1007/s11094-021-02310-6
5. Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. Руководство по доклиническому исследованию лекарственных средств. М.: Гриф; 2012. 440 с.

# ОСТЕДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЫ ММСК И МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ IN VITRO В ПРИСУТСТВИИ ТРЕХМЕРНОГО ИСКУССТВЕННОГО МАТРИКСА, ИМИТИРУЮЩЕГО РЕГЕНЕРИРУЮЩУЮ КОСТНУЮ ТКАНЬ

К.А. Юрова, О.Г. Хазиахматова, В.В. Малащенко, О.Б. Мелащенко, Д.Д. Лигатюк,  
П.А. Иванов, И.А. Хлусов, Л.С. Литвинова\*  
Центр иммунологии и клеточных биотехнологий  
Балтийского федерального университета им. И. Канта, г. Калининград, 236041;  
e-mail: larisalitinova@yandex.ru

**Ключевые слова:** костная ткань, регенерация, остеодифференцировка, ММСК, моноклеарные клетки крови.

**Введение.** Кость представляет собой динамичную и метаболически активную ткань, которая непрерывно обновляется у здоровых людей при участии, в значительной степени, иммунной системы. Любое нарушение баланса между процессами остеобразования и остеорезорбции приводит к воспалительным заболеваниям костной ткани. В последнее время многие исследования продемонстрировали сложные взаимодействия между иммунной и скелетной системами. Выявлено, что иммунные клетки и секретируемые ими биологически активные медиаторы способствуют регуляции костного гомеостаза: иммунная микросреда имеет решающее значение в определении скорости и исхода заживления, восстановления и регенерации кости. Костные клетки (в том числе остеобласты, остеокласты, остециты), в свою очередь, влияют на клеточные функции иммунных клеток [1].

**Целью** настоящей работы явилось выявление роли иммунного микроокружения в регенерации костной ткани в контексте изучения механизмов продуктивной/эффективной кооперации иммунных клеток, секретируемых ими цитокинов с одной стороны и основных участников регенерации костной ткани - ММСК, с другой.

**Материалы и методы.** Для реализации настоящего эксперимента были проведены исследования на границе раздела фаз живой/неживой материи, что имитировало систему «регенерирующая кость/кровотворное микроокружение». Был проведен цикл исследований, разделенных во времени, на пластиковой поверхности (2D-модель культивирования) и в присутствии трехмерных искусственных матриксов, имитирующих регенерирующую костную ткань (3D-модель культивирования).

В качестве нормальных иммунокомпетентных клеток, используемых для имитации модели физиологической регенерации in vitro, использовали моноклеарные лейкоциты (МНК). Выделение МНК из лейкоцезви здоровых доноров проводилось стандартным методом центрифугирования на градиенте плотности фиколл-урографин («Pharmacia», Швеция) ( $\rho=1,077$  г/см<sup>3</sup>). Разрешение на проведение исследования получено в локальном этическом комитете Инновационного парка БФУ имени И. Канта (№5 от 16 мая 2016 г.).

ММСК выделялись из липоаспирата человека (Разрешение №1 от 28.02.2019 г. локального этического комитета БФУ имени И. Канта) как описано [2].

Титановые подложки из коммерчески чистого титана ВТ1.0, размером 10x10x1 мм<sup>3</sup> и индексом шероховатости (Ra) 2-3 мкм, используемые для имитации in vitro состояние трехмерной (3D) культуры, имели двухстороннее покрытие из фосфатов кальция, нанесенное методом микродугового оксидирования на установке Microarc-3.0 (Институт физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск) в анодном режиме [3].

Культивирование МНК, ММСК и смешанных культур проводили в полной питательной среде (ППС). ППС состояла из  $\alpha$ -МЕМ («Sigma-Aldrich», США), 10% инактивированной (56°C в течение 30 мин) сыворотки крови эмбрионов коров («Sigma-Aldrich», США), 2мМ/л L-глутамин («Sigma-Aldrich», США), 100 Е/мкг/мл пенициллин/стрептамицин («Gibco Life Technologies», США). Культивирование

проводилось в течение 48 часов/14 суток при 37<sup>0</sup>С, во влажной атмосфере, содержащей 5% CO<sub>2</sub>.

В качестве контрольных моделей использовали монокультуру МНК на пластике (2D), 3D-монокультуру МНК, ММСК на пластике (2D), 3D-монокультуру ММСК.

Количественное определение факторов роста, про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxin, FGF, G-CSF, GM-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1a, PDGF-bb, MIP1b, RANTES, TNF- $\alpha$ , VEGF) в супернатантах исследуемых культур клеток проводилось методом проточной флюориметрии на автоматизированном анализаторе (Bio-Plex Protein Assay System, «Bio-Rad», США) с использованием коммерческих тест-систем (Bio-PlexProHuman cytokine Group I Assays, «Bio-Rad», США).

Оценка остеодифференцировочного потенциала проводилась методом цитологического окрашивания ализариновым красным после 21-суточного культивирования культур. По истечении 21 дня культивирования исследуемые культуры дважды отмывали фосфатным солевым буфером. Адгезированные клетки оставляли сушиться на воздухе, затем фиксировали в парах формалина и окрашивали 2% водным раствором ализаринового красного S (Sigma-Aldrich, США) для оценки минерализации межклеточного матрикса согласно инструкции фирмы-производителя. Негативным контролем дифференцировки служила двумерная 2D контрольная культура ММСК в стандартной ППС. Фотографии окрашенных ализариновым красным культур получали с использованием программного обеспечения («Olympus Corporation», Филиппины) на лабораторном биологическом микроскопе для фазового контраста и документирования IX 51 S8F. Морфометрическое исследование окрашенных культур ММСК проводили с использованием программного обеспечения Image-J Software (National Institutes of Health, США). Очаги минерализации межклеточного матрикса на микрофотографиях выделяли с помощью инструмента «Threshold». Для каждой микрофотографии индивидуально подбирался допуск инструмента, согласно цветовой характеристике минерализата. После проведения измерений, площадь общей минерализации всех микрофотографий (мм<sup>2</sup>/см<sup>2</sup>) заносили в таблицу для проведения дальнейшего статистического анализа.

Определение экспрессии мРНК исследуемых генов, ассоциированных с остеодифференцировкой ММСК (*BMP2*; *BMP6*; *RUNX2*; *SMURF*; *TBX*; *ALPL*; *BGLAP*) проводили с методом полимеразной цепной реакции на амплификаторе CFX96 («Bio-Rad», США).

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы IBM SPSS Statistics 20 (Statistical Package for the Social Sciences).

**Результаты.** По результатам исследования смешанной двумерной (2D) культуры ММСК и МНК на пластике было выявлено достоверное увеличение уровня концентрации многих исследуемых цитокинов, по сравнению с 2D-культурой МНК ( $p < 0,05$ ).

Анализ смешанной культуры ММСК и МНК в присутствии трехмерных матриксов, имитирующих регенерирующую костную ткань, позволил выявить резкое повышение продукции всего спектра изучаемых цитокинов по сравнению как с 2D, так и 3D-культурой МНК ( $p < 0,05$ ).

Оценка генов остеодифференцировки по истечении 14 суток культивирования показала достоверные изменения в уровне экспрессии мРНК генов при сокультивировании МНК и ММСК в присутствии трехмерного матрикса, имитирующего регенерирующую костную ткань.

Окрашивание ализариновым красным на 21 сутки культивирования выявило значительный рост очагов минерализации в смешанной культуре клеток МНК и ММСК в присутствии трехмерных имплантатов, имитирующих регенерирующую костную ткань в сравнении с 2D-культурой ММСК, 3D-культурой ММСК, а также смешанной 2D-культурой ММСК (рис. 1).

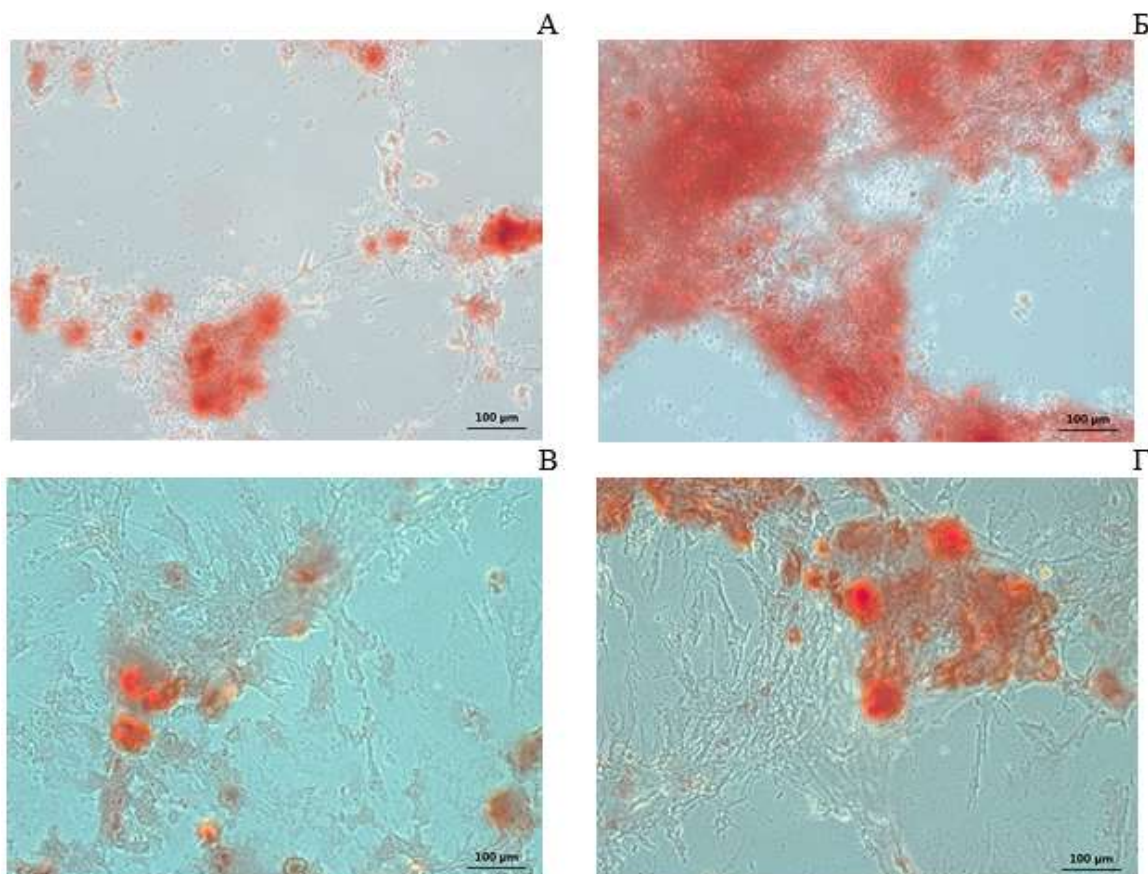


Рисунок 1. Характерное на 21 сутки состояние смешанной гомеостатической 2D-культур (А) и 3D-культур (Б) ММСК+МНК, моно 2D-культур (В) и 3D-культур (Г) ММСК. Окраска ализариновым красным. Линейка – 100 мкм.

**Заключение.** Таким образом, выявлено влияние иммунного микроокружения на повышение остеодифференцировочного потенциала смешанной культуры ММСК и МНК в присутствии трехмерного матрикса, имитирующего регенерирующую костную ткань, что свидетельствует о важной роли иммунного микроокружения в регенерации костной ткани.

*Исследование выполнено при поддержке Государственного задания (FZWM-2020-0010).*

**Литература.**

1. Yang N., Liu Y. The Role of the Immune Microenvironment in Bone Regeneration. *Int. J. Med. Sci.* 2021; 18 (16): 3697-3707. doi: 10.7150/ijms.61080.
2. Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., Huang J., Futrell J.W., Katz A.J., Benhaim P., Lorenz H.P., Hedrick M.H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *TissueEng.* 2001; 7 (2): 211—228.
3. Legostaeva E.V., Kulyashova K.S., Komarova E.G., Epple M., Sharkeev Y.P., Khlusov I.A. Physical, Chemical and Biological Properties of Micro-arc Deposited Calcium Phosphate Coatings on Titanium and Zirconium–Niobium Alloy. *Materialwisswerkst.* 2013;44(2–3): 188—197.

# DEVELOPMENT OF NEW DRUGS BASED ON TEMOZOLOMIDE ANALOGUES FOR CHEMOTHERAPY OF MALIGNANT NEOPLASMS USING CELLULAR TECHNOLOGIES

A. H. Al-Humairi

Volgograd State Medical University, Volgograd Russian Federation  
ahmed.h.mneahil@gmail.com

**Keywords:** breast cancer, cytotoxic activity, methyl tetrazolium test

**Introduction.** The relevance of the work is due to the wide spread of oncological diseases and high mortality from them, which dictates the need to constantly obtain and research substances with potential antitumor activity, including for chemotherapy of metastatic breast cancer.

The search for new substances with antitumor activity is of great importance. Previously well-acting drugs are becoming less effective and are being phased out. For possible further use of these drugs, their derivatives are created. At one of its stages, the analysis of cytotoxic effects is supposed.

Despite the fact that many approaches are used to treat cancer, including surgical and radiation, chemotherapy is actively used at all stages of cancer treatment, including as part of combined regimens. For metastatic cancer, chemotherapy becomes the method of choice.

Epirubicin is cytotoxic both in vitro and in vivo for breast cancer and other human tumor cells, and cell death increases with increasing drug concentration.

Currently, there are more than 100 anticancer drugs, but most of them are insufficiently effective, and the spectrum of oncological diseases sensitive to chemotherapy is limited.

Therefore, it is important both to study the nature of oncological diseases and to create new antitumor drugs.

Cultured cells are the most widely used of the model systems, despite their insufficient ability to reflect many aspects of drug behavior in the human body.

Cell lines seem to be a key element for the molecular diagnosis of cancer, as they can be widely used in many aspects of cancer research and improving the effectiveness of various approaches to its treatment.

Tumor cell lines have been the impetus for the development of breast cancer research since the early 1970s, when the MCF-7 line and the MD Anderson series were first created. Since then, the number of tumor cell lines available to cancer researchers has increased dramatically.

The MCF-7 cell line, admittedly, is a universal option for screening studies of new antitumor substances with a very different spectrum of action.

MCF-7 is a transferable line of human breast cancer tumor cells. The first cell culture was obtained in 1973.

Currently, MCF-7 is the most popular line for the study of cytotoxicity of antitumor compounds and molecular features of the course of breast cancer.

The cells have an epithelial-like structure, express estrogen receptors, and can synthesize estradiol, which makes them optimal targets for studying receptors and chemotherapy. MCF-7 lines form monolayer cultures with a survival rate of up to 95% and a confluence of up to 100% due to the preservation of the ability to reproduce.

Clinical trials are indispensable as a scientific testing ground for antitumor therapy. But complex clinical trials are extremely expensive and difficult to perform for logistical, regulatory, legal and ethical reasons. So, inevitably, the scientific community needs model systems to study the molecular basis of the action of drugs and other aspects of cancer biology that cannot be studied in humans.

The development of new drugs for chemo- and targeted therapy gives real hope for reducing mortality from this disease. A significant role in improving the treatment of breast cancer was

played by in vivo studies (trials of potentially effective antitumor effects on a living organism), which is an intermediate step between in vitro systems and clinical studies.

Promising and effective means may be chemicals synthesized on the basis of the most popular analogues of temozolomide. Already studied representatives of this group are alkylating agents and are widely used in chemotherapy of tumors. To date, more than 30 derivatives of substances have been synthesized, varying in chemical structure to one degree or another, but having prospects for use as antitumor agents.

Based on the above, it seems promising to conduct a screening assessment of the potential cytotoxic activity in vitro for a group of compounds of the analogues temozolomide class under consideration using cellular technologies.

**The aim of the work** is to evaluate the anticancer activity of new based on temozolomide analogues using cell models.

**Materials and methods.** In preclinical trials of pharmacological compounds, there is a mandatory phase – a cytotoxicity test conducted on cell culture in vitro. The MTT test, as well-tested, reproducible and sufficiently acceptable from the point of view of labor intensity and economic costs, assesses the effect on the proliferative activity of the culture or cytotoxic effects leading to death. In various modifications of the test, regardless of the method or the dye, the viability of the cells and their number, which remained at the end of the experiment, are evaluated.

For the in vitro model, cytotoxicity on temozolomide analogues was assessed using computerized flow cytometry in comparison with solutions of anticancer drugs of the same concentration in cell cultures. Epirubicin, which is widely used in breast cancer chemotherapy, was used as a reference drug. For toxicological studies, it is advisable to use 3 tumor cells and 1 normal cell to study the general and specific cytotoxicity of compounds with potential antitumor activity.

Various modifications of the cytotoxicity test require the addition of the desired reagent to the culture of viable cells to convert the substrate into a colored or fluorescent product that can be detected with a spectrophotometer. This distinction serves as the basis for many widely used cell viability tests.

Solution for the MTT test.

100 mg MTT was dissolved in 40 ml physiological saline (5 mg/ml) followed by incubation for a day. Then the solution was filtered and stored at +4°C in a place protected from light. It was taken into account that the solution is stable for at least a month.

Cell culture techniques

The cells culture was plated into a flask, in which, after incubation, the required cell concentration was recruited, sufficient for subculture onto a 96-well plate. The cells have grown to a monolayer. Then the substances were guided and diluted to the required concentrations.

The entire medium was carefully removed from the wells of the plate without touching the cells. Following the markings prescribed in the protocol, the substances were added to the plate. In addition, the plate contained: negative control (c-): solvent 1% DMSO and positive control (c +): (10% DMSO).

After adding the substances to the wells, the plate was incubated for 1 hour. Then the solutions were completely removed from the wells, followed by the addition of MTT.

To stain the cells, the plate is placed in an incubator for 2 hours. At the end of this period, the solutions in the wells were replaced with a 96% DMSO solution, dissolving the formazan crystals. Incubated at room temperature for 5 minutes, after which the optical density was measured. Using a spectrophotometer, the absorbance of each well was determined at 530 nm by subtracting the measured background absorbance at 620 nm.

After receiving the results of the MTT test, they were analyzed and graphs of the survival of breast cancer cells by IC50 were performed. For this, the following programs were used: Excel and Origin; statistical processing of the results was carried out in Statistica. .

**Results.** The work is devoted to determining the cytotoxic activity of new temozolomide analogues in order to establish the potential possibility of their use as antitumor agents for chemotherapy of metastatic cancer. The relevance of the work is due to the widespread spread of

oncological diseases and high mortality from them, which dictates the need to constantly obtain cell lines and improve cultivation protocols for testing new antitumor drugs and obtaining new information about cancer chemistry.

The study showed that the selected derivatives have high cytotoxicity against tumor cells, but very low – against normal cells, which further indicates the potential prospects of these compounds.

On the other hand, the presence of even minor cytotoxicity indicates potential side effects of these compounds if used as anticancer drugs, which will require separate studies within preclinical trials.

**Conclusion.** Cell technologies of tumor cell lines have become even more powerful with the advent of next-generation sequencing technology. The availability of this technology has led to the formation of several large-scale sequencing initiatives, and they have generated a huge amount of practical data.

Some of the most effective treatment options available today exist only because researchers have been able to identify the mechanism of the disease using an in vitro culture system and develop targeted therapy. The data obtained can be used as a basis for selecting compounds for further study of their genotoxic and metabolic properties in cell models as substances with antitumor activity.

The development of medical biotechnology and advances in the field of targeted synthesis of organic compounds with predicted properties have become the basis for a new era in the development and implementation of modern chemotherapeutic agents.

#### **References.**

1. Al-Humairi A.H., Speransky D.L., Sadchikova E.V. Synthesis and cytotoxic activity of new azolotriazines studied on cell cultures. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 2022;56(6):17-22. DOI: 10.30906/0023-1134-2022-56-6-17-22 (In Russ.).

2 Ahmed H. Al-Humairi. Targeted drug delivery systems in chemotherapy for breast cancer // *Bulletin of the Volgograd State Medical University*. 2021; (77): S. 12-

3. Al-Humairi, A.H, Improvement of cellular technologies for solving the problem of chemoresistance in chemotherapy of malignant tumors of the breast // Humanitarian and biomedical education: problems, prospects, integration: collection of materials of the Anniversary scientific and practical conference with international participation. - Stavropol: Publishing House of the Stavropol State. honey. un-ta, 2021. - S. 274-279.



# ВОСЬМАЯ МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ СНГ МГО ПО ГУМИНОВЫМ ИННОВАЦИОННЫМ ТЕХНОЛОГИЯМ (НИТ- 2023) «ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА И ФАРМАЦИЯ»

## Гуминовые вещества как сложные системы

### APPROACHES TO THE STANDARDIZATION OF HUMIC ACIDS OF LOW-WOODY GRASS PEAT

L.A. Azarkina\*, M.V. Zyкова, M.V. Belousov  
Siberian State Medical University Tomsk, Russian Federation  
e-mail: ludmila\_logvinova@mail.ru

**Keywords:** humic acids, peat, physicochemical methods.

**Introduction.** Over the past decades, the observed phenomena (demographic aging, an increase in the frequency of deadly pandemics and epidemics, an increase in the number of adherents of self-medication against the backdrop of low availability of medical care, socio-economic disasters, and many others) have provoked a sharp increase in consumer demand for synthetic drugs. In turn, this led to an increase in cases of drug allergies and toxic load on the body, an aggravation of the “carbon footprint” situation due to high raw material costs, and pharmaceutical pollution of the environment.

For these reasons, the search for substances with high therapeutic activity and the creation on their basis of drugs produced according to environmentally friendly schemes and at the lowest economic costs is an urgent task. With a high degree of confidence, it can be argued that humic acids (HA) meet these requirements. Firstly, they can be obtained from renewable raw materials, such as peat, coal, sapropels, the reserves of which are huge on the planet. Secondly, the process of their extraction does not require complex equipment and is not associated with the use of toxic organic solvents and ingredients. Thirdly, HA have a systemic effect and at the same time are able to exhibit immunomodulatory, anti-inflammatory, antioxidant, antihypoxant, and many others. other types of actions, i.e. when they are taken, it is possible to simultaneously implement etiotropic, pathogenetic or symptomatic therapy. Moreover, according to the toxic effect on the body, they are classified as hazard class V low-hazard substances. Thus, the creation of drugs based on HA and their introduction into civilian circulation can contribute to the successful treatment of a number of diseases.

**Aim.** Therefore, the aim of the study was to develop optimal and affordable methods for establishing the authenticity, quality and quantification of HA.

**Materials and methods.** HAs isolated from a low-lying woody-herbaceous peat species (peat deposit - Tagan, Tomsk region; production method - threefold alkaline extraction, extractant - 0.1 M NaOH solution, HA precipitation – 10% HCl solution) were chosen as the material of the study; authentication and quality assurance by means of: 1) spectroscopy in the UV- and visible region (wavelength range 190-800 nm; spectrophotometer PE-5400 UV, Russia; cuvette optical path length – 1 cm); 2) IR spectroscopy (IR-Fourier spectrometer FSM 2201, Russia; wave number range 500-4000 cm<sup>-1</sup>; pressing in tablets with KBr in the ratio KBr:HA=1:100); 3) the content of the main constitutional elements (C, H, N) elemental analyzer CHNS Flash 2000, UK: oxygen calculation - by difference; 4) quantitative analysis of the molecular weight distribution of the chromatographic system Dionex Ultimate 3000.

**Results.** HA obtained by alkaline extraction is a dark powdery product, odorless, non-hygroscopic, insoluble in water, soluble in alkalis. The electronic spectrum of the studied compounds has a shape typical of all HAs of natural origin: there are no clear maxima on it, and a sharp drop in optical density is observed with increasing wavelength. The color coefficient calculated on the basis of UV spectroscopy data, which has a low value, indicates a low degree of condensed peat HA. The IR spectrum of HA from a lowland woody-herbal peat species is also typical for compounds of this class and allows us to confirm the presence of a large number of O-containing functional groups. In the IR spectrum of HA, characteristic absorption bands are observed: at wavelengths of 3500-3300  $\text{cm}^{-1}$  (hydroxyl-containing compounds), 2920  $\text{cm}^{-1}$ , 1460-1440  $\text{cm}^{-1}$ , 700-900  $\text{cm}^{-1}$  (long methylene chains), 2860  $\text{cm}^{-1}$  (methyl terminal groups), 1725-1700  $\text{cm}^{-1}$  (carbonyl-containing fragments), 1625-1610  $\text{cm}^{-1}$ , 1510-1500  $\text{cm}^{-1}$ , 1390-1400  $\text{cm}^{-1}$  (aromatic structures), 1250-1225  $\text{cm}^{-1}$  (simple and ester), 1050-1150  $\text{cm}^{-1}$  (CO - sugar fragments). The presence of functional groups was quantified based on the ratios of the optical densities of the absorption bands of oxygen-containing groups (1225  $\text{cm}^{-1}$ ) to the optical densities corresponding to aromatic polyconjugated systems (1610  $\text{cm}^{-1}$ ) and aliphatic substituents 2920  $\text{cm}^{-1}$ . It was determined that aromatic fragments predominate over aromatic and O-containing groups. The mass fraction of the main constitutional elements (carbon, hydrogen, oxygen and nitrogen), established on the basis of elemental analysis, is within the limits established for this class of natural biopolymers. The high H/C ratio confirms the IR spectroscopy data; the presence of a pronounced aromatic polycondensed core. The calculated value of the C/N ratio confirms that HAs are enriched with nitrogen, which is found mainly in the composition of protein and peptide fragments. An analysis of the HPLC chromatogram (curve type) and a number of values calculated on its basis (number average molecular weight, weight average molecular weight, polydispersity) made it possible to judge the polydisperse high molecular nature of HA isolated from peat. For the quantitative determination of HA, the calibration curve method in the UV region ( $\lambda=465$  nm) was used. The chosen method showed good convergence of the results of the determination, reproducible in time and observance of a linear dependence at a concentration of HA in the solution from 5 to 100 %.

**Conclusion.** Thus, the integral parameters of the peat HA structure include the following indicators: the profile of absorption bands in the UV, visible and IR regions, obtained on the basis of absorption spectroscopy, the mass fractions of elements and their atomic ratios according to elemental analysis, and the differential parameters - the color coefficient, the ratio of optical densities of absorption bands according to UV and IR spectroscopy data, respectively, as well as the molecular weight distribution according to HPLC data. Molecular spectroscopy at a wavelength of 465 nm is the optimal method, which makes it possible to determine the quantitative content of HA in the concentration range of 5-100 % with high accuracy.

#### **References.**

1. Prozherina J. Pharmaceutical waste as a new environmental issue. *Remedium*. 2017; 11: 14-19. DOI: 10.21518/1561-5936-2017-11-14-19.
2. Zhyrnov B.S., Khajbullin A.A., Sychkov P.A., Kulembetov D.F., Tagirov M.A. Kinetics of extraction of humin acids from brown coal from Tulganskoe deposit. *Bashkirskij himicheskij zhurnal*. 2009; 16(2): 169-172.
3. Zykova M.V., Logvinova L.A., Belousov M.V. High-molecular-weight compounds of humic nature – promising bioactive compounds. *Traditional Medicine*. 2018; 2 (53): 27-38.
4. Zykova M.V., Trofimova E.S., Krivoshchekov S.V., Ligacheva A.A., Danilets M.G., Logvinova L.A., Zholobova G.A., Prishchepova O.F., Yusubov M.S., Belousov M.V. Spectral parameters and biological activity of macromolecular compounds of humic etiology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (1): 36–49. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-1-36–49.

# АНАЛИЗ ФУЛЬВОКИСЛОТ ВОДЫ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Д.С. Волков\*, И.В. Перминова  
Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия  
e-mail: dmsvolkov@gmail.com

**Ключевые слова:** гуминовые вещества, фульвокислоты, орбитрэп, обращенно-фазовая хроматография

**Введение.** Гуминовые вещества представляют собой чрезвычайно сложную смесь природных органических молекул, для анализа которой требуются самые высокоинформативные методы. Такими являются методы хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. В случае гуминовых веществ для детектирования необходимо применение масс-спектрометров высокого разрешения (500 000 и выше) таких как масс-спектрометры ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (МС-ИЦР ПФ) или на основе орбитальной ловушки ионов (орбитрэп). В последние несколько лет ряд исследователей продемонстрировали значительные преимущества в количестве идентифицируемы брутто-формул, которые дает применение хромато-масс-спектрометрии для растворенного органического вещества [1-3].

**Цель.** В данной работе продемонстрировано применение обращенно-фазовой хроматографии в сочетании с орбитальной ловушкой ионов для анализа фульвокислот воды. Орбитальная ионная ловушка в отличие от МС ИЦР-ПФ гораздо более доступна и используется во многих лабораториях в том числе для исследовательского анализа новых фармацевтических субстанций.

**Материалы и методы.** В качестве объекта анализа использовали коммерчески доступный образец фульвокислот воды Fulvagra WSG 90 (Humintech GmbH, Германия). Из образца готовили раствор в воде с концентрацией 100 мг/мл, который перед вводом в колонку центрифугировали (16000 об/мин, 10 мин).

Хромато-масс-спектрометрию высокого разрешения (МСВР) проводили с использованием комплекса в составе хроматографа Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Германия), оснащенного автосамплером, термостатом колонок и диодно-матричным-детектором и тандемного масс-спектрометра Orbitrap Elite (Thermo Scientific, Германия) с разрешением 480 000 при  $m/z$  400. Ионизацию образцов проводили в режиме электрораспыления с генерацией отрицательных ионов. Спектры регистрировали с максимально доступным номинальным разрешением 480000 (при  $m/z$  400). Настройки системы автоматического контроля усиления (AGC): полное сканирование  $10^6$  ионов.

Напряжение на капилляре источника ионизации электрораспылением 3.20 кВ, температура испарительного капилляра 275 °С. Диапазон регистрируемых  $m/z$  составлял от 120 до 800. Перед измерениями масс-спектрометр калибровали по массам с помощью калибровочных растворов Pierce™ ESI Negative Ion (Thermo Scientific, США) и Pierce™ ESI Positive Ion (Thermo Scientific, США), кроме того, использовали внутреннюю калибровку lock-массой 212.075074, соответствующей иону *n*-бутил бензолсульфонамида. Это позволило снизить погрешность определения масс до уровня 1 ppm.

Разделение проводили на колонке YMC-Pack ODS-AQ (YMC, Япония) в режиме градиента 0.01 об.% HCOOH в воде – MeOH от 10 до 100 об.% со скоростью 100 мкл/мин. Объем ввода составлял 2 мкл. Температура термостата составляла 30°C. Спектры поглощения регистрировали с помощью диодно-матричного детектора в диапазоне 220–700 нм с частотой 10 Гц. Обработку данных проводили

Полученные масс-хроматограммы разделяли на относительно узкие области, внутри которых проводили усреднение спектров и получение масс-листов. Для этой обработки использовали коммерческое программное обеспечение FreeStyle версии 1.8 SP2 (Thermo Scientific, США). Далее полученные масс-листы обрабатывали с использованием ранее разработанного программного обеспечения NOMHSMS [4].

**Результаты.** Типичный вид обращенно-фазовой хроматограммы, построенной по полному ионному току масс-спектрометра Орбитрэп (вверху) и по полному поглощению в диапазоне 220–700 нм, зарегистрированного диодно-матричным детектором (внизу) образца *Fulvarga* изображен на рисунке 1. Хорошо видно, что хроматограмма состоит из двух областей, отвечающих слабоудерживаемым соединениям, элюируемым в начале элюентом с малым содержанием метанола (40–120 мин), и сильноудерживаемым, относительно гидрофобным соединениям, элюируемым 60–100% метанолом (120–260 мин). Кроме того, видно, что хроматограммы, построенные по полному ионному току и по полному поглощению различаются. Хорошо ионизируемая фракция фульвокислот (150–200 мин) относительно слабо поглощает, и наоборот, хорошо поглощающая фракция, выходящая в начале хроматограммы в виде узкого интенсивного пика, практически не видна в масс-спектре в данных условиях.

Также наблюдали существенное изменение как общего вида масс-спектров полученных фракций, так и внутри кластеров. Общая тенденция заключается в смещении масс-спектра в область больших  $m/z$  как в целом, так и внутри каждого кластера при возрастании градиента метанола, что согласуется с наблюдениями других исследователей [2].

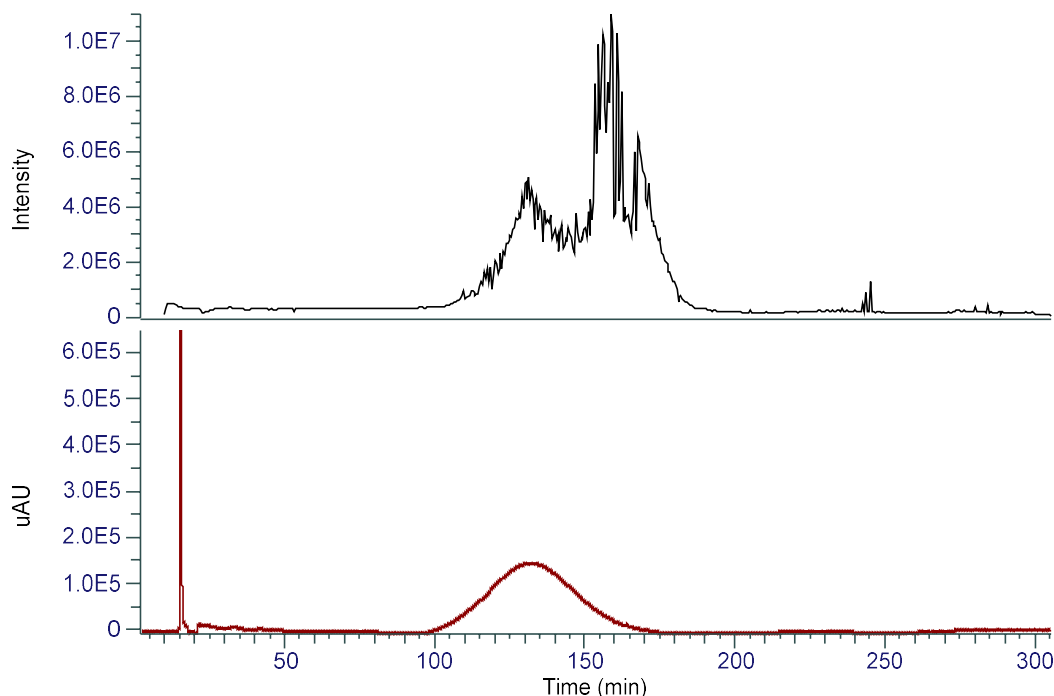


Рисунок 1. Вид хроматограмм по полному ионному току (вверху) и по полному поглощению в диапазоне 220–700 нм (внизу) образца *Fulvarga*

После обработки усредненных за каждые 10 мин участков масс-хроматограмм получено, что при разделении происходит существенное изменение молекулярного пространства, с возрастанием доли конденсированных танинов и снижением доли легко гидролизующихся танинов. Последние выходят из колонки ближе к началу хроматограммы. Эти изменения хорошо видны на диаграммах ван Кревелена (рисунок 2).

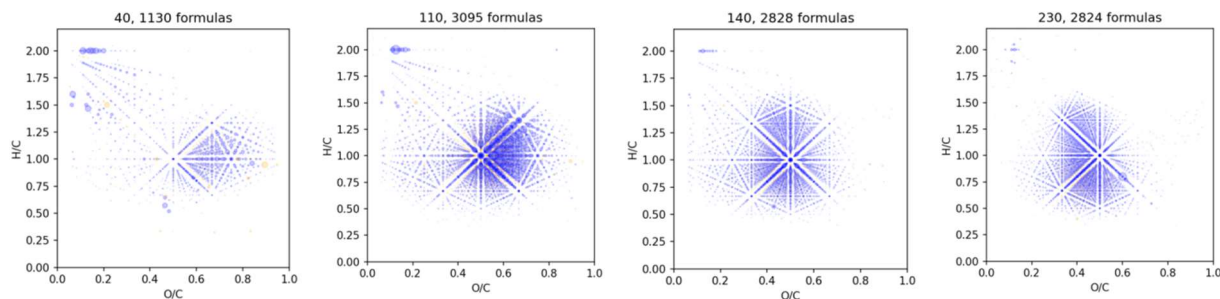


Рисунок 2. Диаграммы ван Кревелена для различных участков масс-хроматограммы образца Fulvarga

**Заключение.** В работе предложены условия проведения хромато-масс-спектрометрического анализа фульвокислот воды с использованием обращенно-фазовой колонки и орбитальной ловушки ионов. Предложенные условия могут быть использованы для анализа других фульвокислот. В результате получено значительное увеличение числа зарегистрированных брутто-формул для изученного образца, исследовано изменение молекулярного пространства при разделении.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, номер проекта 21-73-20202.*

#### **Литература.**

1. Han, L., J. Kaesler, C. Peng, T. Reemtsma and O. J. Lechtenfeld. Online Counter Gradient LC-FT-ICR-MS Enables Detection of Highly Polar Natural Organic Matter Fractions. *Analytical Chemistry*. 2021; 93(3): 1740-1748. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04426

2. Patriarca, C., J. Bergquist, P. J. R. Sjöberg, L. Tranvik and J. A. Hawkes Online HPLC-ESI-HRMS Method for the Analysis and Comparison of Different Dissolved Organic Matter Samples. *Environmental Science & Technology*. 2018; 52(4): 2091-2099. DOI: 10.1021/acs.est.7b04508

3. Sandron, S., N. W. Davies, R. Wilson, A. R. Cardona, P. R. Haddad, P. N. Nesterenko and B. Paull (2018). "Fractionation of Dissolved Organic Matter on Coupled Reversed-Phase Monolithic Columns and Characterisation Using Reversed-Phase Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry. *Chromatographia*. 2018, 81(2): 203-213. DOI: 10.1007/s10337-017-3324-0

4. Volikov, A., G. Rukhovich and I. V. Perminova. "NOMspectra: An Open-Source Python Package for Processing High Resolution Mass Spectrometry Data on Natural Organic Matter." *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 2023, 34(7): 1524-1527. DOI: 10.1021/jasms.3c00003

## ISOLATION OF FULVIC ACID FROM OXIDIZED BROWN COAL OF KAZAKHSTAN

B.T. Yermagambet, M.K. Kazankapova, Zh.M. Kassenova, A.B. Malgazhdarova  
«Institute of Coal Chemistry and Technology» LLP, Astana, Kazakhstan  
e-mail: coaltech@bk.ru

**Key words:** oxidized carbon, fulvic acid, adsorbent, cation exchanger, dialysis.

**Introduction.** Fulvic acid belongs to the group of humic acids, soluble in water, alkalis and acids. The salts are called fulvates. The Swedish chemist J. Berzelius separated, later in the 20th century S. Oden combined the two acids and called them by the common name fulvic acid [1]. Although it was discovered in the 20th century, an effective extraction method only became known in 2015. In particular, the isolation and purification of fulvic acid is a very expensive process, so the cost of 1 mg of fulvic acid averages US\$59. The biological activity of fulvic acid is largely characterized by its physical and chemical properties. Fulvic acid with a purity of  $\geq 95\%$

is registered in the CAS catalog (CAS Registry Number) (No. 479-66-3) as a chemical compound with the molecular formula  $C_{14}H_{12}O_8$  [2].

**Purpose.** Extraction of fulvic acid from oxidized brown coal "Maykuben" (Kazakhstan) and purification to a high degree of purity, analysis of the physicochemical composition of the resulting fulvic acid.

**Materials and methods.** 0.1 M HCl, 0.1 M NaOH, 5% HCl, acetone, KU-2-8 cation exchanger, potassium humate, distilled water, laboratory centrifuge TsN-12, laboratory stirrer IKA RH "basic 2", rotary evaporator RV 3 IKA, ion chromatograph "Dionex" ICS 6000, FT-IR spectrometer Nicolet iS10, JEOL ECA-500 MHz NMR spectrometer.

Humic acid is formed in the form of an amorphous brown precipitate as a result of the neutralization reaction of potassium humate obtained from Maykuben oxidized brown coal with a 5 % solution of nitric acid to pH=2-3. An unprecipitated organic compound is called a fulvic acid.

The Forsyth method was used for purification. Purification of fulvic acid by the Forsyth method consists of several stages. As adsorbents for fulvic acid cleaning, sorbents «Shubarkol» and «Shoptykol» produced by LLP «Institute of Coal Chemistry and Technology» and sorbents «Coconut» presented on the market were used. The last stage of purification was carried out at the stage of membrane purification (dialysis) to pH = 4-5 using distilled water for complete purification of fulvic acid from ions during purification.

**Results.** The functional groups of the fulvic acid passed through each step were determined by the Forsyth method using an acid-base titration. Table 1 shows the functional groups of the samples

Table 1. Functional groups of samples

№	Name	Total acidity, mmol/g	Carboxyl group, mmol/g	Phenolic group, mmol/g
1	Initial FA before purification	0,411	0,027	0,384
2	FA after cleaning with sorbent «Coconut»	0,269	0,105	0,164
3	FA after cleaning with «Coconut» sorbent and cation exchanger KU-2-8	0,322	0,139	0,183
4	FA after «Coconut» sorbent, cation exchanger KU-2-8 and membrane treatment	0,366	0,152	0,187
5	FA after cleaning with the sorbent «Shoptykol»	0,378	0,096	0,282
6	FA after cleaning «Shoptykol» sorbent and cation exchanger KU-2-8	0,287	0,127	0,160
7	FA after «Shoptykol» sorbent, cation exchanger KU-2-8 and membrane treatment	0,292	0,146	0,159
8	FA after cleaning with the sorbent «Shubarkol»	0,298	0,078	0,220
9	FA after cleaning «Shubarkol» sorbent and cation exchanger KU-2-8	0,263	0,109	0,154
10	FA after «Shubarkol» sorbent, cation exchanger KU-2-8 and membrane treatment	0,260	0,128	0,152

As a result, it can be seen that the carboxyl groups of the fulvic acid isolated from the original coal and the fulvic acid that passed the purification stage increased, while the phenolic groups and the total acidity decreased. Fulvic acid contains many carboxyl functional groups. It can exchange or transfer electrons with the organic acid redox polymer, ions and molecules that react with fulvic acid [3].

On a Dionex ICS 6000 ion chromatograph, the ionic composition of fulvic acid, which was completely purified by the Forsyth method, was studied. As a result, it was found that the amount of all ions, in comparison with the amount of the initial content of fulvic acid, significantly decreased after the last stage of purification the membrane (dialysis) method. Initially, fulvic acid contained a large amount of nitrate and chloride ions. It can be assumed that this is due to the use of 5 % nitric acid in the extraction of fulvic acid from coal, and the presence of a large amount of

chloride ions is due to the effect of cleaning the sorbent with 0.1 M hydrochloric acid solution before passing the fulvic acid through the sorbent. Shubarkol was chosen as an effective sorbent in terms of ion purification in the purification of fulvic acids, the degree of ion purification was 66.12-99.75 %.

IR analyzes of fulvic acids were carried out in the laboratories of the «Nazarbayev University» (Kazakhstan) using a Nicolet iS10 FT-IR spectrometer. There are no stretching vibrations of C=O groups of saturated fatty acids, carboxyl, aldehyde and keto groups in the spectrum (although there is a very weak band at  $1635\text{ cm}^{-1}$ ). Stretching vibrations of OH bound by hydrogen bonds are poorly visible (very wide band at  $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ ). There is a band at  $1350\text{ cm}^{-1}$  with a shoulder in higher wave numbers (may correspond to combinations of O-H bend,  $\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_3$  deformation, C-H alkene bend, C-N stretching vibrations of carboxamide, and symmetrical stretching vibrations of the  $-\text{CO}_2^-$  carboxylate ion (assuming  $1635\text{ cm}^{-1}$  asymmetrical),  $832\text{ cm}^{-1}$  (out-of-plane deformation vibrations of C-H in substituted aromatics). The IR spectrum of fulvic acid purified by the Shubarkol sorbent, obtained from potassium humate, shows the OH group (broad band  $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ ), and the C=O stretching vibrations ( $1717\text{ cm}^{-1}$ ; C=O stretching vibrations of saturated fatty acids, carboxyl, aldehyde and keto groups) and C=C stretching ( $1653\text{ cm}^{-1}$ ). The bands at  $1361\text{ cm}^{-1}$  may correspond to combinations bending vibrations of  $\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_3$  groups, C-H alkene bend), at  $1103\text{ cm}^{-1}$  - stretching vibrations of C-O, C-O-C stretching. The IR spectrum of fulvic acid purified by the sorbent «Shoptykol» obtained from potassium humate is very similar to the spectrum of fulvic acid from potassium humate purified by the sorbent «Shubarkol», but the bands for vibrations of OH groups and at  $1718\text{ cm}^{-1}$  related to stretching vibrations of C=O are less intense. At the same time, there is a significant broadening of the bands in the range of  $1300\text{-}1450$ ,  $1400\text{ cm}^{-1}$  (with reduced intensity) and in the range of  $1100\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  (all these bands are typical for bending vibrations of  $\text{CH}_2$  and  $\text{CH}_3$  groups, C-H alkene as well as C-O valence vibrations). A clearly pronounced band appears at  $953\text{ cm}^{-1}$ , which may be related to out-of-plane bending vibrations of the C-H bond in the substituted aromatic.

The following bands are clearly visible in the IR spectrum of fulvic acid purified by the «Coconut» sorbent, obtained from potassium humate:  $3000\text{-}3650\text{ cm}^{-1}$  (stretching vibrations of various OH groups),  $1716\text{ cm}^{-1}$  (stretching vibrations of C=O), approximately  $1620\text{ cm}^{-1}$  (stretching C=C),  $1316\text{ cm}^{-1}$  O-C stretching),  $1043\text{ cm}^{-1}$  (stretching vibrations of C-O in polysaccharides or polysaccharide-like substances),  $821\text{ cm}^{-1}$  (out-of-plane deformation vibrations of C-H in a substituted aromatic).

NMR analysis of fulvic acid was carried out on a JEOL ECA-500 MHz NMR spectrometer. In the spectrum of the original potassium salt sample (before cleaning with sorbents), resonances of the methyl group (1.20 ppm) and aliphatic protons in the alpha position to aromatic, alkenyl and carbonyl groups (2.04 and 2.18 ppm) are visible. In the range from 3.0 ppm to 4.0 ppm, there are resonances corresponding to aliphatic protons in ester groups and in the alpha position to OH and OR groups, as well as aliphatic OH protons. In the range of 6.90-9.00 ppm, there are resonances of aromatic and heteroaromatic protons. Also, a very broad signal of 6.50–9.50 ppm can correspond to phenolic and carboxyl OH groups (broadening due to hydrogen bonds). When cleaning with the Shubarkol sorbent, a significant part of the aromatic signals disappears, while the aliphatic part of the spectrum changes, where several resonances of terminal methyl groups (1.13-1.30 ppm) can be distinguished, as well as proton signals in the alpha position to aromatic, alkenyl and carbonyl groups (1.90 and 2.19 md) and protons in ester groups, in the alpha position to OH and OR groups and aliphatic OH protons (2.82 and 2.98 md). When cleaning with «Shoptykol» and «Coconut» sorbents, changes are also observed in the aliphatic and aromatic regions of the spectra. In the first case («Shoptykol»), there are fewer protons of ester groups and aliphatic protons in the alpha position to OH and OR groups (range 3.0-4.0 ppm), although there are more aromatic and heteroaromatic protons (6.97-8.40 ppm). In the second case («Coconut»), the number of terminal saturated hydrocarbon groups (1.05-1.60 ppm) and protons in the alpha position to aromatic and carbonyl groups (2.03-2.17) increases, and the number of protons of ester groups and in the alpha position to OH and OR groups decreases (range 3.0–4.0 ppm), while

almost no changes compared to the original sample are observed in the aromatic region of the spectrum (6.90–9.00 ppm).

The titration curves of fulvic acid, determined by the pH-metric titration method, were constructed, and the equilibrium constant was determined. Table 2 shows the equilibrium constant and concentration of the samples.

Table 2. Equilibrium constants (pK) and sample concentrations

Name	Equilibrium constant (pK)	Concentration, mg/l
Initial FA	7,58	163
K <sup>+</sup> FA «Shubarkol»	8,62	137
K <sup>+</sup> FA «Shoptykol»	12,31	127
K <sup>+</sup> FA «Coconut»	-	125

Research work continues to study the physicochemical properties of the obtained FA and the possibility of their application.

**Conclusion.** Fulvic acid was isolated from Maykuben oxidized brown coal (Kazakhstan). The resulting fulvic acid was purified by the Forsyth method. The physicochemical composition of purified fulvic acid has been analyzed and summarized.

*The study was financially supported by the Committee of Science of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (grant No. AP09260096. Development of technology and organization of pilot production of modified organic biological products based on humic polyelectrolyte acids obtained from Kazakhstani coal).*

#### **References.**

1. Popov A. I. Humic substances: properties, structure, formation. St. Petersburg: Publishing House of St. Petersburg. University, 2004. 248 p.
2. Bendersky N. S., Kudelina O. M., Ganzgorn E. V., Safronenko A. V. Is Fulvic Acid a Dietary Supplement or a Medicine? Russia, 2020; 3: 78-91.
3. Boguta P., Sokolovskaya Z. Interaction of humic acids with metals. *Akta Agrof. Monographs.* 2013; 2: 1-113.

## OBTAINING A POROUS CARBON MATERIAL BASED ON POTASSIUM HUMATE

M.K. Kazankapova, B.T. Yermagambet, A.M. Kalenova, A.B. Malgazhdarova, U.M.

Kozhamuratova

Institute of Coal Chemistry and Technology LLP, Astana, Kazakhstan

e-mail: coaltech@bk.ru

**Key words:** carbon, potassium humate, hydrogen, storage, adsorbent.

**Introduction.** Based on several studies published in the literature, it is noted that the storage of hydrogen in solid form is a more suitable option for solving problems such as its storage and transportation. In this form, hydrogen can be stored by absorption (metal hydrides and complex hydrides) and adsorption (carbon materials such as activated carbons (AC), graphite, carbon nanotubes (CNTs) and carbon nanofibers (CNFs)). It is observed that consumption of observation of carbon materials compared to absorption is more likely in terms of storage capacity. The experimentally measured storage capacity of activated carbon, graphite, single-walled nanotubes, multi-walled nanotubes and CNF at temperature is 5.5, 4.48, 4.5, 6.3 and 6.5 wt.%, respectively [1-2].

Hydrogen is predicted to become an efficient alternative fuel that can be widely used in various sectors. However, the production of hydrogen is inconvenient, in addition, hydrogen technology faces a serious problem of its storage and transportation. Hydrogen can be stored in three ways: as a compressed gas, as a cryogenic liquid, and as a solid state storage. In the first case, a large storage tank is required, combined with the presence of a high-pressure gas, which requires high compression energy because the hydrogen gas occupies a large volume. In the second method, as a cryogenic liquid, it requires large financial investments, and the process



always consists of various losses, such as boiling off when topping up, etc. Therefore, the efficiency and safety of hydrogen storage have drawn the attention of a number of researchers to its state preservation due to adsorption and/or absorption on materials/alloys [3-4].

The creation and development of new storage systems with greater capacity, lighter weight and greater stability have always been the goals of various technology initiatives, especially in the field of portable electronics and moving vehicles. Therefore, it became clear that a safe, efficient and cost-effective storage system was needed to use hydrogen as a clean energy carrier in the future. From a safety point of view, the use of metal hydrides is advantageous, but not suitable for most materials when considering the overall weight of the tank system. This drawback can be avoided by using carbon materials due to its low atomic weight and microporous nature, which adsorbs undissociated hydrogen molecules under the action of Van Der Waals forces on its surface [5-6].

**Purpose.** The main goal of this work is the creation and development of carbon materials with a microporous structure and a high specific surface area for hydrogen separation and storage, which are characterized by a large capacity, low weight and high stability.

**Materials and methods.** A chemical analysis of potassium humate and their carbonized and activated forms based on brown coal from the Maykuben basin (Kazakhstan) was carried out. Activated potassium humate was obtained by the method of carbonization and activation in argon and water vapor at 1073 K, the physicochemical characteristics and surface morphology of the studied samples were studied.

Humidity, ash content and volatility of the samples were determined on a thermogravimetric analyzer «Thermoster Eltra» (according to ASTM D7582-12). The total pore volume, bulk density, pH of the aqueous extract, and methyl orange adsorption activity were determined in accordance with the procedures. The adsorption characteristics of sorbents (specific surface area) were studied by the Brunauer-Emmett-Teller (BET) method, the measurements were carried out on a KATAKON Sorbtometer M and 3Flex, Micromeritics instrument. Chemical analysis and surface morphology were studied by energy-dispersive X-ray spectroscopy on an SEM instrument (Quanta 3D 200i) with an attachment for energy-dispersive analysis from EDAX.

**Results.** Morphology of humate potassium demonstrated by irregular in shape of petals with pointed edges. Most particles are irregular in shape and vary in size (137.2 nm). A large, dispersed formations in humate potassium can be explained by the presence of a small quantity of mineral elements (Table 1).

Table 1. Chemical composition of samples

Name	The content of elements, wt. %									
	C	O	Na	Al	Si	K	Fe	Mg	S	Cl
Potassium humate	35,95	30,16	0,44	8,57	1,12	21,05	1,47	0,25	0,14	0,84
Carbonized potassium humate	21,74	28,85	0,60	1,67	0,36	43,53	2,14	0,35	0,41	0,35
Activated potassium humate	46,58	24,34	0,76	7,03	2,16	17,07	1,09	0,50	0,27	0,20

Table 2. Physical and chemical characteristics of the samples

Name	W <sub>t</sub> , %	A <sub>t</sub> , %	V <sup>d</sup> , %	V <sub>Σ</sub> by water, cm <sup>3</sup> /g	ρ <sub>bulk</sub> , g/cm <sup>3</sup>	pH <sub>water</sub> extract	A <sub>m.b</sub> , mg/g	S <sub>BET</sub> , m <sup>2</sup> /g
Potassium humate	7,33	47,33	51,07	-	0,77	11	-	0,55
Carbonized potassium humate	2,71	58,83	60,47	0,035	0,87	11	205.0	272,64
Activated potassium humate	8,08	64,94	70,65	0,025	0,87	11	162,5	320,99

The results of micrograph analysis show that after thermal activation of humic acids, the surface structure changes and becomes more developed, with smaller particle sizes from ~270.7 nm to

~83.60 nm for the carbonized form, and from ~41.2 nm to ~71.1 nm for the activated form, and the values the specific surface area increases compared to the original sample from 0.55 to 272.64 m<sup>2</sup>/g for the carbonized form, and up to 320.99 m<sup>2</sup>/g for the activated form, respectively, approximately 500-700 times as a result of high-temperature activation. The SEM patterns of the activated forms of potassium humate show that finely dispersed nanoparticles with a diameter from ~41.2 nm to ~71.1 nm formed on the surface of the sample, which can be formed by gas-phase deposition of carbon matrices on the surface of active metal particles (for example, Fe) present in the composition of the product, which can act as a catalyst.

**Conclusion.** Thus, as a result of high-temperature processes of carbonization (in an inert medium) and activation (with water vapor) of potassium humate based on the coal of the Maikuben pool (Kazakhstan), an activated form of humic substances was obtained, which has a more developed and ordered surface structure and high specific surfaces. In this regard, the activated form of potassium humate based on the coal of the Maikuben basin will be considered as a carbon material for storing hydrogen.

*This research has been funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP19577512. Development of scientific and technical bases for obtaining microporous carbon nanomaterials for hydrogen separation and storage).*

#### **References.**

1. Mohan M., Sharma V. K., Kumar E. A., Gayathri V. Hydrogen Storage in Carbon Materials – A Review. *Energy storage*. 2019; 1(2): e35. DOI: 10.1002/est2.35.
2. Sharma V. K., Anil Kumar E. Kirk othemer encyclopedia of chemical technology. In: Seidel A, editor. Metal hydrides, John Wiley and Sons. 2018: 1-21.
3. Sharma V. K, Anil Kumar E. Metal hydrides for energy applications-Classification, PCI characterisation and simulation. *International Journal of Energy Research*. 2016; 14: 901-923.
4. Umegaki T., Yan J.M., Zhang X.B., Shioyama H., Kuriyama N., Xu Q. Boron and nitrogen based chemical hydrogen storage materials. *Int. J. Hydrogen Energy*. 2009; 34: 2303-2311.
5. MacDonald BD, Rowe AM. A thermally coupled metal hydride hydrogen storage and fuel cell systems. *J. Power Sources*. 2006; 161: 346-355.
6. Sakintuna B, Lamari Darkrim F, Hircher M. Metal hydride materials for solid hydrogen storage: A review. *Int. J. Hyd. Energy*. 2007; 32: 1121-1140.

## ПОЛИДИСПЕРСТНОСТЬ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ ТУНДРОВЫХ ПОЧВ

Е.Д. Лодыгин\*, Р.С. Василевич

Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар, Россия

e-mail: lodigin@ib.komisc.ru

**Ключевые слова:** молекулярно-массовое распределение, гель-хроматография, гуминовые кислоты, фульвокислоты.

**Введение.** Гуминовые кислоты (ГК) и фульвокислоты (ФК) представляют собой полидисперсные смеси структурно сложных веществ с различной молекулярной массой (*Mr*), поэтому их фракционирование является одной из ключевых задач при изучении гумусовых веществ (ГВ). Актуальным является изучение фракционного состава ГК и ФК с целью выявления их роли в процессах почвообразования, в частности, выявления механизмов взаимодействия ГВ с минеральными соединениями и управления структурой почвы (Olk et al. 2019). В таких исследованиях предпочтение отдается «мягким» методам анализа ГВ, таким как метод гель-хроматографии (Perminova et al., 2003). Рабочая гипотеза данного исследования заключалась в том, что молекулярный состав ГК и ФК влияет на кажущийся молекулярный размер ГВ.

**Целью** настоящей работы является оценка корреляции между молекулярным составом ГВ и молекулярно-массовым распределением (ММР) ГК и ФК, выделенных из целинных и освоенных тундровых почв Европейского Северо-Востока России.

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили ГВ, выделенные из почв Большеземельской тундры (Воркутинский район, Республика Коми). Образцы ГК и ФК были выделены из органогенных горизонтов двух Gleyic Stagnosols (целинной и пахотной), Histic Gleysol и Histic Cryosol. Препараты ГВ экстрагировали из воздушно-сухих образцов почвы двукратной экстракцией 0,1 М NaOH в соответствии с рекомендациями IHSS. ГК очищали с помощью диализа. ФК выделяли на активированном угле (АГ-3) и обессоливали, пропуская через катионит КУ-2 в  $H^+$  форме. Препараты ГК и ФК высушивали нагреванием при 35°C в печи. Содержание углерода и азота в почвах и препаратах ГВ определяли газохроматографически на CHNS-O – анализаторе EA-1110 (Италия). ММР препаратов ГК и ФК получены на хроматографической системе АКТАbasic 10 UPS (Amersam Biosciences, Швеция) с использованием колонки Superdex™ 200 10/300 GL, в качестве элюата использовали Tris-HCl-буфер с pH = 8,2 с содержанием додецилсульфата натрия (0,1 %), азиды натрия (0,02 %) и хлорида натрия (0,05 М). Для обработки хроматографических данных и расчета ММР фракций препаратов ГВ использовали оригинальную программу Unicorn 5.10.

**Результаты.** Исследованные препараты ГВ тундровых почв характеризуются высоким мольным отношением  $x(H): x(C)$  по данным элементного состава; низкой степенью ароматичности  $\omega(C_{H-аром}) + \omega(C_{O-аром})$  и высоким содержанием углеводных, аминокислотных  $\omega(C_{O,N-alkyl})$  и алкильных фрагментов  $\omega(C_{H-alkyl})$  по данным  $^{13}C$ -ЯМР-спектроскопии, полученных нами ранее (Lodygin et al., 2014). ГВ освоенной Gleyic Stagnosol характеризуются наименьшим мольным отношением  $x(C): x(N)$ , по сравнению с целинными аналогами, отражая повышенную биологическую активность почв.

В гель-хроматограммах ГК были выделены три области, соответствующие трем фракциям ГК: высокомолекулярной (ВМФ), среднемолекулярной (СМФ) и низкомолекулярной (НМФ), ФК содержат только одну фракцию в низкомолекулярной области. Распределения оптической плотности различных фракций ГВ показывают, что положения максимумов пиков практически совпадают. Области, относящиеся к разным фракциям, имеют различные площади, что свидетельствует о вариации их относительного содержания в исследуемых образцах. Кривые ММР препаратов ГВ имеют один ярко выраженный максимум в низкомолекулярной области. Доля НМФ ГК в изученных почвах доминирует (63,6–80,8 %) и статистически достоверно превышает массовые доли СМФ (18,1–33,4 %) и ВМФ (1,2–3,0 %). Это особенно четко проявляется в освоенных Gleyic Stagnosol в сравнении с целинными аналогами. В ряду гидроморфных почв ГК Histic Cryosol имеют более высокую долю ВМФ и СМФ по сравнению с ГК Histic Gleysol. С усилением степени гидроморфизма происходит увеличение как показателя молекулярной массы отдельных фракций, так и средневзвешенной молекулярной массы ( $M_w$ ). Для СМФ и НМФ ГК Histic Cryosol  $M_r$  составляет 83 и 5,3 kDa соответственно, что выше, чем у ГК Histic Gleysol (65 и 3,9 kDa соответственно). Доля НМФ ГК Histic Gleysol несколько выше. Сравнительный анализ ММР препаратов ГК показал значительное преимущество доли НМФ в составе ГК тундровых почв по сравнению с ГК сезоннопромерзающих почв средней тайги (Lodygin et al., 2012).

Результаты показывают, что чем выше ароматичность и мольное отношение  $x(H) : x(C)$  препаратов ГК, тем ниже их  $M_r$ . В Gleyic Stagnosols обеспечиваются лучшие условия для разложения органического материала с образованием низкомолекулярных и более устойчивых конденсированных структур, характеризующихся меньшим содержанием лабильных фрагментов, что может быть связано с большей динамичностью почвенного климата в поверхностных горизонтах. При переходе от горизонта O к горизонту T в Histic Cryosol происходит накопление более устойчивых групп ГК с меньшей долей ВМФ и СМФ. Это хорошо согласуется с увеличением ароматичности и уменьшением доли алифатических и O, N-алкильных фрагментов в структуре ГК. Гидролиз периферической

части молекул ГК Histic Gleysol сопровождается уменьшением средней  $M_r$  и доли ВМФ и СМФ, что хорошо согласуется с увеличением ароматичности с 28,3 до 33,6%.

Установлена достаточно высокая корреляционная зависимость массовой доли ВМФ и СМФ ГК с содержанием лабильных фрагментов  $\omega(C_{O,N-alkyl})$  и  $\omega(C_{polar.})$  и достоверная корреляция содержания НМФ с параметром гидрофобности ГВ, который представляет собой суммарную долю неокисленных атомов углерода  $\omega(C_{H-arom}) + \omega(C_{O-arom})$  и позволяет косвенно оценить амфифильные свойства ГВ (Lodygin et al., 2014). Полученные результаты ММР ГК тундровых почв в большей степени согласуются с гипотезой (Saiz-Jiminez et al., 2006), что ВМФ ГК состоят преимущественно из разветвленных парафиновых структур с высоким содержанием углеводных, спиртовых, метоксильных и аминокислотных фрагментов, а в НМФ ГК преобладает ароматический углерод.

Сравнительно высокое (80,8%) содержание низкомолекулярной фракции ГК в освоенной Gleyic Stagnosol может быть обусловлено продолжительным сельскохозяйственным использованием, приводящим к повышению биологической активности почв в летний период и более жесткими температурными условиями в зимний. Трансформация органического вещества освоенных почв в таких условиях приводит к отрыву периферических цепей и уменьшению молекулярной массы ГК. Аналогичное влияние криогенных процессов на состав гумуса наблюдался рядом исследователей, которыми выявлено, что процессы промерзания и оттаивания существенно влияют на изменение фракционно-группового состава гумуса, а также способствуют расщеплению молекул ГК до более низкомолекулярных фрагментов (Shirshova et al., 2015).

Результаты ММР для препаратов ФК тундровых почв показали, что для них характерно содержание только одной НМФ с  $M_r$  от 1,5 до 4,4 kDa. В ряду Gleyic Stagnosols установлено, что молекулярная масса ФК в освоенных почвах почти в 2 раза меньше, чем в целинных аналогах. Низкая  $M_r$  ФК освоенных Gleyic Stagnosol обусловлена повышенной минерализацией злаковой растительности по сравнению с кустарниковым и мохово-лишайниковым опадом целинных Gleyic Stagnosol. В освоенных почвах происходит более быстрое «омолаживание» ФК, которые наиболее интенсивно перерабатываются микроорганизмами.

**Заключение.** Исследования молекулярно-массового распределения препаратов ГВ, выделенных из тундровых почв, свидетельствуют, что ГК содержат три фракции с разной молекулярной массой:  $\geq 600$  kDa, 62–83 kDa и 2,6–5,3 kDa; ФК – одну фракцию – 1,5–4,4 kDa. Установлено, что ГК тундровых почв характеризуются высоким содержанием НМФ, а доля ВМФ невелика и составляет 2,2–3,0 %. Отличительной особенностью ГВ тундровых почв являются близкие значения  $M_r$  НМФ ГК и  $M_r$  ФК. Установлены высокие корреляции между содержанием ВМФ и СМФ с долей лабильных фрагментов и НМФ с содержанием гидрофобных фрагментов ГК. Освоение тундровых почв приводит к уменьшению доли ВМФ в составе ГК, что, по-видимому, связано с более холодными климатическими условиями для этих почв.

#### **Литература.**

1. Lodygin E. D., Beznosikov V. A., Vasilevich R. S. Molecular composition of humic substances in tundra soils ( $^{13}C$ -NMR spectroscopic study). *Eurasian Soil Science*. 2014;47(5):400–406. DOI: 10.1134/S1064229314010074.
2. Lodygin E. D., Beznosikov V. A., Vasilevich R. S. Study of polydispersity of humic substances by the gel chromatography method. *Russian Agricultural Sciences*. 2012;38(4):293–296. DOI: 10.3103/S1068367412040118.
3. Olk D. C., Bloom P. R., Perdue E. M., Mcknight D. M., Chen Y., Farenhorst A., Senesi N., Chin Y.-P., Schmitt-Kopplin P., Hertkorn N., Harir M. Environmental and agricultural relevance of humic fractions extracted by alkali from soils and natural waters. *Journal of Environmental Quality*. 2019;48(2):217–232. DOI: 10.2134/jeq2019.02.0041.
4. Perminova I. V., Frimmel F. H., Kudryavtsev A. V., Kulikova N. A., Abbt-Braun G., Hesse S., Petrosyan V. S. Molecular weight characteristics of humic substances from different

environments as determined by size exclusion chromatography and their statistical evaluation. *Environmental Science and Technology*. 2003;37(11):2477–2485. DOI: 10.1021/es0258069.

5. Saiz–Jimenez C., Hermosin B., Trubetskaya O. E., Reznikova O. I., Afanas'eva G. V., Trubetskoj O. A. Thermochemolysis of genetically different soil humic acids and their fractions obtained by tandem SEC–PAGE. *Geoderma*. 2006;131(1–2):22–32. DOI: 10.1016/j.geoderma.2005.03.001.

6. Shirshova L. T., Gilichinsky D. A., Ostroumova N. V., Yermolayev A. M. Application of spectrophotometry for quantification of humic substances in the permafrost sediments. *Earth's Cryosphere*. 2015;19(4):107–113.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАДИСПЕРСНОЙ ГУМАТО-САПРОПЕЛЕВОЙ СУСПЕНЗИИ В КАЧЕСТВЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

А.С. Митюков<sup>1\*</sup>, Т.Б. Лашкова<sup>2</sup>, Г.В. Петрова<sup>2</sup>, М.Ю. Жукова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>СПб ФИЦ РАН – Институт озерадения Российской академии наук, г. Санкт Петербург,  
Россия

<sup>2</sup>Новгородский научно-исследовательский институт сельского  
хозяйства – филиал СПб ФИЦ РАН. Новгородская обл.

д. Борки, Россия

e-mail: mitals@yandex.ru

**Ключевые слова:** Сапропель, суспензия, телки, переваримость, кровь

**Введение.** Сапропели представляют собой типичные донные отложения континентальных водоёмов. Процессы их накопления в пресноводных объектах протекают непрерывно и постоянно за счет гумификации остатков растительности, животных, микроорганизмов и трансформации почвогрунтовых частиц без доступа кислорода воздуха. Они характеризуются сложным химическим составом, который меняется в широком диапазоне значений и зависит от географического расположения района залегания.

**Цель.** Целью настоящей работы явилось сравнительное исследование биологических свойств гуминовых веществ, полученных из сапропеля классическим способом щелочной экстракции и ультразвуковой обработки. Метод позволяет получать высококачественный гуминовый препарат – ультрадисперсную гумато-сапропелевую суспензию (УДГСС). Оценка эффективности применения препарата УДГСС проведена при кормлении телок.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проведены в условиях фермы в Новгородской области на молодняке крупного рогатого скота голштинской породы в возрасте 6–7 месяцев. Были сформированы три группы животных (n = 10) – контрольная, потребляющая основной рацион (ОР), первая опытная – ОР+20 мл ультра дисперсной гумато-сапропелевой суспензии (УДГС), вторая опытная – ОР+25 мл УДГСС.

**Результаты.** Важнейшим показателем, определяющим питательную ценность и продуктивное действие корма, является переваримость питательных веществ. Переваримость находится в тесной взаимосвязи с уровнем поступления питательных веществ в организм, соотношением между отдельными компонентами рациона и количеством выделения их с продуктами обмена. Животные опытных групп получали с основным рационом УДГСС – 20 мл и 25 мл/гол/сутки. В результате анализа данных установлено, что скармливание опытным животным разных доз УДГСС, определенным образом сказалось на переваримости питательных веществ рациона.

Повышение коэффициентов переваримости в опытных группах наблюдаются по всем показателям, кроме сырой клетчатки. Так, значение коэффициента переваримости сухого вещества в первой опытной группе выросло на 1,3%, и на 1,9% во второй. Органическое вещество так же усваивалось лучше (на 5,4% и 7,4%). Аналогично степень усвоения сырого жира и БЭВ активизировалась у животных, потреблявших с основным рационом УДГСС. В первой опытной группе эти показатели выросли на 2,9%, 5,1% относительно контроля во

второй – на 6,2% и 7,1% соответственно. Таким образом, анализ полученных результатов показал положительное влияние ультрадисперсионной гумато-сапропелевой суспензии на усвоение питательных веществ рациона независимо от дозировки.

Причиной нарушения обмена веществ у животных, среди прочих, является функциональное состояние печени. Для его коррекции мы применили УДГСС, содержащий, помимо гуминовых веществ биологически активные вещества (белки, аминокислоты, витамины, макро- и микроэлементы). Эта кормовая добавка обладает выраженным гепатотропным действием с усилением белоксинтезирующей функции печени, снижением диспротеинемии и шунтирования печени. Однако зачастую гепатозы протекают без клинических признаков, поэтому большую роль в выявлении функциональных нарушений печени и морфологических изменений в ней, играют функциональные пробы, основанные на биохимических методах исследования крови.

По данным наших исследований, содержание общего белка в сыворотке крови телок контрольной и второй опытной группы телок, находилось в пределах физиологической нормы. В первой опытной его значение было ниже нижнего предела на 3,8%. Белковый индекс (отношение альбуминов к глобулинам) находился в пределах нормы, поэтому снижение концентрации общего белка в данном случае не имеет диагностического значения.

Снижение уровня мочевины у животных всех групп ниже физиологической нормы (особенно во второй опытной группе), что указывает на дефицит сырого протеина в рационе телок. Эту теорию подтверждает низкий коэффициент переваримости по этому показателю у животных второй опытной группы.

Концентрация креатинина у всех животных на опыте находилась в пределах физиологической нормы, тем не менее в контрольной группе значение данного показателя приближено к нижней границе. Использование с основным рационом УДГСС в дозах 20 мл и 25 мл, позволило увеличить содержания креатинина на 10,4% и 13,2% соответственно. Таким же образом потребление УДГСС сказалось на концентрации глюкозы в сыворотке крови телок опытных групп, повысив ее на 30,2% (20 мл) и 9,2% (25 мл). Показатели общего билирубина у животных контрольной группы ниже физиологической нормы, введение в рацион суспензии нормализовало концентрацию, повысив ее значения в первой опытной группе на 39,6% и 14,6% во второй.

Синдром цитолиза – синдром нарушения целостности гепатоцитов, и главная роль в оценке степени активности этого патологического процесса принадлежит значению АСТ и АЛТ. Наши исследования показали, что уровень АСТ и АЛТ во всех группах находится в рамках нормативных показателей, однако в первой и второй опытных группах значения АСТ снизились на 10,73 МЕ/л и 10,5 МЕ/л соответственно. Это привело к снижению коэффициента Де Ритиса на 17% (20 мл УДГСС) и 13,3% (25 мл), это позволяет сделать предположение о терапевтической эффективности УДГСС как гепатопротектора.

Использование в рационе УДГСС позволило увеличить концентрацию калия в сыворотке крови животных опытных групп на 16, % и 5,3% соответственно, и привести этот показатель к значениям физиологической нормы. Таким же образом изменился метаболизм кальция – применение добавки повысило его содержание в крови животных опытных групп на 7,6% и 5,1%. Концентрация фосфора во всех группах соответствует нормальным физиологическим значениям.

Наиболее частая причина повышения активности ГГТ (гамма-глутамин трансферазы) в плазме (сыворотке) крови – патология печени. Слабое токсическое воздействие на печень, прием лекарственных препаратов сопровождаются умеренным увеличением активности. В наших исследованиях Гамма ГТ превышает норму, что указывает на развитие гепатозов у животных, которые в начальной стадии не имеют клинической картины. Все же использование на опыте УДГСС в дозе 20 мл, привело к снижению активности Гамма ГТ на 14,6 %.

**Заключение.** Впервые в качестве кормовой добавки использовалась ультрадисперсионная гумато-сапротелевая суспензия (УДГСС), полученная путем щелочной экстракции и ультразвуковой кавитации экстракта сапротеля.

В результате исследований установлено, что обе дозы ультрадисперсионной гумато – сапротелевой суспензии оказали положительное воздействие на организм подопытных животных. В результате исследований разработана система кормления телок новых генотипов, отобранных на осеменение с учетом физиологической потребности в питательных веществах. Использование УДГСС позволило увеличить усвоение питательных веществ рациона, улучшить отдельные показатели плазмы крови.

<sup>1</sup>СПб ФИЦ РАН – Институт озераведения Российской академии наук, Санкт Петербург, Российская Федерация, работа проводилась по теме FGSS-2019-0002

<sup>2</sup>Новгородский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал СПб ФИЦ РАН. Новгородская обл., д. Борки, Российская Федерация – FF2F-122041100104-6

### **Литература**

1. Бельдин В. Е. Гуминовые кислоты как адсорбент микотоксинов. *Птицеводство*. 2021;7-8: 20-22.

2. Васильев А. А., Коробов А. П., Москаленко С. П. Значение, теория и практика использования гуминовых кислот в животноводстве. *Аграрный научный журнал*. 2018; 1:3-6.

3. Кузьменкова А. В., Гинойн Р. В., Денисюк Е. А., Дмитриева Н. Я. Влияние фульвовой кислоты в кормовых добавках на изменение белка и молочную продуктивность коров. *Вестник ВГУИТ*. 2021; 83(2): 121–125. DOI:10.20914/2310-1202-2021-2-121-125.

4. Лабутина Н. Д., Осепчук Д. В., Хорин Б. В., Гнеуш А. Н. Природное кормовое сырье. *Новости науки в АПК*. 2019; 3: 205-209.

5. Любимова Н. А., Рабинович Г. Ю. Гуминовые вещества как компоненты кормовых добавок (обзор). *Достижения науки и техники АПК*. 2020; 34 (9); 77–84. DOI: 10.24411/0235-2451-2020-10914.

6. Митюков А. С. Использование гумато-сапротелевой суспензии в сельском хозяйстве. *Сб. науч. тр., отделение с/х наук*. ПАНИ. СПб.2021; 8: 111-117.

7. Dai C., Xiao X., Yuan Y., Sharma G., Tang S. A Comprehensive Toxicological Assessment of Fulvic Acid. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020; 2020. DOI: 10.1155/2020/8899244.

## **БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧВ**

А.И. Попов<sup>1\*</sup>, К.И. Цивка<sup>2</sup>, Г.Д. Холостов<sup>1</sup>, Е.В. Сазанова<sup>1</sup>, А.А. Леонтьев<sup>1</sup>, В.П. Борисова<sup>1</sup>, Ю.В. Симонова<sup>1</sup>, Е.П. Шалунова<sup>1</sup>, А.К. Ошмарина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, г. Санкт-Петербург,

Россия

e-mail: paihumic@gmail.com

**Ключевые слова:** почвенное органическое вещество, гуминовые вещества.

**Введение.** Содержание и качественный состав почвенного органического вещества (ПОВ) являются важными характеристиками для агроэкологической и кадастровой оценки почвенных и земельных ресурсов, а также при рациональном использовании почв земель сельскохозяйственного назначения.

Общепринято [1-6], что большую часть органического вещества природных объектов (почв, торфов, компостов и прочих) составляют гуминовые вещества (ГВ), которые чаще всего выделяются с помощью щелочных или нейтральных водных растворов солей. Правда, до сих пор не найдено удовлетворительной системы растворителей, которая была бы способна извлекать все вещества гуминовой природы (если, конечно, таковые

присутствуют в природных объектах), сорбированные неорганическими коллоидами [7]. Существует мнение [8], что выделение, так называемых гуминовых веществ, любыми водными щелочными растворами и их последующее фракционирование не является правильным, поскольку вместе с ГВ в жидкую фазу переходят и негуминовые вещества, в частности различные компоненты живых организмов, а также их экскреты и постмортальные остатки, а также простые и сложные индивидуальные органические соединения (продукты трансформации ПОВ). Поэтому недостатком всех видов извлечения щелочными водными растворами и дальнейшего фракционирования ГВ является попадание одних и тех же органических соединений в разные фракции.

В этой связи нами была предпринята попытка фракционирования почвенного органического вещества с помощью новой разработанной нами схемы.

**Цель.** Охарактеризовать компонентный состав ПОВ, используя новый подход.

**Материалы и методы.** В качестве объектов исследования были использованы гумусово-аккумулятивные горизонты следующих почв: дерново-подзолистой среднесуглинистой, развитой на карбонатной морене (Umbric Albeluvisols) — ДПП, дерново-карбонатной среднесуглинистой (Rendzic Leptosols) — ДКП, серой лесной среднесуглинистой (Greyic Phaeozems) — СЛП, чернозема типичного среднесуглинистого, развитого на лессе (Voronik Chernozems) — ЧТ.

Из образцов почв последовательно выделялись:

1) фотосинтетические пигменты с помощью 90 % раствора диметилкетона, в полученной вытяжке определялось содержание каротиноидов, хлорофиллов *a*, *b*, ( $c_1+c_2$ ) и феофетинов [9];

2) меланины (предположительно флавоноидной природы) и гликопротеидные конъюгаты или гломалины (термолабильные белки) с помощью 90 % раствора диметилкетона с добавлением ортофосфорной кислоты (20 мл концентрированной  $H_3PO_4$  на 1 л 90 % раствора диметилкетона), гликопротеидные конъюгаты в водном растворе теряли свою агрегативную устойчивость при  $pH \sim 7,0$ , что позволяло отделять эти соединения от меланинов;

3) битумоиды А (нейтральные липиды) — с помощью трихлорметана, при этом центрифугированием отделялись полуразложившиеся и неразложившиеся посмертные остатки и твердые экскреты растений и почвенной биоты;

4) битумоиды С (кислотные липиды, связанные с карбонатами) после обработки 10 % водным раствором  $HCl$  — с помощью этанол-бензольной смеси (отношение этанол:бензол = 1:2);

5) протогуминовые вещества — с помощью 0,5 н. водного раствора КОН.

Полученные экспериментальные данные были обработаны методами вариационной статистики [10,11].

**Результаты.** Результаты исследования представлены в таблицах 1–2.

Таблица 1. Содержание фотосинтетических пигментов

Объект	$S_K$	$S_{ХА}$	$S_{ХВ}$	$S_{Х(C_1+C_2)}$	$S_{Ф}$
	мкг/кг почвы				
ДПП	0,75	0,14	1,09	0,90	1,02
ДКП	1,91	0,13	1,04	1,75	0,94
СЛП	1,44	0,52	0,76	1,09	0,65
ЧТ	0,91	0,57	0,99	1,06	1,03
$F_{факт.}$	5,48	14,10	2,43	9,09	2,18
$F_{05}$	4,07	4,07	4,07	4,07	4,07
$НСР_{05}$	0,74	0,21	0,31	0,41	0,39

Примечания:  $S_K$  — содержание каротиноидов,  $S_{ХА}$  — содержание хлорофиллов *a*,  $S_{ХВ}$  — содержание хлорофиллов *b*,  $S_{Х(C_1+C_2)}$  — содержание хлорофиллов ( $c_1+c_2$ ) и  $S_{Ф}$  — содержание феофетинов; здесь и далее:  $F_{факт.}$  — критерий Фишера фактический,  $F_{05}$  — критерий Фишера табличный при  $P = 95 \%$ ,  $НСР_{05}$  — наименьшая существенная разность при  $P = 95 \%$ .



Таблица 2. Биохимический состав почвенного органического вещества

Объект	Гликопротеидные конъюгаты	Меланины	Протогуминовые вещества	Битумоиды	
				А	С
г/кг почвы					
ДПП	27,2	10,7	53,4	5,7	5,4
ДКП	45,7	13,0	56,0	5,3	6,5
СЛП	23,8	7,0	54,5	5,6	4,8
ЧТ	34,6	13,3	55,6	5,0	5,7
F <sub>факт.</sub>	12,69	25,87	0,14	1,15	5,19
F <sub>05</sub>	4,07	4,07	4,07	4,07	4,07
НСР <sub>05</sub>	8,89	1,86	10,35	1,02	1,06

**Заключение.** На основе проведенных предварительных экспериментов можно констатировать, что в состав органического вещества почв разных климатических входили фотосинтетические пигменты (хлорофиллы *a*, *b* и  $(c_1 + c_2)$ ), феофетины и каротиноиды), гликопротеидные конъюгаты, меланины (предположительно флавоноидной природы) и протогуминовые вещества.

#### **Литература.**

1. Александрова Л. Н. О применении пирофосфата натрия для выделения из почвы свободных гумусовых веществ и их органо-минеральных соединений. *Почвоведение*. 1960; 2:90–96.
2. Кононова М. М. Органическое вещество почвы, его природа, свойства и методы изучения. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 314 с.
3. Flaig W., Beutelspacher H., Rietz E. Chemical Composition and Physical Properties of Humic Substances. Soil Components. Vol. 1. Organic Components. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1975. 1–111.
4. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1990. 325 с.
5. Swift R. S. Organic matter characterization. Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. Ed D. L. Sparks. SSSA Book Series no. 5. Madison (WI): Soil Science Society of America and American Society Agronomy, 1996. 1011–1069.
6. Olk D. C., Perdue E. M., McKnight D. M., Chen Y., Farenhorst A., Senesi N., Chin Y-P., Schmitt-Kopplin P., Hertkorn N., Harir M. Environmental and Agricultural Relevance of Humic Fractions Extracted by Alkali from Soils and Natural Waters. *Journal of Environmental Quality*. 2019; 48(2):217–232.
7. Hayes M. H. B. Solvent Systems for the Isolation of Organic Components from Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2006. 70:986–994.
8. Kleber M., Lehmann J. Humic Substances Extracted by Alkali Are Invalid Proxies for the Dynamics and Functions of Organic Matter in Terrestrial and Aquatic Ecosystems. *Journal of Environmental Quality*. 2019. 48(2):207–216.
9. ГОСТ 17.1.4.02–90. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла *a*. М.: ИПК Изд-во стандартов, 1990. 10 с.
10. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): Учебник для студентов. Изд-е 5-е, перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
11. Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.

# УДАЛЕНИЕ ШУМА ИЗ МАСС-СПЕКТРОВ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МОДЕЛЕЙ ГАУССОВЫХ СМЕСЕЙ

А.А. Потемкин, Д.С. Волков

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

e-mail: a.potemkin.msu@gmail.com; dmsvolkov@gmail.com

**Ключевые слова:** гуминовые вещества; масс-спектрометрия высокого разрешения; удаление шума; машинное обучение.

**Введение.** Полный нецелевой анализ гуминовых веществ (ГВ) – сложной смеси из по меньшей мере нескольких десятков тысяч соединений, является задачей, которая в настоящее время решается преимущественно на уровне подбора молекулярных формул возможных соединений, составляющих гуминовые вещества. Это делается на основании масс-спектров высокого разрешения (порядка 500 000 и выше), полученных методами ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (МС-ИЦР ПФ) или орбитальной ионной ловушки (Орбитрэп). Полученные спектры ГВ состоят из десятков тысяч пиков, при этом большинство из них обладают относительно невысокой интенсивностью. Подбор брутто-формул происходит только на основании точной массы зарегистрированных пиков. Из-за большого числа возможных комбинаций химических элементов и их изотопов алгоритмам удается подобрать молекулярные формулы для подавляющего большинства зарегистрированных сигналов [1]. Поэтому важным предварительным этапом является удаление шума из масс-спектров, поскольку такие пики могут быть ошибочно интерпретированы как соединения, находящиеся в низкой концентрации. За счет большого числа таких пиков это может привести к неверной оценке молекулярного состава исследуемых ГВ.

Применительно к объектам различной природы в литературе предложено несколько подходов для фильтрации шума в масс-спектрах. Наиболее важным для нашей работы является метод, в котором используется распределение интенсивностей масс-спектрометрических пиков [2, 3]. Однако предложенные в рамках данного подхода алгоритмы не поддаются автоматизации, и результат их работы сильно зависит от построенной гистограммы интенсивностей, чей профиль может изменяться при варьировании числа столбцов. Из-за того, что каждый отдельный фильтр несовершенен, в конечных методиках анализа обычно последовательно используется несколько фильтров [4], что мы также учли в нашем исследовании.

**Цель.** Разработка автоматизированного метода удаления шума из масс-спектров высокого разрешения гуминовых веществ с использованием методов машинного обучения.

**Материалы и методы.** В работе использовали масс-спектры фульвокислот воды Fulvagra WSG 90 (Humintech GmbH, Германия) и Suwanne river fulvic acid (SRFA, образец International Humic Substances Society). Спектры зарегистрированы на масс-спектрометре с орбитальной ионной ловушкой Orbitrap Elite (Германия). Спектры регистрировали с максимально доступным номинальным разрешением 480000 (при  $m/z$  400). Настройки системы AGC: полное сканирование  $10^6$  ионов. Напряжение на капилляре источника ионизации электрораспылением 3.20 кВ, температура испарительного капилляра 275 °С. Диапазон регистрируемых  $m/z$  составлял от 120 до 800. Перед измерениями масс-спектрометр калибровали по массам с помощью калибровочных растворов Pierce™ ESI Negative Ion (Thermo Scientific, США) и Pierce™ ESI Positive Ion (Thermo Scientific, США). Алгоритм обработки спектров реализован с помощью языков C++ и Python.

**Результаты.** Для удаления шума мы предложили комбинацию из двух алгоритмов. На первом этапе используется новый метод, в основе которого лежит алгоритм машинного обучения – модели Гауссовой смеси (ГС-модели, Gaussian Mixture Models) [5]. С помощью модели Гауссовой смеси выделяли кластеры значений интенсивности, обусловленные внутренней структурой данных. Следуя логике предшествующих работ [2, 3], кластер, соответствующий сигналам с наименьшей интенсивностью, который описывается первой

гауссовой функцией, считали сформированным преимущественно пиками, относящимися к шуму. В качестве порогового значения интенсивности для последующего удаления шума принимали абсциссу точки пересечения первой и второй гауссовых функций. Такой выбор является компромиссом между фильтрацией шума и сохранением сигналов аналитов, находящихся в низкой концентрации. Принцип работы данного фильтра шума также представлен на рисунках 1 и 2. Мы использовали реализацию ГС-моделей, представленную в библиотеке `scikit-learn` языка Python, потому что она обладает удобным интерфейсом и высокой скоростью обработки данных. На втором этапе к оставшимся пикам применяется широко распространенный фильтр шума, который рассматривает воспроизводимость  $m/z$  пиков в спектрах, измеренных для одного и того же образца [6]. Данный фильтр реализовали на языке C++ для достижения лучшей скорости работы. Двухэтапный фильтр управляется программой, написанной на языке Python, которая последовательно применяет каждый из фильтров к указанным пользователем данным.

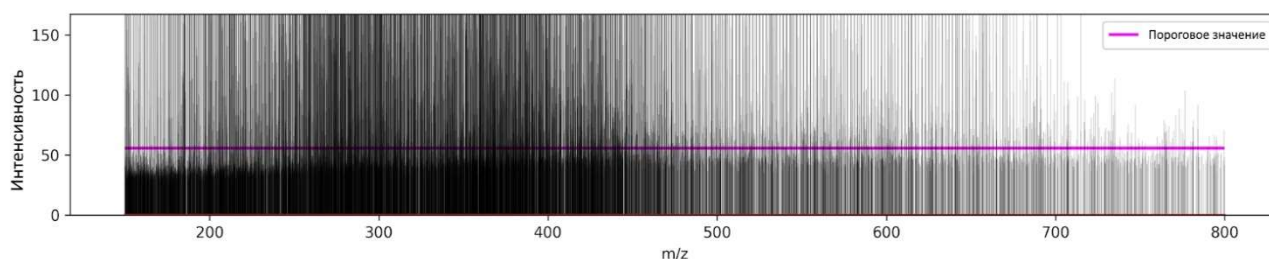


Рисунок 1. Исходный масс-спектр с отображенным пороговым значением интенсивности для шума, которое было определено с помощью фильтра на основе ГС-моделей

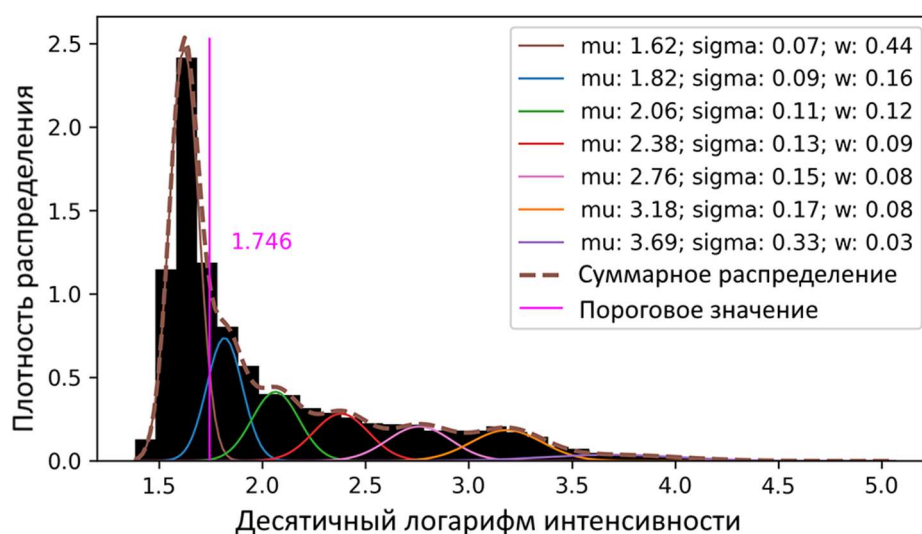


Рисунок 2. Демонстрация внутренней работы фильтра на основе ГС-моделей. Исходное распределение логарифмированных интенсивностей было представлено в виде набора из 7 гауссовых функций. Пороговое значение для интенсивности находится как абсцисса точки пересечения первой и второй гауссиан

Результаты работы алгоритма фильтрации шума на основе ГС-моделей оценивали визуально для тех спектров, где шумовые пики образовывали различимый горизонтальный уровень, как было предложено в работе [2]. Анализ полученных результатов показал, что фильтр на основе ГС-моделей консервативен, то есть найденный порог интенсивности часто оказывается ниже визуально наблюдаемого уровня шума. Но даже такое пороговое значение позволяет удалить из масс-спектра существенное число пиков (10–25%), сохранив больше сигналов аналитов с низким содержанием. Пример удовлетворительно определенной интенсивности шума представлен на рисунках 1 и 2; в этом случае линия, соответствующая пороговому значению интенсивности, проходит выше, но близко к уровню, образованному пиками, относящимися к шуму. Распределение интенсивности

пиков в масс-спектрах, усредненных за фиксированные интервалы времени, имеет сложный профиль. В такой ситуации описанные ранее в литературе методы становятся неприменимы. Но с помощью предложенного алгоритма удалось приблизительно оценить уровень шума. Из-за заниженных оценок интенсивности шума первым фильтром, второй становится необходимой процедурой для удаления остаточного шума, которого больше по сравнению с алгоритмами, описанными в литературе.

**Заключение.** Таким образом, в данной работе впервые описан фильтр шума, использующий ГС-модели для нахождения порогового значения интенсивности. На его основе мы разработали двухэтапный подход, в котором второй алгоритм, основанный на воспроизводимости полезных сигналов, учитывает и убирает ложноотрицательные ошибки, допущенные первым. Подход был протестирован на масс-спектрах ГВ и продемонстрировал хорошие результаты. В дальнейшем планируется использовать скошенное нормальное распределение вместо обычного.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, номер проекта 21-73-20202.*

#### **Литература.**

1. Merder J., Freund J.A., Feudel U., Hansen C.T., Hawkes J.A., Jacob B., Klaproth K., Niggemann J., Noriega-Ortega B.E., Osterholz H., Rossel P.E., Seidel M., Singer G., Stubbins A., Waska H., Dittmar T. ICBM-OCEAN: Processing Ultrahigh-Resolution Mass Spectrometry Data of Complex Molecular Mixtures. *Analytical Chemistry*. 2020;92(10):6832-6838. DOI: 10.1021/acs.analchem.9b05659.

2. Zhurov K.O., Kozhinov A.N., Fornelli L., Tsybin Y.O. Distinguishing Analyte from Noise Components in Mass Spectra of Complex Samples: Where to Cut the Noise? *Analytical Chemistry*. 2014;86(7):3308-3316. DOI: 10.1021/ac403278t.

3. Zielinski A.T., Kourtchev I., Bortolini C., Fuller S.J., Giorio C., Popoola O.a.M., Bogialli S., Tappararo A., Jones R.L., Kalberer M. A new processing scheme for ultra-high resolution direct infusion mass spectrometry data. *Atmospheric Environment*. 2018;178:129-139. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2018.01.034.

4. Southam A.D., Weber R.J.M., Engel J., Jones M.R., Viant M.R. A complete workflow for high-resolution spectral-stitching nanoelectrospray direct-infusion mass-spectrometry-based metabolomics and lipidomics. *Nature Protocols*. 2017;12(2):310-328. DOI: 10.1038/nprot.2016.156.

5. Bishop C. M., Nasrabadi N. M. Pattern recognition and machine learning. New York : Springer; 2006. 738 с.

6. Payne T.G., Southam A.D., Arvanitis T.N., Viant M.R. A signal filtering method for improved quantification and noise discrimination in fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry-based metabolomics data. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 2009;20(6):1087-1095. DOI: 10.1016/j.jasms.2009.02.001.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОЛИЗАТА ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПЕЛОИДОВ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

А.В. Севастьянова\*, А.В. Жданова

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
г. Самара, Россия

e-mail: sevastayha@mail.ru

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, гидролизат, ГХ-МС.

**Введение.** Гуминовые вещества представляет собой продукт естественного биосинтеза, образуются вне живых организмов путем химических преобразований растительных и животных остатков. Гумификация носит хаотичный характер, и диапазон молекулярно-кинетических параметров гуминовых веществ различного происхождения варьируются в широких пределах. Источник гуминовых веществ и способ выделения

определяет их структуру, а также относительное содержание разнообразных функционалов, специфичность связывания структурных элементов, степень конденсации и сопряжения, молекулярные массы и другие характеристики. Также гуминовые вещества пелоидов обладают широким спектром биологической активности. Наличие в составе ГК различных функциональных групп наряду с высокой молекулярной массой позволяет отнести их к группе полиэлектролитов и определяет универсальность воздействия. На данный момент доказано, что гуминовые веществ низкоминерализованных иловых сульфидных грязей обладают регенеративной, противовоспалительной, гепатопротекторной и антиоксидантной активностью.

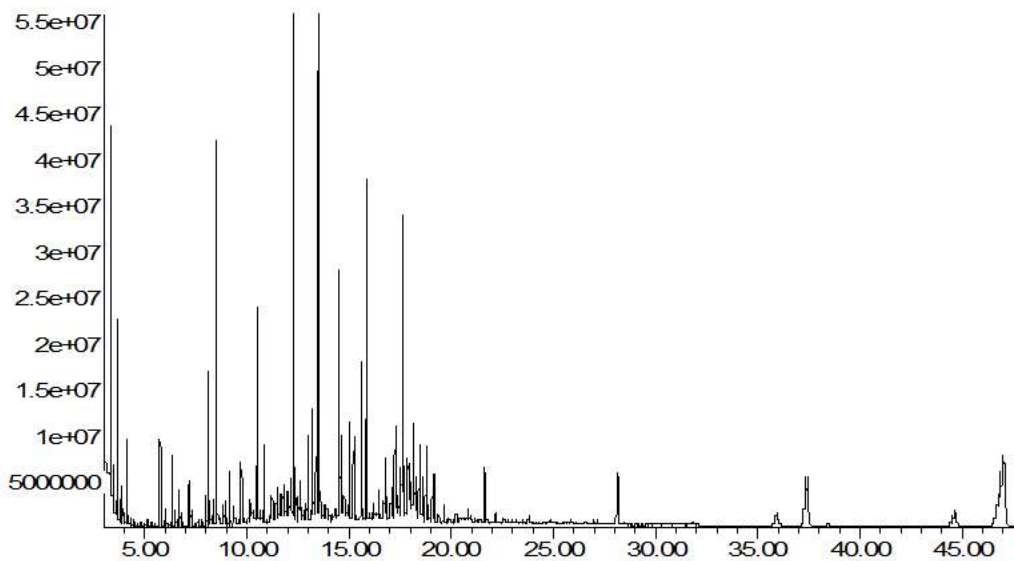
В РФ не зарегистрировано ни одного гуминсодержащего лекарственного средства. Это характеризуется их сложной структурой, существованием в виде мицелярных растворов. Учитывая, что состав фракции варьируется в зависимости от места нахождения, способа выделения гуминовых кислот возникают существенные затруднения для качественной и количественной идентификации конечного образца.

**Цель** работы заключается в идентификации компонентов гидролизата гуминовых кислот низкоминерализованных иловых сульфидных грязей методом хромато-масс-спектрометрии.

**Материалы и методы.** гидролизат, полученный из гуминовых кислот (ГК) низкоминерализованных иловых сульфидных грязей санатория ФГБУЗ МРЦ «Сергиевские минеральные воды» ФМБА России, поселок Серноводск, Самарская область ГК, подвергали кислотному гидролизу в течение 72 часов при температуре  $80 \pm 0,5$  °С. С этой целью к 25 мл раствора ГК с концентрацией 1,0%(масс.) и значением кислотности 7,0 добавляли 5 мл 2 моль/л раствора хлороводородной кислоты. Термостатирование проводили на водяной бане UT-4301E с использованием дефлегматора (ULAB (Юлаб), КНР). Образцы для хроматографирования готовили трехкратной экстракцией продуктов гидролиза гексаном. Элюирование проводили трижды с последующим объединением и высушиванием при 30 °С.

Исследования образцов проводили методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на хроматографе Agilent 7890 А с масс-селективным детектором 5975С. В исследовании применялась кварцевая капиллярная колонка с малополярной неподвижной фазой HP-5ms 30м x 0.25мм с толщиной пленки 0.25 мкм (Agilent, США), виалы Agilent объемом 1,5 мл; дозатор переменного объема 10-100 мкл.; микрошприц Agilent 10 мкл. К сухому остатку экстрагированных продуктов гидролизата добавляли 40,0 мкл N,O-бис(триметилсилил)трифторацетамид (Supelco), смесь выдерживали в герметичном флаконе Agilent при 80°С в течение 30 минут. После остужали смесь до температуры 25 °С и 1 мкл полученного раствора вводили в испаритель хроматографа. Разделение проводили при следующем режиме программирования температуры термостата колонок: 50°С (изотерма 0,5 мин), нагрев до 100 °С со скоростью 75 °С/мин (изотерма 1 мин), нагрев со скоростью 15 °С/мин до 300 °С (изотерма 25 мин), температура испарителя 280°С, режим – постоянный поток, делитель потока 1:40, скорость газа-носителя гелия 1 мл/мин, температура переходной линии 280°С, энергия ионизации – 70 эВ, задержка на выход растворителя 3 мин. Сканирование осуществляли по полному ионному току (ТИС) в диапазоне 45-550 а.е.м. Идентификация компонентов проводилась по стандартным библиотекам.

Abundance



Time→

Рисунок 1. Хроматограмма газовой хромато-масс-спектрометрии гуминовых кислот пелоида

На рисунке 1 представлена хроматограмма ГХ-МС ГК пелоидов. ГХ-МС анализ продуктов гидролиза ГК показал наличие в пробе компонентов кислотной природы, спектр которых достаточно широк, и содержит высокомолекулярные жирные одно- и двухосновные кислоты как насыщенного, так и ненасыщенного типа:

-пропановая, додекановая, неадекановая ( $C_{10}H_{20}O_2$ ), тридекановая, миристиновая ( $C_{14}H_{28}O_2$ ), бегеновая ( $C_{22}H_{44}O_2$ ), тетракозановая, пентакозановая ( $C_{25}H_{51}O_2$ ), церотиновая ( $CH_3(CH_2)_{24}COOH$ ), хенейкозановая ( $C_{21}H_{42}O_2$ ), лауриновая ( $C_{12}H_{24}O_2$ ), цис-, транс-олеиновая, эйкозановая ( $C_{20}H_{30}O_2$ );

- янтарная, бутандиовая, пентандиовая, гександиовая, субериновая ( $C_8H_{14}O_4$ ), себациновая ( $C_{10}H_{18}O_4$ );

- яблочная, метоксигептандиовая, пальмитолеиновая ( $CH_3(CH_2)_5CH = CH(CH_2)_7COOH$ ), хинная кислота ( $C_7H_{12}O_6$ ).

Ароматические карбоновые кислоты ограничены производными коричной ( $C_6H_3CH=CHCOOH$ ), кофейной ( $(HO)_2C_6H_3CH=CHCOOH$ ), бензойной ( $C_6H_5COOH$ ) и 1,4-бензолдикарбоновой ( $C_8H_6O_4$ ) кислот.

Обнаружены в гидролизате кислоты класса омега-3(или 9)-ненасыщенных кислот.

Эфирные производные кислотной фракции представлены в продуктах гидролиза ГК следующими компонентами: моно(2-этилгексил)-1,2-бензолдикарбоновой кислоты, бис(2-метилпропил)-1,2-бензолдикарбоновой кислоты, N-октоксиэтанольный эфир дибутил-1,2-бензолдикарбоновой кислоты, октиловый эфир октадекановой кислоты, динониловый эфир 1,2-бензолдикарбоновой кислоты, 2-гидроксипальмитоил-метилэтилпальмитат.

Нейтральная фракция состоит из высокомолекулярных спиртов: борнеол, лауриловый ( $C_{12}H_{26}O$ ), миристиловый ( $C_{14}H_{30}O$ ), цетиловый ( $CH_3(CH_2)_{15}OH$ ).

**Заключение.** Описанный компонентный состав гидролизата ГК, выделенных из низкоминерализованных иловых сульфидных грязей, состоит из кислотных фракций представленных насыщенными, ненасыщенными, ароматическими кислотами и эфирными производными кислотной группы, и нейтральной фракции, содержащей спирты. Что может свидетельствовать об обладании широкого спектра фармакологической активности ГК.

#### **Литература.**

1. Бузлама А. В., Чернов Ю. Н. Перспективы использования солей гуминовых кислот для разработки новых лекарственных препаратов. В сборнике: Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически

активных веществ. *Материалы 6-й Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016»*, 2016: 196-198.

2. Жернов Ю. В., Жданова А. В., Аввакумова Н. П., Хаитов М. Р. Иммуноантиоксидантная активность гуминовых кислот. *Российский аллергологический журнал*. 2018; 15 (S1-2): 30-31.

3. Аввакумова Н. П., Мизина П. Г., Кривопалова М. А., Жданова А. В., Катунина Е. Е., Глубокова М. Н. Противовоспалительная активность гуминовых кислот пелоидов. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018; 21 (6):33-37.

4. Аввакумова Н. П., Кривопалова М. А., Глубокова М. Н., Катунина Е. Е., Жданова А. В. Получение и свойства низкоминерализованных фульвовых кислот пелоидов. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2020; 23(5): 3-9.

5. Perminova I. V., Hatfield K. Remediation chemistry of humic substances: theory and implications for technology. Use of Humic Substances to Remediate Polluted Environments: *From Theory to Practice, NATO Science Series IV: Earth and Environmental Sciences 52, Springer, Dordrecht, The Netherlands*, 2005, Chapter 1, 3–36.

6. Логвинова Л. А., Зыкова М. В., Кривошеков С. В., Дрыгунова Л. А., Передерина И. А., Голубина О. А., Перминова И. В., Константинов А. И., Белоусов М. В. Сравнительное фармакогностическое исследование низинных древесно-травяных видов торфа различного происхождения для обоснования их использования в качестве перспективных источников биологически активных гуминовых кислот. *Химия растительного сырья*. 2022;1:277-288.

7. Joly H. A., Li H., Belzile N. Pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry of humic substances extracted from Canadian lake sediments. *Canadian Journal of Chemistry*. 2000; 78(1):51-63.

8. Аввакумова Н. П., Степанов Г. В., Кривопалова М. А., Глубокова М. Н., Катунина Е. Е., Жданова А. В., Ульянова Л. Г. Способ получения гуминовых кислот из некондиционных пелоидов // Патент на изобретение 2744469 С1, 09.03.2021. Заявка № 2020131211 от 21.09.2020.

9. Griffiths, P.; de Hasseth, J.A. *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (2nd ed.). Wiley-Blackwell. ISBN 0471194042. 2007., p. 75-76

## ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ВЕРХОВОГО ТОРФА В ПРОЦЕССЕ ДЕГИДРАТАЦИИ

С.Б. Селянина<sup>1</sup>, И.В. Соколова<sup>2\*</sup>, И.Н. Зубов<sup>1</sup>, А.С. Орлов<sup>1</sup>, А. А. Солоха<sup>2</sup>,  
А.А. Федорова<sup>2</sup>, О.Н. Чайковская<sup>2</sup>, Т.И. Пономарева<sup>2</sup>, О.Н. Ярыгина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени акад.  
Н.П. Лаверова УрО РАН, г. Архангельск, Россия

<sup>2</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск,  
Россия

e-mail: sokolova@phys.tsu.ru

**Ключевые слова:** верховой торф, гуминовые вещества, спектры поглощения, спектры флуоресценции, осушение

**Введение.** Гуминовые вещества (ГВ) играют важную роль в процессе формирования биосферы Земли [1]. Повышенный интерес к ГВ связан с такими глобальными тенденциями, как изменение климата, снижение плодородия почв, нарастание экологических проблем [2]. ГВ являются сложными системами, они могут поглощать свет и передавать световую энергию другим компонентам водных растворов, в некоторых случаях сильно влияя на фотолиз ксенобиотиков. Изучение спектров поглощения и флуоресценции различных образцов гуминовых веществ актуально, так как позволяет определять влияние оптического излучения природного и техногенного происхождения на биогеосистемы. Вопрос оценки влияния мелиорационных мероприятий на состав, структуру и свойства ГВ и торфа в целом, особенно в отношении северных регионов,

изучен недостаточно, хотя освоение заболоченных территорий неизбежно связано с процессами их осушения.

**Цель** представляемого исследования состоит в изучении влияния процесса дегидратации торфа на спектральные характеристики гуминовых веществ.

**Материалы и методы.** Исследованы образцы верхового торфа типичного олиготрофного болотного комплекса севера России, расположенного в Мезенском районе Архангельской области, и выделенные из них гуминовые вещества. Торф отбирали методом послойного бурения из аэрируемой части залежи (проба МК-1) и из условно анаэробной зоны (проба МК-2). За глубину гумификации (ГК/ФК) принимали соотношение массовых долей гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК). Для изучения влияния дегидратации торфа на характеристики ГВ выполнено лабораторное моделирование этого процесса. Спектры поглощения и флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре СМ 2203 (производство компании «Солар», Беларусь). Длина оптического пути ячейки 10 мм, ширина щелей монохроматора 5 мм.

**Результаты.** Согласно полученным экспериментальным данным исследуемые образцы типичны для верхового торфа, но при этом по некоторым показателям существенно отличаются между собой. Большая продолжительность процессов биогеотрансформации органического вещества в ходе торфообразования в нижней части залежи в совокупности с некоторым увеличением зольности (с 1.59 до 5.86 %) обуславливает двукратное повышение степени разложения торфа по сравнению с торфом верхнего характеристического горизонта.

Полученные значения распределения частиц по размерам близки к ранее изученным характеристикам гуматов верхового торфа [3]. Электронные спектры поглощения ГВ представляют собой плоские, смещенные в область длинных волн кривые без четко выраженных полос или максимумов поглощения. Наличие плеча в области 280 нм объясняется переходом фульвокислот в раствор [4]. Наибольшая интенсивность полос в спектрах поглощения наблюдается в образцах ГВ, выделенных из торфа с наименьшей степенью дегидратации. С глубиной залегания и, соответственно, с повышением степени разложения торфа, растет интенсивность спектров поглощения, выделенных из него ГВ, причем наиболее отчетливо это проявляется для образцов с наименьшей степенью дегидратации. Флуоресцентная спектроскопия на сегодняшний день является одним из наиболее информативных и распространенных методов изучения характеристик ГВ [5].

Сочетание высокой чувствительности и подходящего временного диапазона позволяет получить дополнительные сведения о гуминовых веществах [6]. Спектры флуоресценции исследованных образцов ГВ, выделенных из торфа на разной глубине, различаются. Уменьшение влажности торфа сглаживает разницу в интенсивности и форме полос флуоресценции двух образцов ГВ.

**Заключение.** Полученные закономерности подтверждают чувствительность спектральных характеристик и необратимый характер изменения гуминовых веществ торфа при осушении торфяников. Следует отметить, что повторное обводнение осушенных территорий, вероятнее всего, не обеспечит восстановление свойств гуминовой составляющей торфа, как физико-химических, так и спектральных до исходных значений, свойственных для ненарушенных заболоченных ландшафтов. Данные указывают на возможность использования спектрально-люминесцентных свойств гуминовых веществ для обнаружения изменений, происходящих в торфяной залежи, и, совместно с ее физико-химическими свойствами, оценивания состояния болотных экосистем под антропогенной нагрузкой.

*Результаты были получены при поддержке Минобрнауки России, проекты № 0721-2020-0033 и № АААА-А18-118012390224-1.*

#### **Литература.**

1. Girard J. E. Principles of Environmental Chemistry. 3rd ed. Boston: Jones & Bartlett Learning; 2013. 712 p.



2. Perminova I. V., Kulikova N. A., Zhilin D. M., Grechischeva N. Yu., Kovalevskii D. V., Lebedeva G. F., Matorin D. N., Venediktov P. S., Konstantinov A. I., Kholodov V. A., Petrosyan V. S. Mediating effects of humic substances in the contaminated environments. In: *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*. Twardowska, I. et al. (Eds.). Dordrecht: Springer, 2006. 3–23.

3. Селянина С. Б., Орлов А. С., Зубов И. Н., Канарский А. В., Гаврилов С. В., Хабаров Ю. Г. Влияние электрохимической обработки на дисперсный состав гуминовых соединений. *Химия твердого топлива*. 2021;2:13–17. DOI: 10.31857/S0023117721020080

4. Гаврильчик А. П., Кашинская Т. Я. Трансформация свойств торфа при антропогенном воздействии. Минск: Белорусская наука; 2013. 306 с.

5. Sierra M. M., Giovanela M., Parlanti E., Soriano-Sierra E. J. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere*. 2005;58:715–733.

6. Pallem V. L., Stretz H. A., Wells M. J. M. Evaluating aggregation of gold nanoparticles and humic substances using fluorescence spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 2009;43(19):7531–7535 DOI: 10.1021/es901201z.

## Гуминовые вещества в биомедицинских технологиях

### PREDICTIVE MODEL FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY SCREENING OF HUMIC ACIDS

K.A. Bratishko<sup>1\*</sup>, E.E. Buyko<sup>1</sup>, V.V. Ivanov<sup>1</sup>, K.S. Brazovsky<sup>2</sup>, S.V. Romanenko<sup>1,2</sup>, M.V. Belousov<sup>1,2</sup>, M.V. Zykova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>National Research Tomsk Polytechnic University

e-mail: kr-1295@mail.ru

**Keywords:** *humic acids, antioxidants, QSAR*

**Introduction.** Humic acids (HAs) are supramolecular ensembles of biomacromolecules oxidative degradation products with a high degree of disorder. HAs have a wide range of pharmaceutical activities, one of the key ones being antioxidant activity (AOA). However, the selection of promising samples requires significant time and financial input as a large number of screening tests for AOA study are required. In this work, we propose an approach based on Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) model to predict the AOA of HAs based on their structure parameters.

**Aim of the study.** To establish the relationship between physicochemical parameters of the peat HAs structure and AOA by mathematical modeling.

**Materials and Methods.** The objects of the study are HAs isolated from nine different types of peat of the Tomsk region (lowland, transitional and upland peat) using two different extractants: 0.1 M NaOH and 0.1 M Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. The Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) approach was used to build a model based on quantitative analysis of the relationship between the parameters characterizing the chemical structure of peat HAs and their AOA.

46 physicochemical parameters of HA structure were used as chemical structure parameters. 10 AOA parameters were used as parameters of biological activity. Pearson's criterion was used to identify correlations between AOA parameters and physicochemical parameters of HA structure.

**Results.** According to the results of correlation analysis it was found that only 9 out of 46 physicochemical parameters of HA structure correlate with 10 parameters of their AOA and cell-protective properties, and no significant correlations were found for the rest molecular parameters.

According to the results of correlation analysis, the relationship between AOA and the content of phenolic groups according to IR-, <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy, titrimetric analysis, the total

amount of carboxyl and phenolic groups according to titrimetric analysis, the concentration of PMC according to EPR data and the color coefficient ( $Q_{4/6}$ ) according to electron spectroscopy was established.

**Conclusion.** Thus, based on the correlation analysis, we can conclude that the key structural fragments responsible for the manifestation of HA AOA are phenolic groups and paramagnetic centers. The obtained results can be used as a screening tool for predicting the AOA of HAs.

*The work was financially supported by the Ministry of Health of the Russian Federation (State assignment No. 056-00071-22-02).*

## БИОДОСТУПНОСТЬ ЖЕЛЕЗА НОВЫХ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ *IN VITRO*

Е.Е. Буйко<sup>1\*</sup>, А.М. Жиркова<sup>2</sup>, В.В. Иванов<sup>1</sup>, А.А. Уфандеев<sup>1</sup>, Е.А. Перина<sup>1</sup>,  
К.А. Братишко<sup>1</sup>, М.В. Зыкова<sup>1</sup>, М.В. Белоусов<sup>1</sup>, И.В. Перминова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава  
России, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия  
e-mail: buykoevgen@yandex.ru

**Ключевые слова:** железodefицитная анемия, гуминовые вещества, Caco2, феррозиновый тест.

**Введение.** Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, железodefицитная анемия (ЖДА) является наиболее распространенным видом анемий, которым страдает до 30% мирового населения (около 2,5 миллиардов человек) [1]. Терапия пациентов с ЖДА направлена на пополнение запасов железа в организме и повышение уровня гемоглобина до нормальных значений [2]. Пероральные препараты железа используются в качестве терапии первой линии, и разработка новых железосодержащих субстанций для эффективного лечения ЖДА сохраняет актуальность. С использованием отдельных фракций гуминовых веществ (ГВ) были синтезированы образцы новых комплексов железа(III), которые могут лечь в основу разработки нового типа железосодержащих препаратов с улучшенным профилем биодоступности железа и безопасности.

**Цель.** Оценить биодоступность железа синтезированных железосодержащих препаратов на основе ГВ с использованием *in vitro* тестирования на культуре клеток Caco2.

**Материалы и методы.** Клетки линии Caco2 рассаживали в количестве 100 тыс. клеток/лунку 12-луночного культурального планшета в 1 мл полной питательной среды (ППС) DMEM/F-12 (Gibco, США) и оставляли на ночь для адгезии. На следующий день к клеткам вносили образец железосодержащего комплекса фульвокислот (FAFe2), образец железосодержащего комплекса гуминовых кислот (СНР-Fe2) или препарат сравнения Феррум лек (Ferrum-Lek, Железа III гидроксид полимальтозат, Лек д.д., Словения) до конечной концентрации 50 мкг/мл по железу(III). После инкубации в течение 24 ч к клеткам добавляли концентрированную соляную кислоту и инкубировали в течение 1 ч (60 °С) и 12 ч при комнатной температуре, затем – проводили количественное определение содержания железа в клетках феррозиновым методом, как описано [3] с незначительными модификациями. Расчет проводился по калибровочной кривой, построенной для эталона FeCl<sub>3</sub>\*6H<sub>2</sub>O (Sigma Aldrich, США). Для количественного выражения концентраций железа в клетках измеряли количество белка в пробах клеточных лизатов ВСА-методом как описано [4]. Экспериментальные данные обрабатывали с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Все результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения (M±SD). Проверку на нормальность распределения значений осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Анализ статистической значимости различий между выборками выполняли при помощи t-критерия Стьюдента, статистически значимым считали результат при p<0,05.

**Результаты.** Высвобождение железа из исследуемых образцов и препарата сравнения Ferrum-Lek и его накопление в клетках линии Caco2 оценивалось с использованием феррозина, который признается эффективным хелатором железа и применяется для определения железа в биологических образцах [3]. Результаты проведенных экспериментов представлены на Рисунке 1.

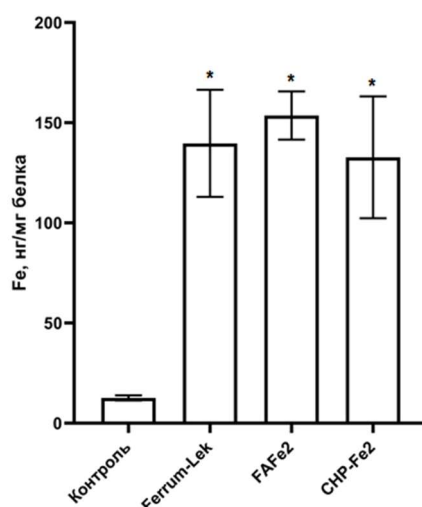


Рисунок 1. Содержание железа в клетках линии Caco2 после инкубации с исследуемыми образцами железосодержащего комплекса фульвокислот (FAFe2), железосодержащего комплекса гуминовых кислот (CNP-Fe2) или препаратом сравнения Феррум лек (Ferrum-Lek) в конечной концентрации 50 мкг/мл в течение 24 ч, M±SD. \* - статистически значимые различия по сравнению с контролем.

После инкубации контрольных клеток (без внесения образцов или препарата сравнения Феррум лек) уровень железа составил 12,63±2,25 нг/мг белка. Внесение в инкубационную среду препарата сравнения в конечной концентрации 50 мкг/мл (по железу в составе препарата) приводило к увеличению концентрации железа в клетках более чем в 10 раз (до 139,70±46,23 нг/мг белка, p<0.05). Инкубация клеток линии Caco2 в течение 24 часов с образцами FaFe2 и CNP-Fe2 в концентрации 50 мкг/мл железа привела к сравнимому увеличению уровня железа в клеточном лизате до 153,59±20,81 нг/мг белка (p<0.05) и 132,73±52,65 нг/мг белка (p<0.05), соответственно.

**Заключение.** В результате проведенных экспериментов установлено, что железо, высвобождающееся из синтезированных железосодержащих препаратов на основе ГВ, обладает высокой биодоступностью в отношении клеток линии Caco2, сопоставимой с таковой у препарата сравнения Феррум лек.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Здравоохранения РФ (Государственное задание № 056-00071-22-02).

#### **Литература.**

1. Kumar A., Sharma E., Marley A., Samaan M. A., Brookes M. J. Iron deficiency anaemia: pathophysiology, assessment, practical management. *BMJ open gastroenterology*. 2022;9(1):e000759. DOI: 10.1136/bmjgast-2021-000759.
2. Camaschella C. Iron deficiency. *Blood. The Journal of the American Society of Hematology*. 2019;133(1):30-39. DOI: 10.1182/blood-2018-05-815944.
3. Riemer J., Hoepken H. H., Czerwinska H., Robinson S. R., Dringen R. Colorimetric ferrozine-based assay for the quantitation of iron in cultured cells. *Analytical biochemistry*. 2004;331(2):370-375. DOI: 10.1182/blood-2018-05-815944.
4. Olson, B. J. Assays for determination of protein concentration. *Current protocols in pharmacology*. 2016;73(1):A-3A. DOI: 10.1002/cpph.3.

# СИНТЕЗ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА (III) С ГУМИНОВЫМИ И ПОЛИСАХАРИДНЫМИ МАКРОЛИГАНДАМИ ДЛЯ БОРЬБЫ С ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ. ОЦЕНКА ИХ БИОДОСТУПНОСТИ И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

А.М. Жиркова, Юй Джан, В.Ю. Тюрин, И.В. Перминова  
Химический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия  
e-mail: Zhirkova\_am@mail.ru

**Ключевые слова:** гуминовые вещества, цикловольтамперометрия

**Введение.** Наночастицы серебра имеют обширное применение в медицине в качестве антибактериальных средств [1]. Было показано, что гуминовые вещества (ГВ) могут выступать в качестве восстановителя серебра и стабилизатора наноразмерного состояния [2]. Для усиления данного свойства была проведена дополнительная модификация ГВ с помощью различных фенолов и хинонов, с целью получить обширный диапазон значений окислительно-восстановительных потенциалов. В нашей лаборатории были синтезированы образцы, обогащенные такими редокс центрами как 1,4-дигидроксибензол (гидрохинон (HQ), 2-метил-1,4-дигидроксибензол (2-метилгидрохинон (MNQ), 1,4-бензохинон (BQ), 1,2- дигидроксибензол (пирокатехин (PC), 1,4-нафтохинон и 2-гидрокси-1,4-нафтохинон (2ОНNQ).

**Цель.** В связи с этим актуальной задачей является изучение окислительно-восстановительной способности ГВ и их производных. Нами был применен метод цикловольтамперометрии (ЦВА).

**Материалы и методы.** В качестве объектов исследования были использованы низкомолекулярные аналоги: 1,4-дигидроксибензол (гидрохинон (HQ), 2-метил-1,4-дигидроксибензол (2-метилгидрохинон (MNQ), 1,4- бензохинон (BQ), 1,4-нафтохинон и 2-гидрокси-1,4-нафтохинон (2ОНNQ) гуминовые и фульвокислоты угольного и торфяного происхождения, а также их модифицированные производные.

В качестве основного метода был применен метод цикловольтамперометрии в апротонном растворителе. Параметры съемки: С = 1 г/л, Pt, 100 мМ ТВАНР, DMSO, скорость развертки 100 мВ/с, vs. Ag/AgCl, инертная атмосфера.

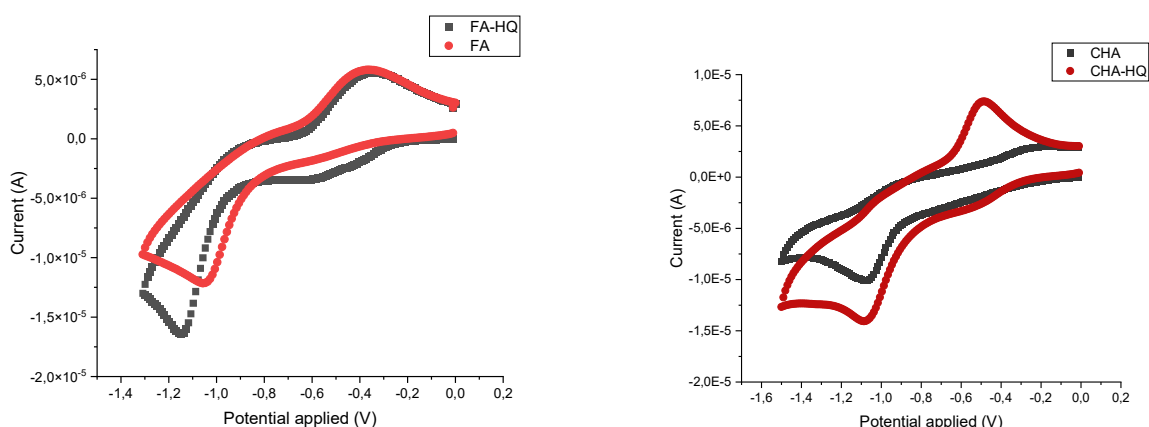
**Результаты.** В соответствии с данными, приведенными в таблице1, следует отметить, что для ГФК пик окисления при более высоком потенциале, чем для отдельных гуминовых кислот и фульвокислот. Можно предположить, что это связано с межмолекулярным окислительно-восстановительным взаимодействием. При этом при модификации гидрохиноном для фульвокислот потенциал более низкий, чем для немодифицированных кислот, а для гуминовых кислот разница менее заметна, что говорит о малом влиянии гидрохинона на потенциал окисления.

Таблица 1. Значения потенциалов окисления/восстановления соединений гуминовых веществ, их редокс-производных и низкомолекулярных модельных соединений.

Шифр	Название	Ерк		Ера	
		Ерк1	Ерк2	Ера1	Ера2
Низкомолекулярные соединения					
O2	Кислород	-0.60/-0.85*			
BQ	Бензохинон	-0.38/-0.28*	-1.40/-1.02*		
HQ	Гидрохинон	0.62	-0.06	0.86	
2-HNQ	2-гидрокси1,4-нафтохинон	-0.56/-0.41	-1.64/-1.14		
MNQ	2-метил1,4-нафтохинон	-0.71/-0.52	-1.44/-1.30		
Гуминовые и фульвокислоты					
Sfa-sk	Фульвокислоты торфа	-0,56/-0,37	-1,06		
FA-HQ	Гидрохинонобогатенные фульвокислоты торфа	-0,39/-0,36	-1,14	0,87/0.20	

Шифр	Название	Ерк		Ера	
		Ерк1	Ерк2	Ера1	Ера2
СНА-НQ-	Гидрохинонобогатенные угольные гуминовые кислоты	-0.51/-0.48	-1.09		
СНА-Phf-	Угольные гуминовые кислоты Торфяные гуминовые и фульвокислоты	-0.51/-0.25	-1.05		
t7h98		-0.37/ -0.35	-1.02		
СНА-Gen	Угольные гуминовые кислоты фирмы Генезис	-	-1.07/ -0.89	-0.24	
СНF-GL02	Угольные гуминовые вещества	-0.50/-0.47	-1.01		
Pha-sk-00	Торфяные гуминовые кислоты	-	-1.04	-0.48	

\*- на обратном скане



а) б)  
 Рисунок 1. Цикловольтамперограммы соединений а) FA-HQ и FA, б) СНP-НQ и СНP

Было выполнено сравнение катодной области гидрохинон обогатенной производной и исходных фульвокислот для определения влияния модификации. Как можно видеть, анодный пик сдвинулся в более отрицательную область потенциала и появился малоинтенсивный пик на  $-0,6$  V и, связанный с ним, пик восстановления на  $-1.0$  V. При сравнении вольтамперограмм гуминовых кислот и их гидрохинонобогатённой производной можно отметить увеличение интенсивности пика окисления у производной в сравнении с исходными гуминовыми кислотами, также стоит отметить появления катодного пика восстановления, который соответствует восстановлению окислённого гидрохинона.

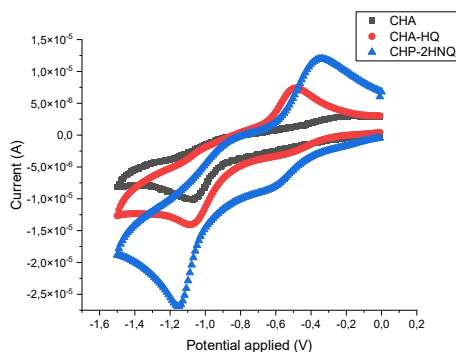


Рисунок 2. ЦВА соединений СНP, СНP-НQ, СНP-2HNQ. (C = 1 г/л, Pt, 100 мМ ТВАНP, DMSO, скорость развертки 100 мВ/с, vs. Ag/AgCl)

При сравнении трех ЦВАГ гуминовых препаратов было отмечено, что интенсивность пиков увеличивается при одной концентрации. Сдвиг пиков связан, в частности, с увеличением силы тока.

**Заключение.** Образцы были исследованы методом ЦВА, при сравнении вольтамперограмм гуминовых кислот и их гидрохинонобогачённой производных можно отметить увеличение интенсивности пика окисления у производной в сравнении с исходными гуминовыми кислотами, также стоит отметить появления катодного пика восстановления, который соответствует восстановлению окислённого гидрохинона, что говорит об увеличении электродонорной способности и перспективности применения данных препаратов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ 20-63-47070 от 29 мая 2020 г*

#### **Литература.**

1. Букина Ю. А., Сергеева Е. А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра. *Вестник Казанского технологического университета*. 2012;14.

2. Лесничая М. В., Александрова Г. П., Долмаа Г., Сапожников А. Н., Сухов Б. Г., Рэгдэл Д., Трофимов Б. А. Синтез серебросодержащих нанокмпозитов на основе гуминовых веществ бурого угля и их антиоксидантная активность. *Доклады академии наук*. 2014; 456 (1):56.

## НАПРАВЛЕННЫЙ ПОИСК НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ БЕТА-ЛАКТАМАЗ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРИРОДНЫХ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Сунь Имин, С.А. Владимиров, Т.А. Михневич, Г.Д. Рухович, В.Р. Закиров, А.Б. Воликов,  
В.Г. Григоренко, М.Ю. Рубцова, И.В. Перминова  
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
Химический факультет, г. Москва, Россия  
e-mail: vladimirof.work@gmail.com

**Ключевые слова:** гуминовые вещества, фракционирование, антибиотикорезистентность, сериновые  $\beta$ -лактамазы, ChEMBL

**Введение.** Антибиотики на основе  $\beta$ -лактамов успешно борются с широким спектром бактериальных инфекций, но их эффективность снижается из-за появления и распространения антибиотикорезистентных штаммов бактерий. Одной из наиболее распространенных причин антибиотикорезистентности является разрушение  $\beta$ -лактамного кольца антибиотиков сериновыми  $\beta$ -лактамазами [1]. Хотя существуют ингибиторы  $\beta$ -лактамаз, они также становятся менее неэффективными из-за возникновения мутаций, которые делают бактерии устойчивыми к этим ингибиторам. Поэтому актуальной задачей является нахождение новых ингибиторов  $\beta$ -лактамаз.

Гуминовые вещества (ГВ) – это обширный класс природных соединений с широким спектром биологической активности, включая способность ингибировать  $\beta$ -лактамазы, антиоксидантную активность, антивирусные свойства и т.д. В предыдущих работах [2, 3] нашей группы было показано, что узкая «фенольная» фракция гуминовых веществ, извлекаемая при рН = 7, обладает высокой ингибирующей активностью в отношении  $\beta$ -лактамаз.

Фракционирование ГВ и выделение фракций с высокой ингибирующей активностью в отношении  $\beta$ -лактамаз в сочетании с изучением механизма действия гуминовых ингибиторов  $\beta$ -лактамаз методами молекулярного докинга позволило бы вплотную приблизиться к решению задачи направленного выделения компонентов природных ГВ с высокой ингибирующей активностью.

**Цель** данной работы состояла в разработке эффективного подхода к препаративному выделению тонких фенольных фракций ГК и изучению механизма их ингибирующего действия в отношении  $\beta$ -лактамаз методами молекулярного докинга.

**Материалы и методы.** Фракционирование ГВ проводилось на картриджах для твердофазной экстракции Bond Elute PPL объемами 60 мл (5 г сорбента) (Agilent Technologies). Для получения фракций методом эксклюзионной хроматографии использовался ВЭЖХ хроматограф Shimadzu Prominence, снабженном спектрофотометрическим и флуориметрическим детекторами и коллектором фракций. Масс-спектры выделенных фракций ГВ были проанализированы на ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье. Для идентификации возможных индивидуальных компонентов смеси ГВ использовали процесс дерепликации на основе базы данных ChEMBL. Исследование воздействия предполагаемых индивидуальных компонентов смеси проводили с применением молекулярного докинга.

### **Результаты.**

1. Впервые выполнено выделение и скрининг ингибирующей активности трех фенольных фракций из растворов ГК угля при pH 7, 8 и 9, которое показало наличие максимальной биологической активности у фракции при pH 8. Масштабирование выделения впервые позволило получить более 1 г биологически активных фракций ГВ, обладающих повышенной способностью ингибировать  $\beta$ -лактамазы

2. Характеристика препаративного образца активной фракции методом МС ИЦР ПФ показала воспроизводимость молекулярного состава СНI-pH8 при повторном выделении. Впервые методом тритиевой метки экспериментально показана максимальная гидрофобность фракции СНI-pH8: LogP составил -0.40 по сравнению с -0.55 для СНI-pH7 и СНI-pH9, и, особенно, с исходным образцом СНI (-1.22).

3. Определение  $IC_{50}$  для фракции СНI-pH8 по отношению к  $\beta$ -лактамазам TEM-1 и TEM-18 показало шестикратное увеличение активности для TEM-18 и составило: 99 и 14 мг/л для TEM-1 и TEM-18, соответственно. Узкая фракция СНI-pH8 может быть использована для поиска гуминовых ингибиторов  $\beta$ -лактамаз класса А.

4. На основании данных молекулярного докинга трех гуминоподобных соединений, найденных методом дерепликации в базе данных ChEMBL, с активным центром  $\beta$ -лактамаз TEM-1 и TEM-18 было показано, что соединение 1 может входить в активный центр как TEM-1, так и TEM-18, связываясь водородной связью с SER70, участвующим в каталитическом механизме гидролиза  $\beta$ -лактамного кольца. Соединение 1 не имеет  $\beta$ -лактамного кольца и его структура может рассматриваться в качестве молекулы-лидера с целью дальнейшей модификации и разработки небеталактамых ингибиторов  $\beta$ -лактамаз нового гуминового типа.

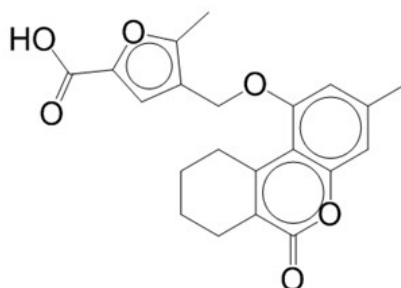


Рисунок 1. Структура «гуминоподобного» лиганда 1, показавшая наиболее высокие значения аффинности связывания с активным сайтом  $\beta$ -лактамазы

**Заключение.** В результате работы были идентифицированы предполагаемые индивидуальные компоненты смеси ГВ (рис. 1.), предложен возможный механизм действия ГВ на  $\beta$ -лактамазы TEM-1, предложены структуры новых не- $\beta$ -лактамных ингибиторов сериновых  $\beta$ -лактамаз гуминовой природы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант №21-73-20202).*

### *Литература.*

1. Biondi, S., Long, S., Panunzio, M., & L Qin, W. Current trends in  $\beta$ -lactam based  $\beta$ -lactamases inhibitors. *Current medicinal chemistry*. 2011; 18(27): 4223-4236. <https://doi.org/10.2174/092986711797189655>

2. Mikhnevich T. A., Vyatkina A. V., Grigorenko V. G., et al. Inhibition of class A  $\beta$ -lactamase (TEM-1) by narrow fractions of humic substances. *ACS omega*. 2021; 6 (37): 22873-23883. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c02841>

### THE DISTRIBUTION STUDY OF IRON-CONTAINING ACTIVE PHARMACEUTICAL SUBSTANCE BASED ON HUMIC LIGANDS $^{57}\text{Fe}$ -LABELED IN THE RATS BODY ON THE ACUTE POSTHEMORRHAGIC ANEMIA MODEL

I.S. Kopnov<sup>1\*</sup>, A.M. Zhirkova<sup>2</sup>, M.V. Kuznetsova<sup>1</sup>, E.S. Rabtsevich<sup>1</sup>, K.A. Bratishko<sup>1</sup>, V.V. Ivanov<sup>1</sup>, E.E. Buyko<sup>1</sup>, A.A. Ufandeev<sup>1</sup>, L.A. Azarkina<sup>1</sup>, D.A. Mikhalyov<sup>1</sup>, V.N. Mitsukova<sup>1</sup>, I.V. Perminova<sup>2</sup>, M.V. Zyкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Lomonosov MSU, Кафедра фармацевтического анализа of Chemistry, Moscow, Russia  
e-mail: kopnov98@mail.ru

**Keywords:** humic substances, iron-deficiency anemia, inductively coupled plasma mass spectrometry

**Introduction.** Iron is an essential micronutrient, an essential component of key metabolic processes and plays a central role in the binding and transport of oxygen. Iron deficiency is the most common cause of iron deficiency anemia and is corrected only with iron preparations.

Promising in this regard are humic substances, which are natural macroligands with high affinity for binding Fe(III), which can be considered as potential ligands for the creation of iron-containing compounds for replacement therapy in the correction of iron deficiency anemia.

**Aim.** Investigate the distribution of  $^{57}\text{Fe}$  isotope in rat organs and tissues on the model of acute posthemorrhagic anemia.

**Materials and methods.** The synthesis of two investigated iron-containing substances consisting of humic substances matrix and  $^{57}\text{Fe}$  isotope was carried out by the team of the laboratory of natural humic systems of the Кафедра фармацевтического анализа of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Faculty of Chemistry, Moscow State University named after M. V. Lomonosov. CHP-Fe $^{57}$ (Humic acids: Fe (4:1), where 50.23%  $^{57}\text{Fe}$  from  $^{56}\text{Fe}$ ) and FA-Fe $^{57}$ (Fulvic acids: Fe (3.6:1), where 50.23%  $^{57}\text{Fe}$  from  $^{56}\text{Fe}$ ).

A model of acute posthemorrhagic anemia was chosen to create, in the shortest possible time, iron deficiency in the bone marrow and other depot organs

Acute blood loss was performed on male rats (28 animals) of Wistar line of conventional category weighing 225-352 g.

Starting from day 8, the animals of the first group (negative control, n = 7) were administered purified water in the volume of  $4 \pm 0.1$  ml intragastrically daily for 7 days after acute blood loss. The second group (n = 7) served as a positive control, and animals of this group received the reference preparation - Ferrum Lek® syrup (Slovenia) at a dose of 17 mg/kg in terms of elemental iron daily intragastrically for 7 days. Animals of the third and fourth groups (n = 7) were daily intragastrically administered iron-containing APS based on humic substances (CHP- $^{57}\text{Fe}$  and FA- $^{57}\text{Fe}$ , respectively) labeled with  $^{57}\text{Fe}$  at a dose of 17 mg/kg in terms of elemental iron for 7 days.

To assess the distribution of iron in the rat body,  $^{57}\text{Fe}$  was determined in the tissues of internal organs (bone marrow, spleen, small and large intestine, kidneys).



Analyzed tissue samples of experimental rats after necroscopy were dried in a desiccator and transferred to crucibles.

For analysis on a quadrupole mass spectrometer with inductively coupled plasma of low-resolution Agilent 7500sx, the ashing technique was used, which allowed complete destruction of the analyzed sample.

**Results.** The FA-Fe57 sample showed the highest <sup>57</sup>Fe isotope content in kidney and large intestine.

The CHP-Fe57 sample showed the highest content <sup>57</sup>Fe isotope content in hematopoiesis organs (bone marrow, spleen) and small intestine.

Conclusion. CHP-Fe57 and FA-Fe57 samples accumulate in hematopoietic organs and other depots, which proves their promise as antianemic drugs.

*The work was carried out with the financial support of the State Task of the Ministry of Health of the Russian Federation (No. 056-00071-22-02).*

## АНАЛИЗ ТОРФА, КАК СЫРЬЯ ДЛЯ КОММЕРЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА

К.А. Кретинин\*, Д.А. Михалёв, А.А. Митина, А.В. Першина, М.В. Зыкова  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск, Россия  
e-mail: kka.ssmu@mail.ru

**Ключевые слова:** торф, сырье, гуминовые вещества, элементный анализ, антиоксидантная активность

**Введение.** Торф - это осадочная ископаемая порода, образованная отмершими и неполно разложившимися остатками растений в анаэробной и избыточно увлажненной среде, такой как болото. Торф находит множество применений: в сельском хозяйстве и растениеводстве как удобрение, в топливной промышленности как горючее полезное ископаемое, в химической и фармацевтической промышленности для получения ряда применяемых в различных областях продуктов и лекарственных средств. Особый интерес в настоящее время представляет торф, как сырье для получения гуминовых веществ, являясь богатым источником гуминовых и фульвовых кислот. Торф является возобновляемым, наиболее экологически безопасным, а также простым в добыче и переработке сырьем. Важными показателями качества торфа, как сырья для производства лекарственных средств и биологически активных продуктов, являются влажность, зольность, элементный состав и антиоксидантная активность, которые могут меняться в зависимости от места и способа добычи, типа торфяной залежи, глубины залегания, времени года, условий хранения и т.д.

**Цель.** Целью данной работы является проведение анализа образца торфа, чтобы сделать заключение о пригодности его, как сырья для производства коммерческой продукции, содержащей гуминовые вещества.

**Материалы и методы.** Объектом исследования стал торф из болота Тёмное Томской области. Из данного образца торфа были выделены гуминовые кислоты при помощи экстракции 0,1 моль/л раствором натрий гидроксида и 0,1 моль/л раствором натрий пирофосфата. (Патент РФ №2610446 от 13.02.2017г). Влажность торфа определяли согласно ГОСТ 11305-2013 [1]. Для этого вычисляли потерю в массе при высушивании после сушки торфа при температуре 110°C.

Зольность торфа определяли согласно ГОСТ 11306-2013 [2]. Для этого проводили озоление пробы торфа в муфельной печи, прокаливание золы при температуре около 800°C и рассчитывали массу золы. Элементный состав торфа определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (прибор Масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500sx). Антиоксидантную активность определяли при помощи

теста со стабильным катион-радикалом АВТС, в сравнении со стандартным антиоксидантом Тролокс [3].

**Результаты.** Влажность образца торфа составила 5,74%. Зольность образца торфа составила 65,47%. По результатам элементного анализа образца в торфе содержится большое количество металлов (ppm): Na 9858,07 ppm; Mg 11191,5; K 17084,0; Ca 33677,7; Ti 6223,35; Fe 42521,22; Mn 439,32; Zn 219,06; Sr 311,52; Zr 121,66; Ba 645,09; U 48,9. По результатам исследования АО активности гуминовых кислот из образца торфа, для ГК, выделенных при помощи натрий пиррофосфата IC50 составил  $8,15 \pm 0,00$  мкг/мл. Для ГК, выделенных натрий гидроксидом IC50 составил  $6,83 \pm 0,12$  мкг/мл.

**Заключение.** Анализируемый образец торфа не может считаться сырьем надлежащего качества, так как имеет высокую зольность (больше 50%) и слишком большое содержание элементов-металлов, в том числе тяжелых металлов, скорее всего по той причине, что имеет в своем составе часть минеральной подложки, захваченной при добыче торфа с глубоких слоев залегания. Согласно результатам анализа, такой торф не может быть использован для производства лекарственных средств и биологически активных добавок, предназначенных для использования человеком и животными.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации (Государственное задание № 056-00071-22-02).*

#### **Литература.**

1. ГОСТ 11305-2013 Торф и продукты его переработки. Методы определения влаги – Введ. 01.01.2015. – Москва: Стандартинформ, 2014. С. 11.
2. ГОСТ 11306-2013 Торф и продукты его переработки. Методы определения зольности. – Введ. 01.01.2015. – Москва: Стандартинформ, 2014. С. 8.
3. Братишко К.А., Установление молекулярных дескрипторов с антиоксидантной активностью в структуре природных гуминовых кислот. // Дисс. .... канд. фармацев. наук. 2023: 209.

## THE ACUTE POSTHEMORRHAGIC ANEMIA MODELING IN RATS FOR THE STUDY OF THE DISTRIBUTION OF IRON-CONTAINING ACTIVE PHARMACEUTICAL SUBSTANCE BASED ON THE $^{57}\text{Fe}$ -LABELED HUMIC LIGANDS

M.V. Kuznetsova<sup>1\*</sup>, A.M. Zhirkova<sup>2</sup>, K.A. Bratishko<sup>1</sup>, V.V. Ivanov<sup>1</sup>, E.E. Buyko<sup>1</sup>,  
A.A. Ufandeev<sup>1</sup>, L.A. Azarkina<sup>1</sup>, D.A. Mikhalyov<sup>1</sup>, I.S. Kopnov<sup>1</sup>, V.N. Mitsukova<sup>1</sup>,  
I.V. Perminova<sup>2</sup>, M.V. Zykova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Lomonosov MSU, Кафедра фармацевтического анализа of Chemistry, Moscow, Russia  
e-mail: mary35889@gmail.com

**Keywords:** humic substances, acute posthemorrhagic anemia, iron

**Introduction.** The model of acute posthemorrhagic anemia makes it possible to create iron deficiency in the blood in the shortest possible time, providing excellent conditions for the testing of antianemic drugs that can be used to treat various forms of anemia (including iron deficiency anemia). Humic substances (HS) are promising compounds, which are natural macroligands with a high affinity for Fe(III) binding and a good safety profile. They can be considered as potential ligands for the creation of iron-containing compounds for the replacement therapy in the correction of iron deficiency anemia.

**The aim.** The aim of this work was to investigate the antianemic activity of iron-containing active pharmaceutical substances based on  $^{57}\text{Fe}$  labeled humic ligands on the model of acute posthemorrhagic anemia.

**Materials and methods.** Experimental samples representing the matrices of HS and  $^{57}\text{Fe}$  isotope were synthesized by the Laboratory of Natural Humic Systems of the Кафедра фармацевтического анализа of Medical Chemistry and Fine Organic Synthesis of the Faculty of Chemistry of Lomonosov Moscow State University: CHP-Fe $^{57}$  (Humic acids: Fe (4:1), where

50.23%  $^{57}\text{Fe}$  of  $^{56}\text{Fe}$ ) and FA-Fe57 (Fulvic acids: Fe (3.6:1), where 50.23%  $^{57}\text{Fe}$  of  $^{56}\text{Fe}$ ). The reference drug is Ferrum Lek® syrup (Slovenia).

The study was performed on male rats of the Wistar line (28 animals). The model of acute blood loss consisted in taking the blood in the amount of 1.5% of the animal's weight from the sublingual vein under inhalational anesthesia on day 1 of the experiment, and on days 3, 5 and 7, blood was taken in the amount of 0.5% of the animal's weight.

Starting from day 8, animals of the first group (negative control,  $n = 7$ ) were given purified water via oral gavage in a volume of  $4 \pm 0.1$  ml daily for 7 days after acute blood loss. The second group ( $n = 7$ ) served as a positive control, and the animals of this group received the reference drug - Ferrum Lek® syrup (Slovenia) intragastrically at a dose of 17 mg/kg in terms of elemental iron daily for 7 days. Animals of the third and fourth groups ( $n = 7$ ) were given iron-containing humic substances (CHP-57Fe and FA-57Fe, respectively) labeled with  $^{57}\text{Fe}$  via oral gavage at a dose of 17 mg/kg in terms of elemental iron daily for 7 days. At the end of the experiment on day 15, after acute blood loss, the rats were euthanized by  $\text{CO}_2$ .

**Results.** As a result of the experiment, it was found that acute blood loss in the amount of 1.5%, followed by a loss of 0.5% of body weight in rats of all groups leads to a significant drop in the level of hemoglobin, erythrocytes, hematocrit and serum iron content in the peripheral blood.

Intragastric administration of CHP-Fe57 and FA-Fe57 restores hemoglobin concentration, erythrocyte count and hematocrit to baseline values in animals with acute posthemorrhagic anemia.

Intragastric administration of CHP-Fe57 restores serum iron content to baseline values in animals with acute posthemorrhagic anemia.

**Conclusions.** The sample CHP-Fe57 is a promising active pharmaceutical substance for the development of medicines for the treatment of iron deficiency conditions.

*The work was carried out with the financial support of the Government contract of the Ministry of Health of the Russian Federation (No. 056-00071-22-02).*

## СОЗДАНИЕ УСТОЙЧИВЫХ ГЕЛЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОН-НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОСПИННИНГА ДЛЯ БОРЬБЫ С РАНЕВЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

К.С. Ларионов\*, Н.А. Соболев, В.Б. Платонов, Р. Абдулаев, И.В. Перминова  
Химический факультет МГУ, г. Москва, Россия  
e-mail: ks.larionov@mail.ru

**Ключевые слова:** наночастицы, серебро, электроспиннинг, высвобождение

**Введение.** Инфекции являются основной причиной смерти людей с ожогами и диабетическими ранами. Текущее использование антибиотиков для лечения раневых инфекций становится все более затруднительным и в настоящее время находится на критической стадии, требующей изменения подхода к лечению хронических ран. Поэтому крайне важно разработать новые раневые перевязочные материалы, в состав которых не входят антибиотики. Одной из многообещающих стратегий улучшения заживления ран является включение наночастиц в гелевые матрицы. Наночастицы серебра (Ag-NPs) привлекли значительное внимание благодаря своим антимикробным свойствам. Медицинские препараты на основе серебра эффективны как для замедления развития, так и для профилактики бактериальных инфекций [1].

Природные полиэлектролиты – гуминовые вещества (ГВ), обогащенные фенольными группами, являются перспективными реагентами для получения и стабилизации наночастиц серебра в водных растворах. При этом для применения в ранозаживлении необходимо найти эффективный способ их введения в состав гелевых композиций. Поливинилпирролидон является биосовместимым синтетическим полимером, содержащим линейный 1-винил-2-пирролидон, легко растворимый в воде, поскольку он

содержит высокогидрофильные группы [2]. Использование высокомолекулярного ПВП (1,3 МДа) позволяет применять метод электроспиннинга для создания нановолокон диаметром от 10 до 100 нм. Большое отношение поверхности к объему таких нановолоконных матов делает их весьма перспективными для получения раневых повязок, где необходима большая площадь контакта с окружающей средой [3].

**Цель.** Сборка и характеристика высвобождения геля на основе поливинилпирролидона и ГВ, наполненного наночастицами серебра.

**Материалы и методы.** Водный раствор наночастиц серебра вносили в смесь растворителей (1:1 2-метоксиэтанола и изопропилового спирта) и полимера, активно перемешивали и незамедлительно отправляли на электроспиннинг. Скорость подачи раствора для электроспиннинга составляла 0.7 мл/ч, напряжение – 20 кВ, расстояние до нетканого материала – 20 см. В результате происходило формирование слоя геля толщиной 5 мм на подложке из нетканого материала.

Эксперимент по высвобождению AgNPs выглядел следующим образом: часть геля равномерно помещали на нитроцеллюлозную мембрану, которую предварительно вымачивали 12 ч в деионизованной воде. Мембрана была зажата в пробирке. Её взвешивали до и после нанесения геля и по разности определяли массу геля. Затем мембрану вводили в контакт с раствором-приемником, так чтобы только поверхность мембраны касалась раствора. В качестве диализных растворов использовали: бульон Мюллера-Хинтона, 0.1М ацетатный буфер (рН 5.5) и деионизованную воду. Испытуемую композицию помещали в термостат при температуре 37 °С. Отбор пробы производили через 15, 30, 60, 120, 180, 300 мин. Аликвоту разбавляли в 10 раз 5 % азотной кислотой и анализировали после тщательного перемешивания и отстаивания в течение 1 ч с помощью спектрометра с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС). Все эксперименты проводили в трех повторностях.

**Результаты.** Формирование гелевых композиций на основе ПВП и ГВ было осуществлено путем электроспиннинга на нетканую подложку. Одной из задач было подобрать оптимальные условия для формирования устойчивого геля. Для этих целей нужно было подобрать растворители, их соотношения, молекулярную массу ПВП, а также параметры электроспиннинга: напряжение на игле, скорость подачи раствора и расстояние от иглы до нетканого материала. В ходе экспериментов было установлено, что при формировании гелевой композиции с наночастицами серебра их нужно сначала растворить в минимальном объеме воды, поскольку ГВ не растворимы в органических растворителях, что приводит к забиванию иглы распылителя. Качество полученной композиции получалось низким.

Происходило скапывание раствора на поверхность нетканого материала без образования тонкого слоя геля. В результате подбора условий было установлено, что формирование геля с оптимальными характеристиками происходит при растворении ПВП 20% m/m с молекулярной массой 1,3 МДа в смеси 1:1 2-метоксиэтанола и изопропилового спирта с добавлением водного раствора AgNPs с концентрацией 290 мкг/мл.

Сформированный электроспиннингом гель на нетканом материале получался равномерным, в стабильном не текучем состоянии. ПЭМ изображение наночастиц серебра в составе полученного геля представлено на рисунке 1.

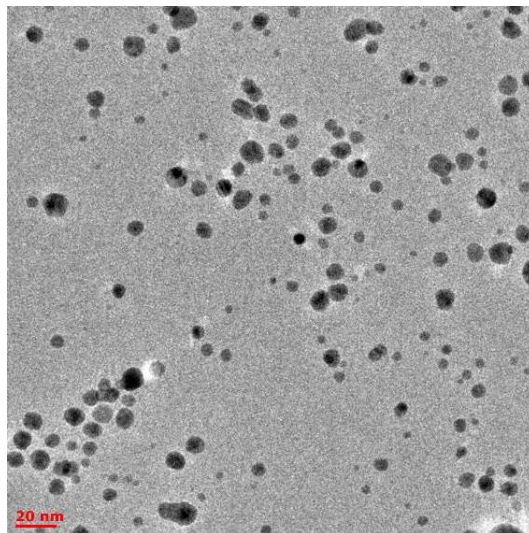


Рисунок 1. ПЭМ изображение наночастиц серебра в составе гелевой матрицы поливинилпирролидон

Размер наночастиц серебра в геле составил порядка 10 нм. При хранении в течение трех месяцев размер наночастиц не изменялся. Процент высвобождения наночастиц серебра из нанесенного геля достигал 100% за 15 мин, что значительно превышало скорость высвобождения наночастиц серебра из карбоксиметилцеллюлозных и полиакриламидных гелей. Гель ПВП быстро набухал и затем полностью растворялся в диализных растворах.

**Заключение.** В ходе данного исследования были подобраны параметры для формирования устойчивого геля, состоящего из наночастиц серебра в матрице ПВП. Также было показано, что данные композиции обладают большой скоростью высвобождения наночастиц серебра, при этом наночастицы остаются стабильны долгое время. Композиции из ПВП и Ag-NPs являются перспективным материалом для использования в раневых повязках.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта РНФ 20-63-47070.*

#### **Литература.**

1 Donati I., Marsich E., Travan A., Paoletti S. Bioactive surface modifications for dental and orthopedic implants. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine: A Nano Approach.* – CRC Press-Taylor & Francis Group. 2012: 125-160.

2 El-Aassar, M. R., Ibrahim, O. M., Fouda, M. M., Fakhry, H., Ajarem, J., Maodaa, S. N., Allam A.A., Hafez, E. E. Wound dressing of chitosan-based-crosslinked gelatin/polyvinyl pyrrolidone embedded silver nanoparticles, for targeting multidrug resistance microbes. *Carbohydrate polymers.* 2021; 255. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117484

3 Blachowicz T., Ehrmann A. Recent developments in electrospun ZnO nanofibers: A short review. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics.* 2020; 15. DOI: 10.1177/155892501989968

## CREATION OF AN INNOVATIVE DETOX PRODUCT BASED ON PLANT EXTRACTS AND HUMIC SUBSTANCES

A.M. Minko\*, A.A. Mitina  
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia  
e-mail: nas.minko@yandex.ru

**Keywords:** detoxification, humic substances, medicinal plant raw materials

**Introduction.** In the modern world it is impossible to find an "absolutely healthy" person. Low-quality food, untreated water, living in unfavorable environmental zones and many other factors every day lead to the ingestion of toxic substances into the human body. Small amounts of

toxins are almost insensible, but when they accumulate, they can cause enormous damage to health. In the human body there is a mechanism of neutralization and excretion of toxic substances - natural detoxification, the system, which includes the lungs, skin, liver, kidneys and intestines. However, in case of acute poisoning or prolonged dysfunction of the natural detoxification system, there is a need for artificial detoxification.

**Objective.** To develop a detoxification agent that will help normalize the functions of the organs that are part of the body's natural detoxification system, as well as prevent the development of chronic diseases.

**Materials and methods.** When creating this remedy, 2% solution of humic substances and the following medicinal plant raw materials were used: dry extracts of licorice, birch leaves, bush lapchat herb, milk ripeness sown oat herb. The obtained beverage was investigated for the content of the main active substances - flavonoids, glycyrrhizic acid, tannins and humic substances. Determination was carried out by titrimetric and spectrophotometric methods, according to GF XIV.

**Results.** When determining the main active substances in 1 monodose of the preparation (2 ml), the content of the sum of flavonoids, in terms of rutin - 75 mg/2 ml, glycyrrhizic acid - 22 mg/2 ml, tannins, in terms of tannin - 150 mg/2 ml, sum of humic substances - 20 mg/2 ml was found.

**Conclusion.** A detoxification product based on humic substances and plant extracts has been developed that meets all safety standards and parameters according to GF XIV. The detox product contains only natural components, as well as humic substances, which due to their chemical structure have a point effect at the cellular level in the human body. Humic substances are the main component that distinguishes this product among many analogs on the market, showing detoxifying, antioxidant, antihypoxic, immunomodulatory and many other properties.

#### **References.**

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, Volume IV. - XIV ed. - Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation. 2018;1831 p.
2. Brovchenko B. V. Improvement of quality control methods of crushed raw materials and preparations of licorice: Cand. of Pharm. sciences: 14.04.02. - M., 2020. - 169 p.
3. Petrova D.N. Improvement of methods for analyzing a number of flavonoid-containing plants: Cand. of Pharm. sciences: 14.04.02. Kazan. 2015: 180 p.
4. Perminova I.V. Analysis, classification and prediction of the properties of humus acids: Dr. chem. sciences: 02.00.02. M., 2000. 359 p.

## STUDY OF RELEASE OF ANTIBACTERIAL COMPONENT FROM OINTMENT WITH SILVER NANOPARTICLES DISPERSED IN HUMIC SUBSTANCES MATRIX

A.A. Mitina<sup>\*</sup>, D.A. Mikhalyov  
Siberian state medical university, Tomsk, Russia  
e-mail: aleona.mitina.2002@mail.ru

**Key words:** silver nanoparticles, humic substances, adsorption ointment

**Introduction.** Currently, the world faces an acute problem of antibiotic resistance, the solutions of which are the creation of new antibacterial agents or the overcoming of bacterial resistance to existing antibiotics by various methods. The weakening of the resistance of microorganisms to antibiotics used in clinical practice, as well as the acceleration of the healing process, is facilitated by humic substances with silver nanoparticles dispersed in them. The continuation of this work is the creation of a suitable dosage form containing an antibacterial agent.

**Purpose.** To evaluate the ability of silver nanoparticles dispersed in a matrix of humic substances (HS) to be released from an adsorption ointment base.

**Materials and Methods.** The ointment was made from the lincomycin 2% and silver nanoparticles dispersed in a matrix of HS synthesized in Moscow State University (CHP-AgNPs). The CHP-AgNPs sample, in which the source of the initial substances of HS was the humic acids of Powhumus coal, a commercial preparation (Humintech GmbH, Germany), turned out to be the most effective as an antibacterial component for the treatment of pyoinflammatory processes. HS have immunotropic and antioxidant properties, as well as cytoprotective action. The basis of the adsorption ointment is petroleum jelly and anhydrous lanolin. A Vertical Franz Diffusion Cell, model HDT1000, was used to determine the release of nanoparticles. Diffusion cells with a volume of 7 ml of a closed type were chosen for the experiment. The ointment was applied to a dialysis membrane with a pore size of 450 nm. The test was carried out in triplicate during the day. The quantitative content of silver nanoparticles was determined on a PE-5400UF spectrophotometer in 10 mm quartz cuvettes in the range of 410–420 nm.

**Results.** During the study, it was found that the yield of nanoparticles is less than 1% of the initial concentration, which indicates a high efficiency of the adsorption ointment base.

**Conclusion.** The studied adsorption ointment base containing silver nanoparticles of the CHP-AgNPs sample is promising for further research.

#### **References.**

1. Buyko E. E., Zykova M. V., Ivanov V. V., Bratishko K. A. Antioxidant Activity of Silver-containing Bionanocompositions Based on Humic Substances in Cell Culture. *Drug development & registration*. 2021: 46–53. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-46-53.
2. Buyko E. E., Zhirkova A. M., Bratishko K. A., Ufandeev A. A. Cytotoxic properties of humic substances-containing wound healing ointments. *Book of Abstracts Seventh International Conference on Humic Innovative Technologies “Humic substances and technologies for resilience” (HIT – 2022)*. 2022: 64. DOI: 10.36291/hit.2022.053.
3. Schepetkin I., Khlebnikov A., Kwon B. S. Medical drugs from humus matter: Focus on mumie. *Drug Dev. Res.* 2002: 140–159. DOI: 10.1002/ddr.10058.

## THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY INVESTIGATION OF HUMIC SUBSTANCES AND THEIR SILVER-CONTAINING BIONANO-DERIVATIVES

D.A. Mikhalyov<sup>1\*</sup>, I.V. Lysenko<sup>2</sup>, A.B. Volikov<sup>3</sup>, M.V. Zykova<sup>1</sup>, K.A. Bratishko<sup>1</sup>,  
L.A. Azarkina<sup>1</sup>, I.S. Kopnov<sup>1</sup>, I.V. Perminova<sup>3</sup>, M.V. Belousov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>South Ural state medical university, Chelyabinsk, Russia

<sup>3</sup>Lomonosov MSU, Moscow, Russia

e-mail: diman021999@gmail.com

**Keywords:** antibiotic resistance, humic substances, silver nanoparticles, K. Pneumoniae, antibacterial activity.

**Introduction.** Without exaggeration, the most significant achievement in the field of medicine throughout its extensive history is the discovery of antibiotics (AB). Thanks to their existence, life expectancy has increased by approximately three decades. One of the global problems is the uncontrolled use of broad-spectrum antibiotics before obtaining the results of bacteriological studies. Moreover, patients often self-medicate, including the use of AB. The combination of these factors has led to the emergence of a new phenomenon - antibiotic resistance. Given these new challenges, scientific teams are in a constant search for new agents with antibacterial activity. Humic substances (HS), particularly popular among biologically active plant-derived substances, along with silver compounds, show promise as agents with antibacterial activity. Therefore, the development of bionanomaterials based on natural HS and silver nanoparticles (AgNPs) presents a promising task in creating highly effective alternative drugs to antibiotics.

**Aim of the study.** To investigate the antibacterial properties of 8 HS and 8 silver-containing bionanomaterials synthesized based on them (HS-AgNPs) against *K. pneumoniae* bacteria in in vitro experiments.

**Materials and methods.** Bacterial strain *K. pneumoniae* was cultivated on the mineral medium M9 with analyzed samples (concentration ranging from 0.5 to 50 mg/l) in an air thermostat at  $T=37^{\circ}\text{C}$ . The incubation period lasted 24 hours. Growth presence was assessed by photometry of the well contents at a wavelength of  $\lambda=630\text{ nm}$ . The criterion for antibacterial activity was the absence of difference in values from the initial optical density of the well. Protargol® (Sialor, silver proteinate) was used as a reference drug.

**Results.** The studied HS-AgNPs samples, when cultivated in the M9 mineral medium, exhibited a more pronounced antibacterial effect compared to the reference drug Protargol®. The minimum inhibitory concentration for most of the analyzed substances fell in the range of 3-10 mg/l. Base matrix samples at concentrations up to 100 mg/l did not display antimicrobial activity.

**Conclusion.** The investigated HS-AgNPs samples demonstrate antibacterial properties against several bacteria included in the list of priority pathogens by the World Health Organization. They can be further considered as an alternative to antibiotics in the complex or monotherapy of infections caused by antibiotic-resistant microorganism strains.

*The reported study is funded by Russian Science Foundation, project No 20-65-47052.*

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОДНЫХ КОЛЛОИДНЫХ НАСТОЕВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ГУМИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Г.В. Петров\*, И.А. Гайдашев, А.В. Сыроешкин

Российский Университет Дружбы Народов им. Патриса Лумумбы (РУДН), Москва, Россия

e-mail: gleb98.2014@gmail.com

**Ключевые слова:** Гуминовые кислоты, гуминовый комплекс, супрамолекулярные комплексы, тепловое радиоизлучение, SARS-CoV-2, DLS, динамическое лазерное рассеяние

**Введение.** Во время пандемии COVID-19 многие фармацевтические компании начали разрабатывать не только противовирусные препараты, облегчающие течение заболевания, но и создавать препараты, направленные на облегчение постковидных состояний, таких как ослабленный иммунитет, нарушение когнитивных функций и т.д. Не так давно мы охарактеризовали комплексы гуминовых и фульвокислот, как препараты, оказывающие положительное влияние на иммунную систему человека и обладающие выраженной антикоронавирусной активностью (Uspenskaya E.V. et al 2021). Несмотря на широкий спектр действия гуминово-фульвовых препаратов, их статус на фармацевтическом рынке определяется как биологически активные добавки (БАД) из-за недостаточных доказательств их действия и трудностей с контролем качества этих препаратов.

**Цель.** Изучение физико-химической активности биологически активных веществ, содержащих гуминовые комплексы (ГК). Сравнение различных препаратов, доступных на рынке. Разработка современного экспресс-метода контроля качества.

**Материалы и методы.** Препараты, содержащие ГК производства Системы Биотехнологии, BIODORON, Faberlic и др. Встроенный датчик плотности потока TES-92 (TES Electrical Electronic Corp., Тайбэй, Тайвань), который использовался для определения плотности потока радиотеплового излучения в гигагерцовом диапазоне. Zetasizer Nano ZSP (Malvern Panalytical, Вустершир, Великобритания) использовали для определения размера наночастиц в препаратах, содержащих ГК и лекарственное растительное сырье (ЛРС) с гуминовыми кислотами.

**Результаты.** При разработке метода контроля качества продукции без вскрытия первичной упаковки стоит обратить внимание, прежде всего, на специфику метода. В ходе определения собственного радиотеплового излучения этих препаратов во времени (35 мин) ГК производства Система Биотехнологий (Россия) и ГК, произведенный в Грузии, при



нагревании до 37 °С демонстрируют наивысшую излучающую способность, что может свидетельствовать о конформационных переходах в нагретых супрамолекулярных комплексах (рис. 1).

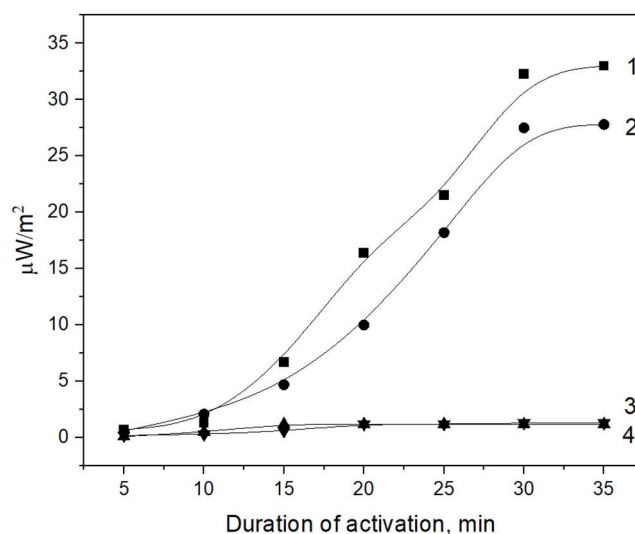


Рисунок 1. Сравнение теплового радиоизлучения ГК разных производителей во времени от 5 мин до 35 мин, где 1 – производства Biotechnology System, 2 – производства Грузии, 3 – производства Faberlic, 4 – производства BIODORON

Важным показателем каждой экспериментальной работы является воспроизводимость результатов. На рисунке 2 показана полугодовая временная кривая данных, собственного радиотеплового излучения препарата ГК Системы Биотехнологий (Россия).

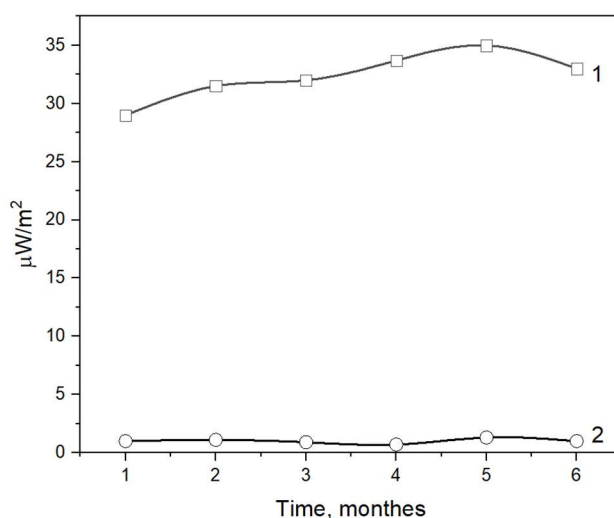


Рисунок 2. Полугодовая временная кривая воспроизводимости результатов, полученных при измерении собственного теплового радиоизлучения образцов, где 1 - получено с помощью системной биотехнологии, 2 – фоновые значения

Для нас было критически важно исследовать энергию активации при трех температурах: 20 °С, 25 °С и 35 °С. Согласно результатам расчета,  $E_a$  составила  $10,3 \pm 0,2$  кДж/моль. Этот результат указывает на достаточно высокую скорость реакции в растворах ГК, что также может быть следствием быстрого образования дипольно заряженных супрамолекулярных структур (Рисунок 3).

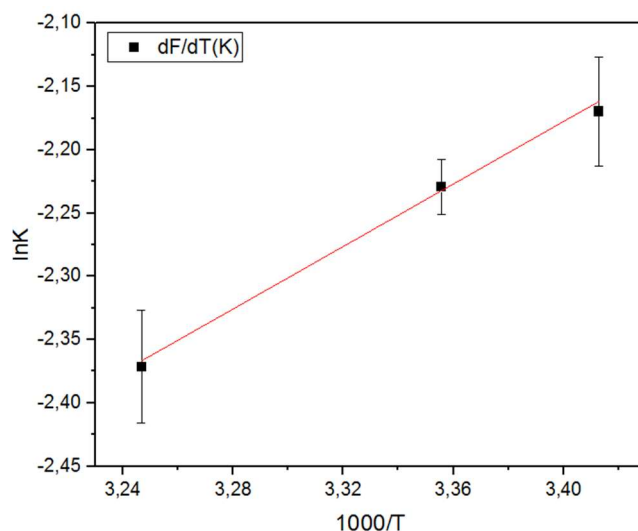


Рисунок 3. Расчет энергии активации ( $E_a$ ), индуцируемой температурой радиотеплового излучения

Установлена зависимость теплового радиоизлучения от максимумов в распределении дисперсных фракций: тепловое радиоизлучение уменьшается в ряду *Populus tremula* (250 нм) > *Rhodiola quadrifida* (295 нм) > *Uva ursi* (285 нм) > *Gynura sp.* ((290 нм) > *Primula veris* (325 нм) > *Alnus incana* (335 нм); увеличивается в: *Alnus incana* (335 нм) > *Calendula officinalis* (450 нм) > *Melilotus officinalis* (535 нм) (Таблица 1).

Таблица 1. Сравнение радиотеплового излучения препаратов МР+НАс в зависимости от размерного спектра

Препараты ЛРС с ГК	Размерные спектры, nm	Плотность потока при 37°C, mW/m <sup>2</sup>
<i>Populus tremula</i>	245	29,8
<i>Salix alba</i>	250	29,6
<i>Uva Ursi</i>	285	23,2
<i>Gynura sp.</i>	290	23,1
<i>Rhodiola quadrifida</i>	295	24,8
<i>Primula veris</i>	325	20,1
<i>Alnus incana</i>	345	12
<i>Calendula officinalis</i>	450	18,6
<i>Orthilla secunda</i>	530	22
<i>Melilotus officinalis</i>	535	25,2

**Заключение.** Предлагаемый экспресс-метод контроля качества препаратов ГК, основанный на их способности излучать в субтерагерцовом и гигагерцовом диапазонах, может быть использован для контроля готовой продукции от начальной точки производства до ее доставки дистрибьютору без вскрытия первичной упаковки.

#### Литература.

1. Uspenskaya E. V., Syroeshkin A. V., Pleteneva T. V. [et al]. Nanodispersions of polyelectrolytes based on humic substances: Isolation, physico-chemical characterization and evaluation of biological activity. *Pharmaceutics*. 2021; 13(11): 1-20.
2. Kala Peter K.J., Prashob P, Chandramohanakumar N. Humic substances as a potent biomaterial for therapeutic and drug delivery system (Review). *Int J App Pharm*. 2019;11: 1-4.
3. Hafez M., Popov A. I., Zelenkov V. N., Teplyakova T. V., Rashad M. Humic substances as an environmental-friendly organic waste potentially help as natural anti-virus to inhibit COVID-19. *Science Archives*. 2020;1: 53-60
4. Klocking R., Sprossig M. Antiviral properties of humic acids. *Cell Mol Life Sci* .1972; 28.

5. Syroeshkin A. V., Petrov G. V., Taranov V. V., Pleteneva T. V., Koldina A. M., Gaydashev I. A., Kolyabina S. E., Galkina D. A., Sorokina E.V., Uspenskaya E. V., Kazimova I. V., Morozova M. A., Lebedeva V. V., Cherepushkin S. A., Tarabrina I. V., Syroeshkin S. A., Tertyshnikov A. V., Grebennikova T. V. Radiothermal Emission of Nanoparticles with a Complex Shape as a Tool for the Quality Control of Pharmaceuticals Containing Biologically Active Nanoparticles. *Pharmaceutics*. 2023;15: 1-17.

## РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ: РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

А.И. Полосков<sup>1\*</sup>, Д.В. Товпеко<sup>1</sup>, Н.А. Соболев<sup>2</sup>, А.С. Бунтовская<sup>1</sup>, К.С. Ларионов<sup>2</sup>,  
Ч. Юи<sup>2</sup>, И.В. Перминова<sup>2</sup>, Р.И. Глушаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия  
e-mail: a.i.poloskov@gmail.com

**Ключевые слова:** гуминовые вещества, гуминовые кислоты, гелевая лекарственная композиция, регенерация, заживление ран, местное лечение

**Введение.** Лекарственные препараты на основе гуминовых веществ, несмотря на огромный лекарственный потенциал, не так широко распространены в медицинской практике. Гуминовые вещества предполагают реализацию терапевтического эффекта на субклеточном и молекулярном уровне. Они обладают широким спектром терапевтического действия, что подтверждается экспериментальными исследованиями последних лет. Гуминовые и фульвовые кислоты обладают как антиоксидантными, так и прооксидантными свойствами в дозозависимой манере: интервале концентраций от 1 до 30 г/л и от 30 до 70 г/л соответственно.

**Цель.** Целью данного исследования являлась экспериментальная оценка эффективности (ранозаживляющего и антибактериального действий) гидрогелей с гуминовыми веществами, модифицированными наночастицами серебра, на различной гелевой основе на модели термического ожога кожи лабораторных животных (крыс линии Вистар) с последующей апробацией полученных результатов на добровольцах.

**Материалы и методы.** Исследуемые композиции для наружного применения изготавливались на гелевой основе. В настоящем исследовании разработаны 4 геля с гуминовыми веществами на разных гелевых основах: альгинат натрия (альгинат Na), натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ), полиакриламид (ПААМ) и полиэтиленгликоль (ПЭГ). Для оценки степени высвобождения гуминовых веществ из геля был проведён эксперимент по диффузии полученного геля в агар-агар. Среди гелей, показавших наилучшие результаты в эксперименте по оценке степени высвобождения гуминовых веществ, проведены доклинические исследования путём моделирования термического ожога у крыс линии Вистар.

**Результаты.** По результатам эксперимента по оценке степени высвобождения гуминовых веществ было установлено, что по истечении 24 часа наилучшие результаты показали гели на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) и полиакриламида (ПААМ). Данные гели полностью диффундировали в агар-агар (рисунок 1).

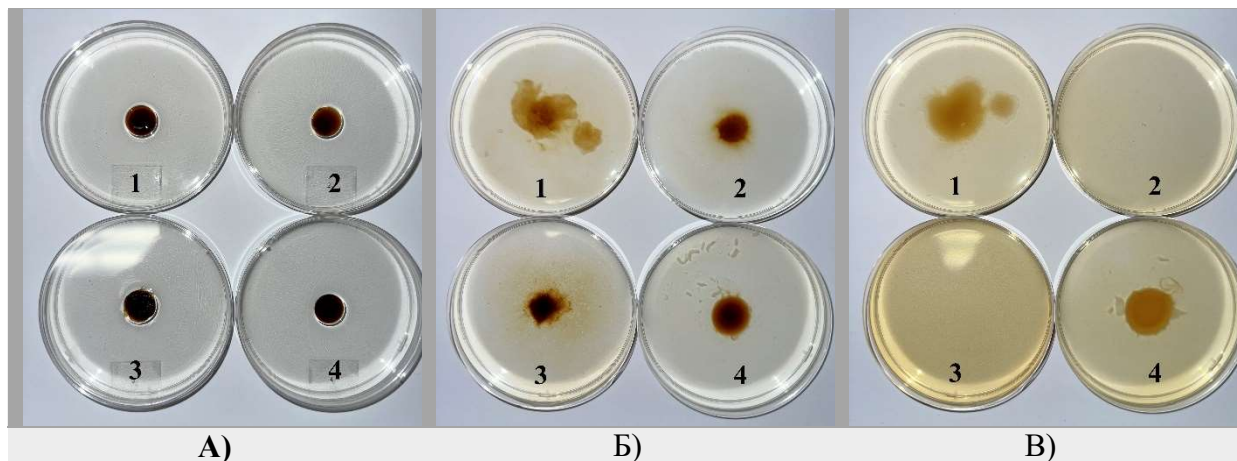


Рисунок 1. Результаты эксперимента по оценке высвобождения гуминовых веществ из гелевых композиций (1 – Альгинат Na; 2 – Na-КМЦ; 3 – ПААМ; 4 – ПЭГ): А) начало эксперимента; Б) через 2 часа; В) через 24 часа

По результатам эксперимента наилучшие результаты показал гель на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ). У особей данной группы среднее время заживления ран составило  $23,1 \pm 2,2$  дней, при этом частота полной эпителизации на 26 сутки равна 100%. У особей, получавших лечение гелем на основе полиакриламида, в среднем раны заживали за  $28,2 \pm 3,2$  дней, а частота полной эпителизации на 26 сутки равна 83,3% (рисунок 2).



Рисунок 2. Примеры состояния поверхности термических ран у крыс к исходу заживления на 27-е сутки: А) после аппликации геля Na-КМЦ; Б) после аппликации геля ПААМ

Также нами была проведена апробация гелей с гуминовыми веществами на основе Na-КМЦ как продемонстрировавшего в эксперименте наиболее высокие результаты. Раны вели открыто. перевязки проводили через день. Оценку динамики производили путем фотофиксации (рисунок 3).





Рисунок 3. Апробация геля на основе Na-КМЦ (1 – Инфицированная незаживающая рана; 2 – Формирование рубцовой ткани): А) пациент 1; Б) пациент 2; В) пациент 3

**Заключение.** В ходе исследования установлено, что гидрогели с гуминовыми веществами в экспериментальных наблюдениях и в конкретных клинических случаях демонстрируют выраженный регенераторный эффект. При этом наиболее эффективной является гелевая основа на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ).

**Литература.**

1. K. Gnananath, K. S. Nataraj, B. G. Rao, K. P. Kumar, M. H. Mahnashi, M. K. Anwer, A. Umar, Z. Iqbal, M. A. Mirza. Exploration of fulvic acid as a functional excipient in line with the regulatory requirement. *Environmental Research*. 2020: 1-9.
2. G. De Melo BA, F. L. Motta, M.H.A. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments / Santana. *Mater. Sci. Eng*. 2016: 967-974.
3. L. Jarukas, L. Ivanauskas, G. Kasparaviciene, J. Baranausvkaite, M. Marksa, J. Bernatoniene. Determination of organic compounds, fulvic acid, humic acid, and humin in peat and sapropel alkaline extracts. *Molecules*, 2021: 2995-3004.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩЕГО ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VIVO* НА МОДЕЛИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ У КРЫС

А.А. Уфандеев<sup>1\*</sup>, В.В. Иванов<sup>1</sup>, Е.Е. Буйко<sup>1</sup>, Е.А. Перина<sup>1</sup>, Е.В. Удут<sup>1</sup>, К.А. Брагишко<sup>1</sup>, М.В. Зыкова<sup>1</sup>, М.В. Белоусов<sup>1</sup>, А.М. Жиркова<sup>2</sup>, И.В. Перминова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия  
e-mail: ufandeev@gmail.com

**Ключевые слова:** гидрогель, гуминовые вещества, наночастицы серебра, антибактериальные свойства, гнойная рана.

**Введение.** Проблема лечения раневой инфекции, в том числе в послеоперационном периоде, является весьма острой для практического здравоохранения. Ежегодно появляются новые штаммы микроорганизмов, вызывающие гнойно-воспалительные процессы в мягких тканях, и обладающие резистентностью к действию традиционных антибиотиков [1, 2]. Этим обусловлена актуальность поиска новых эффективных и безопасных соединений для лечения гнойно-воспалительных поражений, вызванных госпитальными инфекциями. Перспективной группой таких веществ являются

наноматериалы, полученные путем ультрадиспергирования наноразмерных частиц металлов с антибактериальной активностью, преимущественно серебра, в матрице гуминовых веществ. Известно, что серебро обладает выраженными антибактериальными свойствами, которые проявляются в наибольшей степени при придании металлу наноразмерной формы. Гуминовые вещества являются супрамолекулярными ансамблями продуктов окислительной деградации биомолекул и могут выступать в качестве лигандов (матриц) для стабилизации наночастиц серебра, благодаря своим уникальным химическим свойствам [3]. Образец серебросодержащего гидрогеля синтезирован в лаборатории природных гуминовых систем химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва).

**Цель.** Изучить антимикробные и ранозаживляющие свойства серебросодержащего гидрогеля на основе гуминовых веществ в модели гнойной раны.

**Дизайн исследования.** В исследовании была проведена оценка антибактериальных и ранозаживляющих свойств образца гидрогеля на основе гуминовых веществ, содержащего 2% ультрадиспергированных наноразмерных частиц серебра.

Исследование проводили на SPF крысах стока Sprague Dawley (самки). Животные были получены из SPF-питомника ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) и содержались в виварии барьерного типа. Содержание и уход за животными осуществляли согласно стандартным операционным процедурам центра доклинических исследований центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (г. Томск). Использование животных в рамках настоящего исследования одобрено комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных (заключение №02/21 от 02.02.2021). Для проведения исследования животные были разделены на 3 группы по 25 голов в каждой группе.

Для моделирования гнойной раны использовали клинический штамм метициллинрезистентного золотистого стафилококка (MRSA). Выбор дозы исследуемых веществ был осуществлён, исходя из рекомендованной схемы применения препарата сравнения «Аргосульфан», содержащий сульфатиазол серебра (Ельфа АО Фармзавод, Польша). Исследуемые вещества наносили ежедневно в дозе 3,2 мкмоль/см<sup>2</sup> раны (в пересчёте на элементарное серебро) в количестве 0,5 мл. Животным из группы негативного контроля на рану наносили 2% водный раствор карбоксиметилцеллюлозы в эквивалентном объёме. Перед нанесением исследуемых веществ осуществляли удаление образовавшегося струпа.

Для комплексной оценки течения раневого процесса осуществляли бактериологические и планиметрические исследования ран на 4-е, 8-е, 12-е и 16-е сутки.

#### **Методы исследования.**

**Моделирование гнойной раны.** Инфицирование раны для моделирования гнойно-воспалительного процесса мягких тканей у крыс проводили в стерильных условиях под общим наркозом с использованием препарата «Золетил-100» (Virbac, Франция) в дозе 25 мг/кг. Предварительно бритую и обработанную антисептиком (70% спирт этиловый) кожу с подкожной клетчаткой в области ниже лопаток иссекали с формированием круглой раны диаметром 20 мм. Дно раны заражали 0,5 мл 24-часовой взвеси клинического штамма MRSA в концентрации  $1 \times 10^9$  КОЕ/мл, которой пропитывали марлевый тампон и вносили в сформированную рану. Края раны ушивали хирургическим швом. Через 24 ч моделирования у всех животных было сформировано гнойное воспаление мягких тканей. Швы удаляли, рану раскрывали, марлевый тампон извлекали, на рану наносили исследуемое вещество, препарат сравнения или 2% водный раствор карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) (контроль).

**Бактериологические исследования.** Проводили сразу после моделирования ран, а также на 4-е, 8-е, 12-е и 16-е сутки нанесения исследуемых веществ. Для этого эвтаназируют по 5 животных из группы на каждую временную точку; оценивали количество КОЕ на грамм ткани [4].

**Планиметрические исследования.** Проводили в одинаковых условиях с применением цифровой камеры и последующим анализом изображения с помощью программы ImageJ (National Institutes of Health, США).

**Статистический анализ данных.** Проводили с помощью программы Statistica 13.0 (StatSoft Inc., США). Использовали критерии Краскела-Уоллиса. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Обобщённые данные исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Обобщённые данные исследования ( $X \pm SE$ )

Группа	4-е сутки		8-е сутки		12-е сутки		16-е сутки	
	$10^7$ КОЕ/г ткани	Закрытие раны, %	$10^7$ КОЕ/г ткани	Закрытие раны, %	$10^7$ КОЕ/г ткани	Закрытие раны, %	$10^7$ КОЕ/г ткани	Закрытие раны, %
2% раствор КМЦ (контроль)	15,43±5,16	39,53±3,72	9,94±1,19	74,64±2,15	2,71±1,46	91,60±0,80	1,01±0,71	95,24±0,86
«Аргосульфана»	7,34±3,34*	37,82±3,14	7,08±1,81*	71,66±1,62	0,89±0,11*	89,37±2,23	0,02±0,03*	95,25±0,57
Образец гидрогеля	8,96±1,01*	34,41±3,91	7,61±0,76	72,20±3,05	1,15±0,42*	89,86±1,51	0,16±0,12*	95,38±0,59

Примечание: \* – статистически значимые различия с группой контроль,  $p < 0,05$ .

Нанесение «Аргосульфана» и исследуемого образца серебросодержащего гидрогеля на основе гуминовых веществ на раневую поверхность оказывало выраженное антибактериальное действие, о чём свидетельствует уменьшение количества КОЕ МРСА/г ткани раны ( $p < 0,05$ ) (таблица 1).

Также показано, что нанесение «Аргосульфана» и образца серебросодержащего гидрогеля не приводило к увеличению скорости закрытия раневой поверхности ( $p > 0,05$ ) (таблица 1). В тоже время при ревизии ран перед нанесением веществ отмечалось повышенное увлажнение дна раны в группе животных, получавших терапию образцом серебросодержащего гидрогеля на основе гуминовых веществ. Описанное клиническое наблюдение может способствовать формированию менее выраженного рубца [5].

**Заключение.** Гидрогель, содержащий наноразмерное серебро на основе гуминовых веществ, синтезированный в лаборатории природных гуминовых систем химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, обладает антибактериальной активностью сопоставимой с таковой препарата сравнения «Аргосульфана». Исследуемый образец также обладает хорошими водоудерживающими свойствами и обеспечивает стабильную, влажную и воздухопроницаемую среду для заживления ран.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-65-47052 от 28.05.2020).*

#### **Литература.**

1. Alexis A. et al. Immune responses in relation to the type and time of thermal injury: an experimental study. *Injury*. 2015; 46 (2): 227-232.
2. Shu G. et al. The antioxidant, antibacterial, and infected wound healing effects of ZnO quantum dots-chitosan biocomposite. *Applied Surface Science*. 2023; 611: 155727.
3. Zykova M. V. et al. Enhanced Antioxidant Activity and Reduced Cytotoxicity of Silver Nanoparticles Stabilized by Different Humic Materials. *Polymers*. 2023; 15 (16): 3386.
4. Cai K. et al. Essential Oil Nanoemulsion Hydrogel with Anti-Biofilm Activity for the Treatment of Infected Wounds. *Polymers*. 2023; 15 (6): 1376.
5. Wang H. et al. Antibacterial polysaccharide-based hydrogel dressing containing plant essential oil for burn wound healing. *Burns & trauma*. 2021; 9: tkab041.

# СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ПОМОЩЬЮ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Юй Чжан\*, Сымэн Чжан, Н.А. Соболев, И.В. Перминова  
Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия  
e-mail: zhangyu13051837552@gmail.com

**Ключевые слова:** микроволновой синтез, полиэлектролитный стабилизатор, гумат, наночастицы серебра, поверхностный плазмонный резонанс (ППР)

**Введение.** Известно, что наночастицы серебра могут быть синтезированы при нагревании в среде гуминовых веществ (ГВ) и демонстрируют значительную антиоксидантную активность.<sup>1</sup> Это указывает на возможность их применения в качестве новых ранозаживляющих препаратов. Для целей синтеза традиционно применяется нагрев на водяной бане.<sup>2</sup> Эксперимент не только занимает много времени, но еще и сложно контролировать форму и размер наночастиц.

**Цель** данной работы – разработать микроволновый (МВ) синтеза наночастиц серебра в среде гуминовых веществ, чтобы оценить осуществимость этого экологически чистого и эффективного подхода.

**Материалы и методы.** В работе использовали коммерчески доступные препараты гумата калия из леонардита (СНР), нитрат серебра (Molychem, 98%) и гидроксид натрия (Kemphasol, 80%). Все реакции проводили в модифицированной бытовой микроволновой печи (модель: Galanz MOG-2001M). Синтез проводился в микроволновой печи, работающей на мощности 800 Вт в течение короткого импульса длительностью 10 с и паузой 10 с (10 с вкл./выкл.) для предотвращения закипания и разбрызгивания раствора из-за перегрева. Время микроволнового воздействия (от 10 с до 240 с) (рис.1). В конце образцы замораживали и лиофильно сушили. Все реакции проводили в темноте.

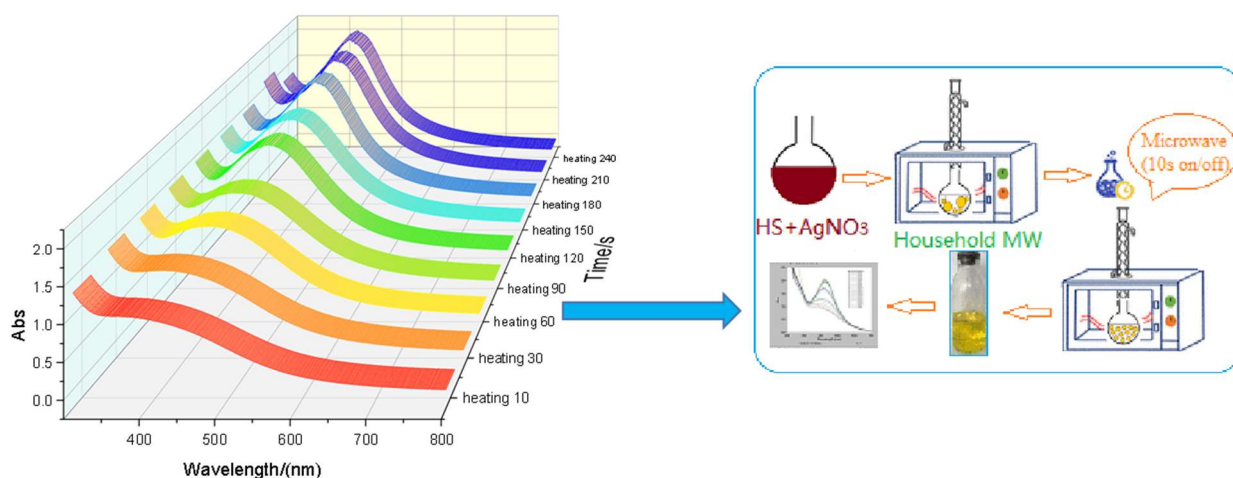


Рисунок 1. Схема синтеза наночастиц серебра при микроволновом облучении

**Результаты.** По сравнению с традиционным синтезом с подогревом на водяной бане, которое длится 3-4 часа, использование микроволнового синтеза позволяет сократить время реакции до нескольких минут и существенно увеличить выход наночастиц. Согласно изображениям ПЭМ, при микроволновом нагреве AgNPs представляют собой одиночные дисперсные сферические частицы с широким распределением по размерам (рис.2).



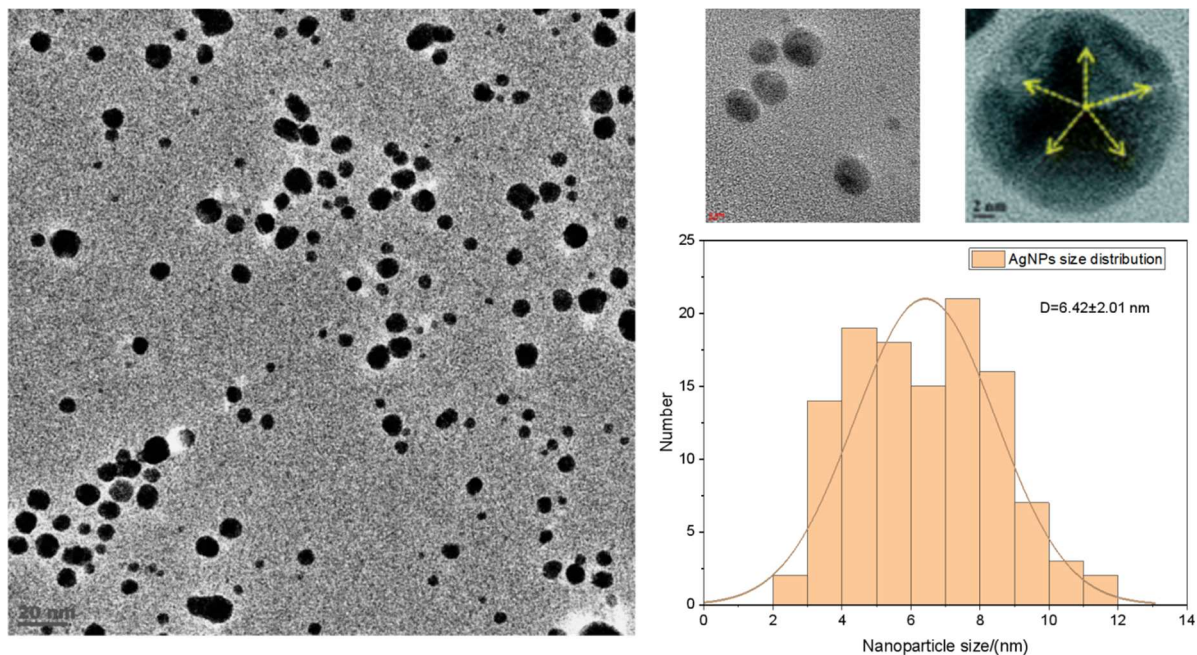


Рисунок 2. ПЭМ-изображения наночастиц серебра, синтезированных на основе гуминовой кислоты MW-CHP-AgNPs  $6,42 \pm 2,01$  nm. На гистограммах показан диапазон распределения частиц по размерам

**Заключение.** По сравнению с традиционным нагревом микроволновый нагрев имеет множество преимуществ, таких как мгновенный быстрый нагрев, высокая однородность температуры и селективный нагрев.<sup>4</sup> В этом исследовании было успешно продемонстрировано улучшение микроволнового синтеза по сравнению с традиционным приготовлением AgNP при нагревании на водяной бане; кроме того, охарактеризованы оптические и морфологические свойства, кристаллическая фаза и распределение AgNPs по размерам.

*Исследование выполнялась при поддержке Российского научного фонда, проект № 20-63-47070. ПЭМ изображения были получены на оборудовании ЦКП Химического факультета МГУ «Нанохимия и наноматериалы» (микроскоп электронный, просвечивающий высокого разрешения JEOL JEM-2100 F/Cs/GIF/EDS).*

#### **Литература.**

1. Lee Hee-Jo, Jong-Gwan Yook. Graphene Nanomaterials-Based Radio-Frequency/Microwave Biosensors for Biomaterials Detection. *Materials*. 2019; 12(6): p. 952, <https://doi.org/10.3390/ma12060952>.
2. More, Pragati Rajendra, et al. Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. *Microorganisms*. 2023; 11(2): p. 369, [www.mdpi.com/2076-2607/11/2/369](http://www.mdpi.com/2076-2607/11/2/369), <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>.
3. Silva, Vera L. M., et al. Ohmic Heating: An Emerging Concept in Organic Synthesis. *Chemistry - a European Journal*. 2017; 23 (33): 7853–7865. <https://doi.org/10.1002/chem.201700307>.
4. Singh, Charanjit, et al. Sustainability of Microwave Heating in Materials Processing Technologies. *Materials Today: Proceedings*. 2022; 73: 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.216>.

## Гуминовые вещества и экологическая безопасность

### ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НА ТОКСИЧНОСТЬ ПОЛЛЮТАНТОВ ДЛЯ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ

Л.Г. Бондарева

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора,  
г. Мытищи, Россия

lydiabondareva@gmail.com

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, *Elodea canadensis*, поллютанты

**Введение.** Механизмы устойчивости водных живых организмов, в частности водных растений поверхностных водоемов, к воздействию ионов металлов можно представить как процессы, обеспечивающие толерантность за счет связывания элемента внутри растительной клетки и препятствующие проникновению элемента через плазматическую мембрану. Присутствие или отсутствие природных лигандов в водной среде может в значительной степени изменять процессы воздействия на растительную биомассу в плане накопления поллютантов различного происхождения (органического, неорганического (в том числе и радионуклиды). Тем самым, снижать либо увеличивать токсическое воздействия на живые клетки растений. Наиболее распространенным органическим веществом в поверхностных водоемах являются гуминовые вещества.

Гуминовые вещества представляют собой молекулярные конгломераты низкомолекулярных соединений, которые образуются при разложении природного вещества и обладают высокой устойчивостью к дальнейшему разложению. В качестве фракции гуминовых веществ - гуминовые кислоты рассматриваются как полидисперсная, гетерогенная и сложная смесь органических молекул, которые объединяются взаимодействиями между функциональными группами с образованием надмолекулярных структур.

**Цель.** Основная цель исследования заключалась в том, чтобы сделать попытку в понимании сложных взаимодействиях между природным органическим материалом, биологическими объектами и загрязняющими веществами. Это было достигнуто за счет использования гуминовых кислот (ГК), погруженных водных растений – на примере *Elodea canadensis* и трех типов загрязнителей (катионы металлов, поверхностно-активные вещества и радионуклиды).

**Материалы и методы.** В качестве объектом исследования использовали макушки растений элодея, отобранных в реке Енисей выше по течению от г. Красноярск. Загрязнители: соли металлов –  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , ПАВы – Triton X-100 (Тх-100), додецил сульфат натрия (SDS), радионуклиды –  $^{241}\text{Am}$ ,  $^{242}\text{Pu}$ . Гуминовые кислоты (ГК): три образца гуминовых кислот, полученных из разных образцов донных отложений реки Енисей согласно методике [1], и один коммерческий препарат гуминовой кислоты. Для детектирования содержания металлов использовали метод ИСП-МС, для детектирования радионуклидов использовали гамма-спектрометр ( $^{241}\text{Am}$ ) и альфа-спектрометр после предварительного радиохимического выделения радионуклида ( $^{242}\text{Pu}$ ). Для определения содержания ПАВов использовали спектрофотометр после предварительного комплексообразования с органическим реагентом. Потенциальное негативное воздействие загрязнителей на элодею детектировалось с помощью метода замедленной флуоресценции.

**Результаты.** При изучении в системе с присутствием гуминовых кислот было сделано предположение о существовании двухэтапный процесс проникновения гуминовых кислот через клеточные мембраны: этап 1) адсорбция и этап 2) абсорбция. Стадия адсорбции представляет собой стадию, на которой ГК адсорбируется на поверхности клеточной мембраны за счет водородных связей между отрицательно заряженными карбоксильными группами ГК и головными фосфатными группами на мембране. Стадия

абсорбции связана со способностью гидрофобных фрагментов ГК проникать в гидрофобный слой мембраны в местах дефектов упаковки. Кинетические исследования определили, что стадия поглощения имеет как быструю, так и медленную составляющую. Это объясняется разными гидрофобными функциональными группами ГК, взаимодействующими с биомембранами, и разным временем их диффузии по двойному слою. Взаимодействие между ГК и клеточными мембранами зависит от двух факторов: состава и конформации ГК. Состав ГК определяется геохимическим источником ГК и любыми химическими модификациями, которые происходят. Конформация ГК изменяется в зависимости от окружающей среды, изменений в составе или взаимодействия с различными соединениями, такими как катионы металлов. При этом, все исследуемые образцы ГК показали схожие результаты.

При добавлении в систему солей металлов было обнаружено следующее, в системах с ионами  $Zn^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  коэффициенты накопления биомассой элодеи различались практически в 10 раз: 2689 и 357. Вероятно, это связано с тем, что в случае с кадмием происходит более интенсивное комплексообразование с ГК в водной среде, тем самым затрудняется проникновение металла во внутрь растения. А с учетом того, что  $Cd^{2+}$  более токсичен, по сравнению с  $Zn^{2+}$  физиологические функции водных растений практически не отличались друг от друга. В системе с добавлением ионов меди наблюдался процесс накопления металла в биомассе растений, однако же, очень быстро наступал процесс накопления, с последующим выделением металла в водную среду при добавлении дополнительно раствора ГК.

При добавлении в систему ПАВов. В целом наши результаты показали, что химический состав ГК является важным фактором, определяющим их эффективность в снижении токсичности поверхностно-активных веществ, но процесс происходит не одинаково. Универсального механизма, с помощью которого ГК снижают токсичность поверхностно-активных веществ, не установлен.

При добавлении в систему радионуклидов, аналогично с добавлением ионов металлов, все используемые виды ГК ведут себя похоже. При внесении радионуклидов  $^{241}Am$ ,  $^{242}Pu$  установлено, что в системе с добавлением ГК до 60% радионуклидов остается в водной среде, тогда как в системах с отсутствием ГК содержание радионуклидов в воде остается на уровне 5-15%. Если элодею с уже накопленными радионуклидами, поместить в раствор, содержащий ГК, наблюдается выход радионуклидов в окружающую модельную среду. В соответствии с этим, было сделано предположение, что образование соединений с ГК является более устойчивым, по сравнению с тем видом соединений, которые образуются внутри биомассы растений.

**Заключение.** Тем самым, ГК является успешным протекторным соединением, которое может быть использовано в плане реабилитации пресноводных водоемов.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Отраслевой программы Роспотребнадзора (фундаментальные исследования).*

#### **Литература**

1. IHSS: International Humic Substance Society. Isolation of IHSS samples. <http://www.humicsubstances.org/isolation.html> (accessed May 15, 2023).

## КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ СВОЙСТВ ОРГАНИЧЕСКИХ ПРИМЕСЕЙ ПИТЬЕВЫХ ВОД ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА

Н.А. Белоконова\*, Н.А. Наронова, К.О. Голицына  
Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия  
e-mail: 89221503087@mail.ru

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, экология, питьевые воды

**Введение.** Гуминовые вещества – важнейшие органические примеси природных вод, которые используют для повышения урожайности сельскохозяйственных культур. В 1992 г.

было доказано, что при хлорировании воды гуминовые (ГК) и фульвовые кислоты (ФК) [1] образуют галогенорганические соединения и повышают риск развития раковых заболеваний [2], если поступают в организм с хлорированной питьевой водой.

В настоящее время для снижения вероятности образования канцерогенных хлорорганических соединений при подготовке воды для централизованного водоснабжения рекомендуется осуществлять хлорирование очищенной воды при содержании ООУ менее 5 мг/л (СанПиН 2.1.3685-21).

Однако, остаются следующие вопросы:

- какие критерии должны быть взяты за основу для оценки экологического риска;
- какие критерии использовать для корректировки технологического процесса очистки воды от органических примесей с учетом свойств природных соединений в источниках водоснабжения.

Нормирование содержания отдельных загрязняющих веществ не решает проблем экологической безопасности водной среды в связи с непредсказуемостью совокупного действия токсикантов на живые организмы, поэтому возрастает роль методов биотестирования для контроля качества воды. Наиболее актуальной задачей в этом направлении является выбор тест-объекта. Основным условием является то, что тесты должны быть чувствительными и интегральными, чтобы можно было судить об общей степени загрязнения питьевых вод.

В качестве тест-объектов для анализа качества питьевых вод используют [3]:

- лимфоциты крови человека и мутагенный эффект оценивают по отношению к бенз(а)пирену. Данный тест-объект (клетки животного происхождения) превосходит по чувствительности тест Эймса на 3–4 порядка;
- биомониторинг растений;
- фотобактерии и биолюминесцентный метод;
- биомаркеры растительных и животных клеток совместно, т.к. растения более чувствительны к органическим веществам, а животные – к неорганическим.

Полученные данные по результатам биотестирования не рекомендуют использовать для корректировки ПДК для человека, т.к. биологическими методами определяется общая токсичность пробы, т.е. суммарные эффекты различных веществ, которые могут быть синергетическими (более токсичными, чем сумма эффектов отдельных веществ), аддитивными (токсичные эффекты суммируются), вычитаемыми (одни токсичные эффекты компенсируют или маскируют другие).

**Цель исследования:** обосновать выбор критериев для оценки свойств органических примесей питьевых вод.

**Материалы и методы.** Оценка биологических свойств водных систем проведена в соответствии с аттестованной методикой (свидетельство УНИИМ № 224.01.14.187/2003), которая разработана совместно с НИИ вирусных инфекций (г. Екатеринбург).

В экспериментах использована культура клеток Л-41 КД/84 (А.С 3981708/28-13/159566), выращиваемая в стандартных условиях. Культура Л-41 КД/84 – перевиваемые клетки крови человека (лейкоциты периферической крови). В качестве критерия использован показатель уровня различий между интенсивностью прироста числа клеток культуры Л-41 КД/84 при добавлении в ростовую среду анализируемой пробы воды (опыт) и воды, не содержащих токсичных веществ (контроль). Исследуемые пробы хранили в холодильнике не более 24 часов. Перед опытом пробы стерилизовали фильтрованием через фильтры «Владипор» с размером пор 0,22 мкм и добавляли в культуральную среду в количестве 5% от объема питательной среды одновременно с клеточной суспензией.

Воздействие исследуемой пробы определяли по показателям полиферативной активности клеточных культур: эффективности прикрепления, кратности прироста, предельной плотности популяции клеток. Учет результатов проводили ежедневно с момента посадки до 5<sup>х</sup> суток роста, используя стандартные общепринятые методики.

По результатам опытов была выведена средняя величина снижения пролиферативной активности культуры. Критерий токсичности – снижение полиферальной активности более чем на 20%.

При аттестации методики в качестве «модельных» водных растворов использовали водные растворы стандартных образцов с различными концентрациями алюминия, цинка, роданида, формальдегида.

Основные принципы выбора модельных растворов:

- наличие стандартных образцов в виде водных растворов,
- концентрация вещества в «модельном» растворе должна изменяться от 0,5 до 2 ПДК и составлять не менее 0,025 мг/дм<sup>3</sup>, т.к. основная цель была оценить возможность использования методики, ее воспроизводимость и погрешность в оценке результатов.

Кроме того, руководствовались следующими соображениями:

- алюминий – наиболее широко встречающаяся примесь, которая присутствует в питьевой воде ввиду использования солей алюминия в качестве коагулянтов. ПДК по алюминию составляет 0,3 мг/дм<sup>3</sup> (2 кл. опасности),

- цинк – играет большое значение в биологических процессах: входит в состав ряда ферментов, способен вступать в реакции комплексообразования с компонентами питательной среды, а прочность комплексов цинка с аминокислотами, входящими в состав питательных растворов сопоставима с комплексами кобальта, меди, никеля, свинца,

- роданид-ион – активный лиганд, способный к комплексообразованию с железом (II, III),

- формальдегид – очень реакционноспособное соединение. Одна молекула муравьиного альдегида окисляется, а другая восстанавливается. Реакции такого типа играют значительную роль во многих биологических процессах и протекают в природе при участии ферментов. Кроме того, некоторые синтезированные материалы при контакте с питьевой водой выделяют формальдегид, т.к. он является одним из распространенных продуктов органического синтеза.

**Результаты.** Из полученных экспериментальных данных следует, что негативное влияние на биохимические процессы (в указанном тест-методе) оказывают:

- роданид-ионы в концентрации 0,2 мг/дм<sup>3</sup> (2 ПДК),
- формальдегид в концентрациях 0,05 и 0,1 мг/дм<sup>3</sup> (соответственно 1 и 2 ПДК),
- катионы алюминия в концентрации 1,0 и 0,25 мг/дм<sup>3</sup> (соответственно 3 и 1 ПДК),
- катионы цинка в концентрации 10 и 2,5 мг/дм<sup>3</sup> (соответственно 2 и 0,5 ПДК)

В процессе промышленного эксперимента, который был проведен на Среднеуральской ГРЭС, при различных режимах первичного хлорирования исходной воды оценивали качество воды: по принятым показателям состава, ООУ, химической активности органических примесей, биологическим свойствам. Принципиальная схема подготовки питьевой воды: первичное хлорирование, контактная коагуляция с использованием сернокислого алюминия, вторичное хлорирование. Очищенная вода поступает в резервуары чистой воды (РЧВ-1,2). По основным показателям химического и бактериологического анализов очищенная вода соответствовала требованиям нормативного документа. Доочистка воды от органических примесей производилась на лабораторных колонках, подготовленных по стандартному методу и загруженных угольными сорбентами марки БАУ и 207 °С

Из анализа экспериментальных данных можно заключить:

- с увеличением дозы хлора на первичное хлорирование снижается содержание общего органического углерода в очищенной воде до 6 мг/л и снижается полиферальная активность клеточной культуры (по результатам биотестирования) на 30% т.е. при дозе хлора 2 мг/дм<sup>3</sup> – вода токсична. При дозе хлора на первичное хлорирование 1 мг/дм<sup>3</sup> содержание общего органического углерода в очищенной воде 7 мг/л и полиферальная активность клеточной культуры снижается только на 5%, т.е. вода не токсична. Таким

образом, с увеличением дозы хлора на первичное хлорирование до 2 мг/л увеличивает содержание канцерогенных хлорорганических соединений в очищенной воде, хотя общее содержание органических примесей снижается. Следовательно, оптимальная доза хлора на первичное хлорирование – 1,0 мг/дм<sup>3</sup>;

- общее содержание органических примесей в поверхностной воде 10 мг/л и в технологическом процессе снижается на 40-50%, а после адсорбции на угольных

- сорбентах – до 70-80% и составляет 2-3 мг/л по ООУ. Однако, по результатам биотестирования полиферальная активность клеточной культуры снижается на 20-25%. Этот факт можно объяснить следующим образом: в присутствии хлорорганических соединений на сорбентах может происходить синтез диоксиноподобных соединений, которые влияют на биологические свойства воды.

#### **Выводы:**

- для оценки экологического риска может быть использована аттестованная методика с применением культуры клеток Л-41 КД/84;

- технологические режимы процессов очистки питьевой воды от органических примесей (в том числе и в зависимости от сезонных изменений) необходимо осуществлять учетом биохимических свойств природных соединений в источниках водоснабжения;

- снижение общего содержания органических примесей до 2-3 по содержанию ООУ не улучшает биохимические свойства водного раствора.

**Заключение.** Принципиальный подход к анализу свойств питьевых вод можно использовать при выборе сорбентов, корректировке технологии очистки и доочистки.

#### **Литература.**

1. Данченко Н. Н. Функциональный состав гумусовых кислот: определение и взаимосвязь с реакционной способностью: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.03. М, 1997. 126 с.

2. Бражкин А. В., Зайцева Н. В. Вода и здоровье населения. Вода России. Экосистемные управления водопользованием / под науч. ред. А. М. Черняева; ФГУП РосНИИВХ. Екатеринбург: АКВА–ПРЕСС, 2002. Гл 4. :195-213.

3. Белоконова Н. А. Существующие проблемы при оценке качества питьевой воды по органолептическим показателям. *Экологическая химия*. 2003; 12: 269–272.

## АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НИЗИННЫХ ТОРФОВ

О.А. Голубина\*, К.А. Братишко

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

e-mail: mtgolubin@yandex.ru

**Ключевые слова:** торф, гуминовые кислоты, антиоксидантная активность

**Введение.** Торфа сибирских болот представляют собой многофункциональное растительное сырье. На сегодняшний день из торфов получают широкий спектр продукции. В настоящее время появился новый тренд применения торфяного сырья – выделение биологически активных веществ (БАВ) различными экстрагентами и изготовление биологически активных добавок на их основе [1].

**Цель.** Самыми знаковыми и перспективными биологически активными веществами торфов являются гуминовые кислоты (ГК), являющиеся по своей природе биополимерами. Фракция ГК характеризуется наибольшим выходом и широким спектром биологической активности: кардиопротекторной, иммунотропной, антиоксидантной и т.д. [2].

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужили образцы низинных древесных, древесно-травяных и травяных торфов эвтрофного болота (зольность 9-15%, степень разложения 40-50%). Из образцов торфа было выделены образцы ГК 0,1 моль/л раствором натрия гидроксида, рН раствора 13 [3]. Для исследования антиоксидантной активности ГК использовали нетрадиционный для гуминовых соединений АВТС-тест.

Взаимодействие ГК со стабильным свободным катион-радикалом АВТС (диаммониевая соль 2,2'-азино-ди-(3-этилбензтиазолинсульфоновой кислоты) оценивали по снижению его содержания в реакционной среде в присутствии различных концентраций ГК. Катион-радикал АВТС<sup>•+</sup> формировали в растворе действием калий пероксодисульфата [3]. Навески АВТС массой (11±0.1) мг и калий пероксодисульфата массой (20±0.1) мг растворяли в 0.9 мл и 1 мл воды очищенной, соответственно. Для получения стокового раствора 900 мкл раствора АВТС смешивали со 100 мкл раствора калий пероксодисульфата. Для приготовления рабочего раствора стоковый раствор катион-радикала АВТС<sup>•+</sup> разводили в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.4) до достижения оптической плотности 0.70±0.02 при 734 нм и длине оптического пути 1 см. Контрольная проба общим объемом 0.5 мл содержала 50 мкл воды очищенной и 450 мкл раствора катион-радикала АВТС<sup>•+</sup>. В опытные пробы к рабочему раствору катион-радикала АВТС<sup>•+</sup> добавляли 50 мкл растворов исследуемых образцов ГК для получения конечных концентраций 12.5; 25; 37.5; 50 мкг/мл. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ 2000 при длине волны 734 нм против раствора сравнения, содержащего 50 мкл раствора ГК в соответствующих концентрациях и 450 мкл воды очищенной. Антиоксидантную активность оценивали по показателю IC<sub>50</sub> – концентрации ГК, при которой концентрация катион-радикала АВТС<sup>•+</sup> в данной модельной системе снижалась в 2 раза (рис. 1). В качестве положительного контроля использовали водорастворимый аналог токоферола – препарат «Тролокс» (Ascros Organics, Slovakia) [4].

**Результаты** Механизм реакции антиоксидантов с катион-радикалом АВТС<sup>•+</sup> заключается в отдаче атома водорода и переносе электрона, что приводит к обесцвечиванию раствора в модельной системе [4]. Полученные результаты представлены на рисунке 1 в виде показателя IC<sub>50</sub> и свидетельствуют о том, что образцы ГК в модельной системе в конечных концентрациях 12,5, 25, 37,5 и 50 мкг/мл в разной степени ингибировали катионрадикал АВТС<sup>•+</sup>.

Показано, что все исследуемые образцы ГК проявили антиоксидантную активность.

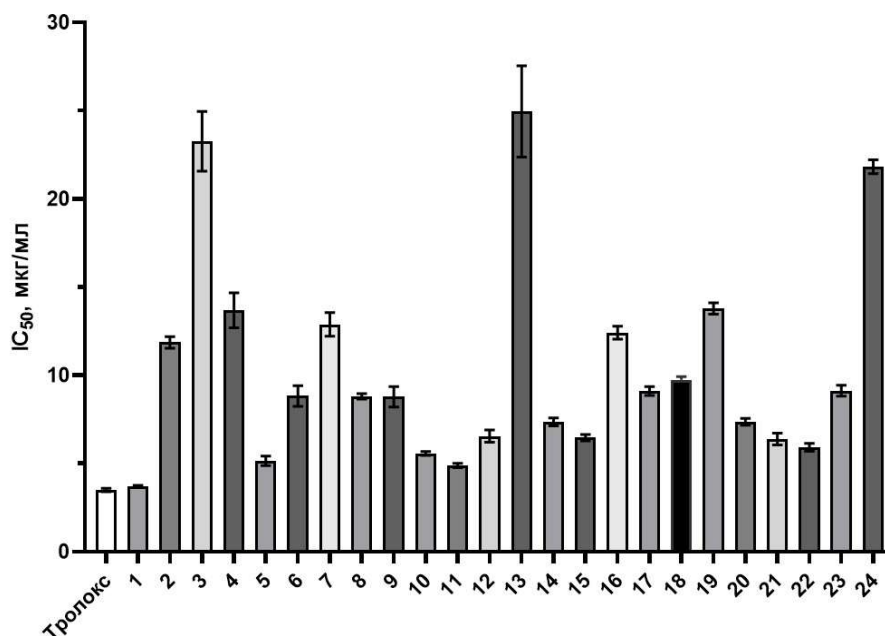


Рисунок 1. Антиоксидантная активность образцов гуминовых кислот, выраженная концентрацией стабильного катион-радикала АВТС<sup>•+</sup> в модельной системе, выраженная показателем IC<sub>50</sub>

Можно отметить, что более высокая способность ингибировать катион-радикал АВТС<sup>•+</sup> отмечена для ГК, выделенных из травяных торфов, в пределах одного вида. Кроме этого, отмечена прямая зависимость (r=0,7) между интенсивностью поглощения полос

3400 нм и 2920 нм инфракрасных спектров и антиоксидантной активностью исследуемых образцов. Поэтому можно предположить, что антирадикальная активность гуминовых кислот напрямую зависит от количества фенольных и спиртовых групп в их структуре.

Ранее уже было показано [2], что функциональные группировки в структуре ГК типа фенольных и хиноидных фрагментов способны выступать донорами протонов [5], а также ловушками свободных радикалов за счет их высокого парамагнетизма, катализаторами диспропорционирования супероксид-анион-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ), гидроксильного радикала.

**Заключение.** Таким образом, экспериментально установлено, что все исследуемые образцы ГК обладают выраженной способностью снижать концентрацию катион-радикала  $ABTS^{\cdot+}$  в модельной системе, о чем свидетельствует снижение оптической плотности раствора. Образцы ГК, выделенные из торфов данного месторождения, являются перспективными субстанциями для разработки на их основе биологически активных добавок с неспецифической активностью.

*Работа выполнена при поддержке Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (№ 056-00071-22-02).*

#### **Литература.**

1. Логвинова Л.А., Зыкова М.В., Кривошеков С.В., Дрыгунова Л.А., Передерина И.А., Голубина О.А., Перминова И.В., Константинов А.И., Белоусов М.В. Сравнительное фармакогностическое исследование низинных древесно-травяных видов торфа различного происхождения для обоснования их использования в качестве перспективных источников биологически активных гуминовых кислот. *Химия растительного сырья*. 2022; 1: 277-288.

2. Братишко К.А., Зыкова М.В., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Дрыгунова Л.А., И.В. Перминова, Белоусов М.В. Гуминовые кислоты – перспективные биологически активные вещества с антиоксидантной активностью для разработки протекторных средств. *Химия растительного сырья*. 2021; 1: 287 – 298.

3. Голубина О. А. Химическая характеристика углеводородного сырья месторождения «Таган». *Вестник Воронежского государственного ун-та. Серия: Химия, биология, фармация*. 2015; 3: 11–18.

4. Bentayeb K., Rubio C., Nerín C. Study of the antioxidant mechanisms of Trolox and eugenol with 2,2'-azobis(2-amidinepropane) dihydrochloride using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analyst*. 2012; 137(2): 459–470.

5. Zykova M.V., Schepetkin I.A., Belousov M.V., Krivoshchekov S.V., Logvinova L.A., Bratishko K.A., Yusubov M.S., Romanenko S.V., Quinn M.T. Physicochemical characterization and antioxidant activity of humic acids isolated from peat of various origins. *Molecules*. 2018; 23(4): 753–768.

## СПЕКТРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ В ЭКСПРЕСС ИДЕНТИФИКАЦИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ВОД

М.И. Дину

Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, г. Москва, Россия  
e-mail: marinadinu999@gmail.com

**Ключевые слова:** спектральные методы анализа, гумусовые вещества природных вод, верификация методов

**Введение.** Современные геохимические методы оценки экологического состояния объектов окружающей среды развиваются с точки зрения экспрессности, высокой точности и удобства выполнения в полевых условиях. Одним из информативных параметров такого состояния водоема является данные об органических веществах.

Анализ содержания и свойств органических гумусовых веществ природных вод является важным для понимания генезиса их поступления, возможных изменений молекулярных масс, дзета-потенциала и других физико-химических параметров. Тем не менее, в связи с их сложным стохастическим строением, а также содержанием ниже чем в



почвах (почвенных, грунтовых водах), применяются наборы методов по выделению и концентрированию (вымораживание, экстрагирование) гумусовых и не гумусовых веществ из объектов исследования. После чего, для получения информации о качественных особенностях и свойствах, выделенные фракции гумусовых веществ исследуются с помощью ИК- и УФ- спектральных методов на содержание в них ароматических, алифатических фрагментов, методами динамического светорассеяния – для оценки ДЭС, электрохимическими методами анализа – на содержании лабильных/нелабильных форм нахождения элементов.

Существующие способы экспресс идентификации для оценки алифатических/ароматических составляющих представлены коэффициентами оптической плотности при длине волны 335, 220, 270, 400 и их соотношений (и соотношением с рядом др. параметров), а также SUVA<sub>254</sub> и др. – что дает условную, относительную информацию о строении гумусовых и не гумусовых веществ.

**Цель.** В ходе работы были предприняты попытки верификации полученных оптических спектров исходных образцов природных вод с данными ИК- спектрального анализа, хромато-масс спектров с предварительной подготовкой (выделением) образцов из исследуемого объекта.

**Материала и методы.** Нами были использованы органические вещества гумусовой и негумусовой природы в водных объектах Карелии, Кольского пол-ва, Новгородской области. Рассмотрены способы выделения органических соединений вымораживанием и с помощью лиофильной сушки, а также исходные образцы. В качестве методов были использованы спектральные (ИК-, УФ-, флуориметрические методы).

**Результаты.** Оценен геохимический, антропогенный вклад, влияющий на количество и строение гумусовых веществ природных вод. Показаны особенности комплексного применения флуоресцентных, электрохимических и УФ/ИК – спектральных методов для адекватной оценки генезиса органических веществ гумусовой природы. Предсказаны изменения протекторных свойств гумусовых веществ в условиях различных воздействий.

## PURIFICATION OF OIL-CONTAMINATED SOIL WITH HUMIC SUBSTANCES

B.T. Yermagambet, Zh.M. Kassenova, M.K. Kazankapova, P.G.Kenzhekara  
Institute of Coal Chemistry and Technology LLP, Astana, Kazakhstan  
e-mail: coaltech@bk.ru

**Key words:** oil-contaminated soil, humic substances, potassium humates, adsorbent.

**Introduction.** Humic substances are formed in soil, peat, coal and other natural bodies under the influence of microorganisms and abiotic environmental factors. They accumulate nutrients and energy, reduce the negative effects of toxic substances. Humic substances are used in the cleaning and reclamation of areas contaminated with organic matter and oil products, as well as heavy metals. Currently, sorbents based on humic substances are being developed and used abroad. The main feature of humic substances is their ability to transform into a colloidal state [1]. In the molecule of humic substances with ions of any metals many carboxyl, which actively react and form insoluble salts, and man-made humates due to the presence of hydroxyl groups uses territories for cleaning. The most important from the point of view of Ecology in contaminated soils, which pose the greatest risk in industrial pollution it is an insoluble Humate. These metals are, for example, lead, mercury, cadmium, zinc, copper, chromium and others additional coordination due to the connections, it forms very strong complexes with humic substances [2].

**Purpose.** Determination of the effectiveness of humic substances in the treatment of soil contaminated with oil and oil products. Effective concentration of humic substances definition.

**Materials and methods.** Analytical scales, rotary evaporator RV 3 IKA, IR spectrometer “Nicolet iS10”, Shaker “Orbital Shaker-Incubator ES – 20”, dryer cabinet, chromatographic column, potassium Humate, H-hexane, 99% chloroform, aluminum oxide.

To clean the soil contaminated with the oil product, potassium Humate was used. Potassium Humate 1%, 10%, 20%, 50% and prepared solutions of 100% - vertical concentration. The experiment was carried out at intervals of forty days. Micro-organisms and humic substances before introduction into the soil concentrated solutions are mixed with water in a ratio of 1: 1: 100. UMBC (1m)containing strains of Lactobacillus spp as a microbial drug biological preparation Syria-59.3%, Saccharomyces ctutvisiae 38.07%, soil microorganisms – 2.63%. "Kazuglegumus" as potassium Humate preparation with a mass fraction of humus substances up to 56% in dry matter oil products and heavy metals in the soil chelate compound that remains in the soil with them, capable of binding forms and loses toxicity.

**Results.** The practice of cleaning soil contaminated with petroleum products using various concentrates of potassium Humate was carried out according to the gravimetric method. The results of the experiment were considered depending on the number of days. In Table 1, oil in soil treated with potassium Humate sorbent of different concentrations the results in the composition of the products are shown Table 1-oil in soil treated with potassium Humate sorbent the composition of products is indicated.

According to the results, we see that a sample with 10%, 20% and 1% Humate + 1% UMBC was better cleaned than other samples compared to the bast values. From the results after 40 days compared to the initial ones, it can be seen that the contaminated soil clears up better with each passing day.

Humic substances have been selected and effective concentrations have been determined for the treatment of oil-contaminated soil. Since the self-healing of soil contaminated with oil and oil products is a very long process, an urgent problem is to consider effective methods for cleaning contaminated soil. In the course of our experiments, we have achieved the optimal technology for cleaning oil-contaminated soil using various concentrations of potassium humate.

Table 1. Research results

Name	Mass fraction of petroleum products in the soil sample mg / kg day 1	Mass fraction of petroleum products in the soil sample mg / kg day 7	Mass fraction of petroleum products in the soil sample mg / kg day 15	Mass fraction of petroleum products in the soil sample mg / kg day 30	Mass fraction of petroleum products in soil sample mg / kg 40th day
Initial sample	80,000	80,000	80,000	80,000	80,000
1 % humate	60,200	64,600	64,200	61,000	43,800
10 % humate	35,800	31,600	21,800	18,500	4,800
20 % humate	55,000	42,800	24,200	12,600	9,600
50 % humate	54,200	44,400	34,400	24,400	17,400
100 % humate	49,600	41,000	39,000	27,400	10,200
1 % humate + 1 % UMBC	55,200	55,200	25,400	16,000	7,600

In the IR spectrum of a sample of potassium humate, broad peaks are observed in the region of  $3265\text{ cm}^{-1}$ , which belong to the stretching vibrations of the bonds: -OH, -COOH and  $\text{H}_2\text{O}$ . The bending vibration of the methyl and methylene groups at  $1363\text{ cm}^{-1}$  and the stretching vibration of the C-O bond in alcohols, phenols, etc. also confirm the presence of these functional groups. Peaks in the range  $1000\text{-}800\text{ cm}^{-1}$  are responsible for the strong stretching of the C-O group. Peaks at  $1565$ ,  $1363$  and  $995\text{ cm}^{-1}$  refer to -COO and CH, -OH, etc. attributed to the stretching vibrations of the groups. Accordingly, this is indicative of oxygen-enriched functional groups on the surface of potassium humate, which promote complexation or adsorption reactions. An increase in the intensity of the peak with a frequency of  $1565\text{ cm}^{-1}$  makes it possible to attribute this peak to the

vibration of the carboxylate ion. Peaks with a frequency of  $1363\text{ cm}^{-1}$  showed C-O vibrations associated with the potassium ion through ionic interaction. In the spectrum of potassium humate, a band at  $995\text{ cm}^{-1}$  is clearly visible, which is also present in the last spectrum and is associated with bending vibrations of alcohol hydroxyls. Since potassium humate is a complex mixture, its IR spectrum is a combination of the IR spectra of its constituent components.

In general, the IR spectrum of organic compounds usually shows characteristic peaks due to various functional groups present in the molecule. Some common functional groups found in humic substances include carboxylic acids, phenols, alcohols, amines, and aromatic rings.

Interpretation of the IR spectrum of solid potassium humate can give an idea of the functional groups and molecular characteristics present in the sample.

$4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$  ("fingerprint area"): this area often contains complex and unique patterns that can help identify the connection.

$3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ : wide peak(s) indicate the presence of O-H stretching, usually from hydroxyl groups (alcohols, phenols or carboxylic acids).

$3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ : aliphatic C-H stretching, commonly found in hydrocarbons.

$1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ : elongation C=O, indicating the presence of carbonyl groups (aldehydes, ketones, carboxylic acids, esters, etc.).

$1500\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ : this region often contains many absorption bands corresponding to various functional groups, including stretching C=C (aromatic compounds), stretching C-O (alcohols, esters and esters) and stretching C-N (amines, amides)).

Intensity and shape of peaks: Pay attention to the intensity and shape of absorption peaks. Stronger peaks indicate higher concentrations or more prominent functional groups.

Research work continues to consider other effective methods of cleaning oil-contaminated soils and explore the possibilities of their application.

**Conclusion.** For cleaning oil-contaminated soil, humic substances were selected and the effective concentration was determined. As a result of determining the degree of purification, when comparing different concentrations of potassium Humate, it was found that 10 %, 20 % - vertical and 1 % - vertical Humate + 1 % - vertical UMBC effectively purify oil-contaminated soil.

### **References.**

1. Shirshin E.A. Experimental evidence of incomplete fluorescence quenching of pyrene bound to humic substances: implications for measurements. *Photochem. Photobiol.* 2016: 842-850.

2. Tihonov V.V., Lisovickaja O.V. Ispolzovnie guminovyh kislot, sorbirovannyna mikroorganizmah, v likvidacii neftjanyh zagryzhenij. *Materialy VI Vseros. nauch. konf. s mezhdunar. uchastiem «Guminovye veshhestva v biosfere».* Syktevkar. 2014: 156-159.

## STUDY OF THE ABSORPTION OF CARBON DIOXIDE BY NATURAL HUMIC SUBSTANCES

B.T. Yermagambet, M.K. Kazankapova, Zh.M. Kassenova, U.M. Kozhamuratova  
Institute of Coal Chemistry and Technology LLP, Astana, Kazakhstan  
e-mail: coaltech@bk.ru

**Key words:** fertilizer, absorption, potassium humate, ammonium humate, CO<sub>2</sub> utilization.

**Introduction.** The prerequisite for the development of this work in Kazakhstan was the implementation by the President of the country Tokayev K.K. "Doctrines of carbon neutrality until 2060" and Kazakhstan's energy transition to low-carbon fuel calculation technologies, thereby reducing greenhouse gas emissions, increasing the efficiency of services and goods on the world market. The President of the Republic of Kazakhstan dated February 2, 2023 No. 121, approved a decree on a strategy for achieving carbon neutrality of the Republic of Kazakhstan until 2060.

Today's development and advancement of CO<sub>2</sub> absorption methods shows that capture itself is not technologically problematic. Using amine scrubbing, we get almost pure CO<sub>2</sub> from the stripper. Nevertheless, in order to reduce CO<sub>2</sub> emissions into the atmosphere, its further use or storage is necessary. Humic acid salts may become a promising alternative. Humic acid is a complex mixture of many different acids containing carboxyl and phenolate groups.

Humic acids (HA) are a mixture of natural amorphous colloids formed as a result of various biological and abiotic decomposition processes of animal and plant residues, which are characterized by a complex molecular structure, chemical composition, chemical activity, and resistance to decomposition [1, 2]. HA are widely distributed in soil, coal, and natural reservoirs, and their composition, structure, and application have been widely studied in agriculture [3]. The percentage of HA present in various sources is the following: black peat: 10-40%, sapropel peat: 10-20%, brown coal: 10-30%, compost materials: 2-5%, and soil sludge: 1-5%. The extracted amount of HA depends on the type of organic material, the extractant, as well as the temperature and particle size of the substrate. In addition, the origin and source of HA are the main parameters for obtaining high-purity HA. As a rule, low-grade coals seem to be the main source of HA [4].

**Purpose.** Study of the absorption ability of carbon dioxide by natural humic substances.

**Materials and methods.** This paper presents the results of laboratory studies on CO<sub>2</sub> absorption in humic acid salts. Ammonium (AH) and potassium humate (KH) in various concentrations have been tested. The absorption potential of these solutions in removing CO<sub>2</sub> from synthetic flue gases was determined.

The study specifically examines the humic substances extracted from "Maykuben" brown coal basin (Kazakhstan). This work reviews current research on the use of humic substances for carbon capture and storage and highlights the potential for scaling up this technology as a low-cost and efficient approach to reducing greenhouse gas emissions.

Installation for saturation of liquids with carbon dioxide consists of several sections. The gas preparation section consists of a carbon dioxide cylinder and an air compressor. Air and pure CO<sub>2</sub> are mixed in a gas mixer and the correct ratio is ensured by mass flow controllers. The total flow is checked with a rotameter. The reactor is a column which has an overall height of about 1.2 m and a diameter of about 30 mm, the column is thermostated. As a raw material for the experiment, carbon dioxide was taken in a cylinder with a CO<sub>2</sub> content of 15% vol.

The CO<sub>2</sub> absorption process was carried out at constant temperature (10°C, 23°C, 40°C). The concentration of CO<sub>2</sub> was measured at the inlet and outlet of the gas in a gas chromatograph "Crystal Lux". The experiment was carried out until the concentration of carbon dioxide reached the initial concentration and became saturated.

**Results.** Data on the elemental composition of humic substances isolated from the oxidized coal "Sarykol" from the Maikuben deposits are shown in Tables 1 and 2.

Table 1. Average content of carbon (C), hydrogen (H), nitrogen (N), sulfur (S) and oxygen (O)

Name	Technical specification, %			Content, %				
	$W^r_t$	$A^r$	$V^d$	C	H	N	S	O
Potassium humate	44.80	11.64	42.69	34.31	1.66	0.80	0.43	19.03

Table 2. Sample characteristics

Name	Chemical formula	O/C	H/C	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , %	K <sub>2</sub> O, %
Potassium humate	C <sub>290</sub> H <sub>160</sub> O <sub>120</sub> N <sub>6</sub> S	0.55	0,048	0.31	24.65

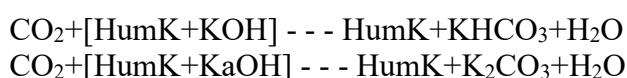
The potassium humate was not toxic or flammable and belonged to the 4th hazard class. The isolated fraction contained 34.31 % C and 19,03 % O, which characterizes it as saturated with these elements. The H and N content was at the level of 1.66 and 0.80 %, respectively. The S content was the lowest (0.43 %), which is typical for HS.

The oxygen to carbon ratio (O/C) indicated the typical polarity, i.e., abundance of polar oxygen functional groups on the surface. Results showed that O/C ratio of studied samples varied between 0.24 and 0.55.

Table 3. Sample characteristic

Name	HA <sup>daf</sup> , %	TOC, %	pH	Elec. cond., mCM/cm	S <sub>BET</sub> , m <sup>2</sup> /g	The content of functional groups, mmol/g		Particle size, μm		
						carboxyl	phenolic	10 %	50 %	90 %
Potassium humate	81,48	2.82	12.33	20.44	0,55	0.241	0.549	0.02	0.36	3.57

One of the main indicators of the quality of HK is the particle size, which determines the availability of HS for plants, their solubility in soil, and the absence of large agglomerates. After the rotary cavitation machine and the ultrasound machine, the particle size averaged from 19.2 nm to 3.57 microns (Tabl.3). According to the results, two fractions with a particle size from 0.01 to 0.1 microns were isolated, with a maximum content of more than 40% of the volume, as well as the second fraction containing particles from 0.15 to 1.0 microns in size. There is a mechanism for the absorption of carbon dioxide by potassium humate according to the following equation:



Carbon dioxide is converted to potassium bicarbonate or potassium carbonate. The results of the study on the absorption of CO<sub>2</sub> by potassium humate at different temperature intervals are presented in the table 4.

The absorption capacity of potassium humate (50%) was: at 10°C - 13.59 g CO<sub>2</sub>/kg, 23°C - 19.31 g CO<sub>2</sub>/kg, 40°C - 15.41 g CO<sub>2</sub>/kg. As it was determined, the most optimal temperature for sorption is 23°C, where it showed the highest sorption capacity.

Table 4. Absorption capacities of studied humic acid salt solution

Days	Absorbed CO <sub>2</sub> , g	Absorbed CO <sub>2</sub> g/kg	Absorbed CO <sub>2</sub> , g	Absorbed CO <sub>2</sub> g/kg	Absorbed CO <sub>2</sub> , g	Absorbed CO <sub>2</sub> g/kg
	10°C		23°C		40°C	
1	29,52	1,31	29,52	2,96	50,20	2,23
2	21,39	0,95	21,39	1,20	24,90	1,11
3	53,14	2,36	53,14	4,04	29,29	1,30
4	28,33	1,26	28,33	2,64	14,52	0,65
5	15,29	0,68	15,29	2,62	40,06	1,77
6	37,75	1,68	37,75	3,84	55,31	2,45
7	45,11	2,01	45,11	0,42	16,12	0,72
8	35,62	1,65	20,64	0,92	29,40	1,31
9	27,61	1,23	10,72	0,48	25,77	1,15
10	10,54	0,47	4,68	0,21	30,11	1,33
11	-	-	-	-	31,03	1,38
Total	304,30	<b>13,59</b>	370,14	<b>19,32</b>	346,71	<b>15,04</b>

**Conclusion.** The resulting product is used as a polymicrocomponent organic fertilizer saturated with CO<sub>2</sub>. That is, the advantage of using humic salts is that the solution after absorption of CO<sub>2</sub> can be widely used in agriculture as an organo-mineral fertilizer saturated with K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Overall, humic substances have unique physical and chemical characteristics that make them a promising candidate for developing effective CO<sub>2</sub> capture methods.

*This research has been funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP14871353. Research of the*

*scientific foundations and development of technology for obtaining organomineral-fertilizer by absorbing greenhouse gases with natural humic substances).*

#### **References.**

1. F. Liu, et al., Characterization of organic compounds from hydrogen peroxide-treated subbituminous coal and their composition changes during microbial methanogenesis. *Fuel*. 2019; 237: 1209–1216.
2. A. A. Pájaro, et al., Effect of particle size and oxidant concentration in the yield of humic acids from mineral coal using response surface methodology. *Rev. Acad. ColombCienc. ExactFis. Nat.* 2017; 41: 361-369.
3. Y. Zhang, et al., Extraction and functional group characterization of fulvic acid from hami lignite. *Chem. Select*. 2019; 4: 1448-1455.
4. Z. Mona, A. Zeeshan, A. Javaid, S. Khurram, Sh. Naseer, M. Shahid, Extraction and characterization of humic acid from Pakistani lignite coals. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*. 2017: 1-8.

### РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ В ФОРМИРОВАНИИ ГУМИНОВОГО КОМПЛЕКСНОГО СОРБЕНТА С Fe(III)

Е.В. Линкевич\*, Е.Н. Гуляева

Карельский научный центр РАН, Отдел комплексных научных исследований, г.  
Петрозаводск, Россия  
e-mail: maltseva2@gmail.com

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, функциональные группы, комплексный сорбент, железо (III)

**Введение.** Одним из способов формирования металл-гумусовых комплексов в природе является интенсивное высвобождение аморфных форм Si, Fe и Al в результате выветривания вулканических пород [1, 2]. Кислотные свойства гуминовых кислот (ГК) играют определяющую роль в растворении минеральных матриц в окружающей среде. Карбоксильные группы выступают ингибитором формирования прочных минералов таких, как гематит [3]. Железосодержащие минералы обладают высокой сорбционной активностью, однако результаты, полученные по сорбционным свойствам композитов ГК-Fe, указывают на доминирующую роль железа как сорбента [4] и не рассматривается значимость гуминовых кислот в сорбции других неорганических биоцидов.

**Цель** работы - определить роль функциональных групп в различном диапазоне pH на формирование гуминового комплекса с Fe(III) и оценить его сорбционные свойства.

**Материалы и методы.** Получение модельного образца гуминового комплекса проводили методом совместного осаждения Fe(III) и ГК, выделенных из окисленного бурого угля. Осаждение проводили с pH 10 до pH 2. Микрофотографии поверхности ГК были получены методом СЭМ (Bruker AXS Microanalysis GmbH). Определение функциональных групп проводили методом потенциометрического титрования [Мальцева Е.В., 2011]. Долю свободных кислотных групп ГК определяли после добавления к разным концентрациям растворов ГК заданного количества раствора Fe(III). Сорбционные свойства гуминовых кислот и комплексного сорбента изучались с Cd(II) и Cr(VI) при pH 4,5.

**Результаты.** Гуминовые кислоты хорошо известны сорбционными свойствами по отношению к различным экотоксикантам. Анализ поверхности ГК показал высокопористую структуру гуминового образца, где средний радиус пор составил 250нм (рис.1). Поэтому ГК являются самостоятельными сорбентами при определенных условиях pH среды, концентраций сорбента и адсорбата.

Исследуемые гуминовые кислоты содержали следующее количество функциональных групп: RAr-OH (pK 10,2) 13.3±0.6 мкмоль/г, R, Ar-COOH (pK 7,0) 8.1±0.4 мкмоль/г и R, Ar-COOH (pK 4,35) 3.6±0.2 мкмоль/г. Расчет свободных

функциональных групп ГК после взаимодействия с Fe(III) показал неодинаковое участие групп в формировании гуминового комплекса (рис.2). Доля участия фенольных групп ГК возрастала с увеличением концентрации ГК. В меньшей степени подобный эффект наблюдался для функциональных групп с рК 7,0. Взаимодействие сильных кислых групп ГК (рК 4,35) с раствором железа Fe(III) не зависело от концентрации ГК.

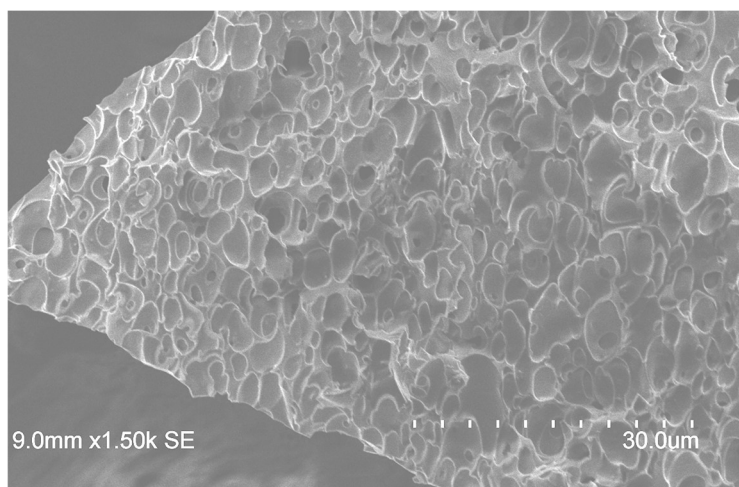


Рисунок 1. Микрофотография поверхности гуминовых кислот

Такое поведение функциональных групп указывает на возрастание сорбции слабых кислотных групп на поверхности формирующегося Fe(OH)<sub>3</sub>.

Оценка суммарного вклада функциональных групп в реакции взаимодействия с раствором Fe(III) показала, что кривая носит степенной характер и описывается уравнением  $y = 10,86x^{0,3972}$ ,  $R^2 = 0,99$  (рис.2).

Рисунок 2. Общее количество функциональных групп ГК, участвующих в образовании комплекса ГК-Fe ( $R^2 = 0,99$ )

Сорбция ионов кадмия и хрома из раствора гуминовыми кислотами составила  $35 \pm 1$  и  $18 \pm 1$  мг/г ГК. При этом сорбционные свойства комплексного сорбента были в 2,2 раза выше при сорбции Cd(II) за 5 ч реакции взаимодействия и практически в 4 раза выше при сорбции Cr(VI) за 250ч контакта (табл. 1).

Таблица 1. Сорбционная емкость (мг/г) ионов металлов сорбентами ГК и ГК-Fe

Образец	А, мг/г		Время, ч
	Cd(II)	Cr(VI)	
ГКFe + Me(II/VI)	76±2*	16±1	5
ГК + Me(II/VI)	35±1	18±1	
ГКFe+ Me(II/VI)	43±1	61±2	250
ГКFe + Me(II)+Me(VI)	55±2	61±1	

\*доверительный интервал, n=3, P=0,95

**Заключение** Гуминовые кислоты имеют пористую структуру, которая обеспечивает сорбционные свойства в отношении различных экотоксикантов в условиях окружающей среды. Наличие горных пород, особенно вулканического происхождения в некоторых регионах РФ, являются причиной формирования металлургических комплексов, обладающих высокими сорбционными свойствами. Исследование вклада функциональных групп ГК в формирование комплексного сорбента ГК-Fe показало, что прочное взаимодействие ГК и Fe(III) происходит в процессе соосаждения за счет функциональных групп ГК. Полученные результаты сравнения сорбционных свойств гуминовых кислот и комплексного сорбента на основе Fe(III) показали превосходство и устойчивость ГК-Fe по сравнению с ГК.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Отдела комплексных научных исследований Карельского научного центра РАН (проект FMEN-2022-0018).*

#### **Литература.**

1. Shoji, S., Nanzyo, M., and Dahlgren, R.A. Volcanic Ash Soils. Genesis, Properties and Utilization. *Developments in Soil Science*. 1993; 21. Amsterdam: Elsevier.
2. Захарихина Л. В., Литвиненко Ю. С. Вулканизм и геохимия почвенно-растительного покрова Камчатки. Сообщение 2. Специфика формирования элементного состава вулканических почв в холодных гумидных условиях. *Вулканология и сейсмология*. 2019;3:25-33.
3. Liu X., Millero F. J. The solubility of iron hydroxide in sodium chloride solutions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1999;63(19-20):3487-3497.
4. Qu C. et al. Mechanistic investigation and modeling of Cd immobilization by iron (hydr) oxide-humic acid coprecipitates. *Journal of Hazardous Materials*. 2021;420:126603.
5. Мальцева Е.В., Филатов Д.А., Юдина Н.В., Иванов А.А. *Химия твердого топлива*. 201; 45: 62.

## ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ СВОЙСТВА ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Н.А. Степанов, О.В. Сенько, О.В. Маслова, А.Г. Асланлы, С.Н. Гайдамака, М.У. Агаева,  
А.О. Гайдамака, И.В. Лягин, Е.Н. Ефременко\*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, г. Москва, Россия

e-mail: elena\_efremenko@list.ru

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, мицелиальные грибы, дрожжи, ингибирование

**Введение.** Микроскопические грибы (зиго- и аскомицеты) играют существенную роль в различных биологических процессах, приводящих в том числе к нежелательным для человека последствиям [1]. Распространение микозов увеличивается во всем мире, что связано в том числе, активным применением антибактериальных препаратов, подавляющих рост бактерий, на месте которых активнее развиваются грибные культуры [2].

Проблема бактериальной резистентности давно обсуждается, тогда как аналогичная проблема, встающая в отношении грибов, пока так же значимо не формулируется. При этом данная проблема уже обсуждается не только в области здравоохранения, но и в области продовольственной безопасности, так как грибы все чаще поражают сельскохозяйственные культуры, а также являются продуцентами микотоксинов, загрязняющих продовольствие.



Поскольку химические фунгициды, широко используемые для снижения числа поражений растений грибами, являются более экотоксичными, то большое внимание уделяется биологическим средствам защиты [3].

Уже известно, что гуминовые вещества (ГВ) оказывают разное влияние на микроорганизмы, причем фульвокислоты преимущественно стимулируют метаболическую активность разных клеток (бактерий и архей) [4], а гуминовые кислоты – ингибируют ее, и вследствие этого могут быть использованы в качестве одного из компонентов препаратов для роста таких клеток [5].

**Цель.** проанализировать и оценить эффект воздействия гуминовых кислот (ГК) на клетки мицелиальных грибов и дрожжей.

**Материалы и методы.** В данной работе был осуществлен поиск и анализ актуальной информации в области воздействия ГВ на клетки грибов.

**Результаты.** ГВ представляют собой сложные по составу гетерогенные полидисперсные азотсодержащие соединения фенольной природы. ГВ являются акцепторами электронов и протонов, могут вступать в различные окислительно-восстановительные реакции, характеризуются поверхностно-активными свойствами [6].

Анализ данных по воздействию ГК на мицелиальные грибы и дрожжи (Таблица 1) показал, что гуминовые кислоты из разных источников ингибируют рост этих микроорганизмов на 30-80 %. Установлено, что и в случае грибов ингибирующий эффект ГК намного сильнее, чем смеси ГВ или фульвовых кислот (ФК). Действие ГВ проявлялось с первых часов после инокуляции гриба и сохранялось в течение всего времени культивирования, тогда как действие ФК проявлялось только через 108 ч [9]. Для мицелиальных грибов одним из вероятных механизмов ингибирования их метаболизма является нековалентное связывание с ГК и инактивация гидролитических ферментов и, как следствие, снижение количества биодоступного и поступающего к клеткам субстрата [12, 14].

Таблица 1. Влияние ГК на мицелиальные грибы и дрожжи

Штамм [Ссылка]	Источник ГВ и концентрация	Эффект
<i>Physalospora piricola</i> [7]	ГК из лигнита – 50 мг/л	Ингибирование роста 85%
<i>Fusarium moniliforme</i> [7]	ГК из компостированного коровьего навоза -50 мг/л	Ингибирование роста 63,5%
<i>P. piricola, Botrytis cinerea, Phytophthora infestans</i> [8]	ГК из почвы - 50 мг/л	<i>P. piricola</i> - ингибирование роста 50 %, для остальных патогенов - 30%
<i>Fusarium oxysporum</i> [9]	ГК из компостированного ила – 10-100 мг/л	Ингибирование роста и снижение количества конидий
<i>P. piricola, Rhizoctonia cerealis</i> [10]	ГК из почвы - 50 мг/л	<i>P. piricola</i> – ингибирование роста 70 %, <i>Rhizoctonia cerealis</i> -55%
<i>Candida albicans</i> [11]	ГК (Sigma Aldrich) – 40-80 мг/л	Угнетение роста и снижение секреции метаболитов
<i>Pichia stipitis</i> [12]	ГВ 0.2 г/г рисовой соломы	Ингибирование брожения на 23%
<i>Candida maltosa</i> [13]	ГК из бурого угля – 50 мг/л	Ингибирование роста

При исследовании влияния ГК на рост и метаболизм дрожжей *Candida albicans* показано, что угнетение роста и снижение секреции метаболитов этих клеток сопровождалось значительным повышением активности антиоксидантных ферментов, что также свидетельствует о токсическом действии ГК [11]. При этом в качестве одного из возможных механизмов ингибирования клеток дрожжей под действием ГК отмечается возможное образование аддитивного слоя на поверхности клеток, который служит транспортным барьером и, таким образом, влияет на рост дрожжевых клеток [13].

**Заключение.** Таким образом, установлено, что ГК ингибируют рост мицелиальных грибов и дрожжей. В этой связи ГВ являются перспективными кандидатами для получения комплексных противогрибковых препаратов, предотвращающих развитие резистентности.

*Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант 23-14-00092).*

### *Литература.*

1. Fisher M. C., Gurr S. J., Cuomo C. A., Blehert D. S., Jin, H., Stukenbrock, E. A., Stajich, J. E., Kahmann, R., Boone, C., Denning, D. W., Gow, N. A., Klein, B. S., Kronstad, J. W., Sheppard, D. C., Taylort, J. W., Wright, GD., Heitman, J., Casadevall, A., Cowen, L. E. . Threats posed by the fungal kingdom to humans, wildlife, and agriculture. *MBio*. 2020; 11(3): e00449-20. DOI:10.1128/mbio.00449-20.
2. Кузикова И.Л., Медведева Н. Оппортунистические грибы-контаминанты среды обитания человека и их потенциальная патогенность. *Экология человека*. 2021; 3:4-14. DOI:10.33396/1728-0869-2021-3-4-14.
- 3 Makhuele, R., Naidu, K., Gbashi, S., Thipe, V. C., Adebo, O. A., Njobeh, P. B. The use of plant extracts and their phytochemicals for control of toxigenic fungi and mycotoxins. *Heliyon*. 2020; 6: e05291. DOI:10.1016/j.heliyon.2020.e05291.
4. Stepanov, N., Senko, O., Perminova, I., Efremenko, E. A new approach to assess the effect of various humic compounds on the metabolic activity of cells participating in methanogenesis. *Sustainability*. 2019;11:3158. DOI:10.3390/su11113158.
5. Efremenko, E., Stepanov, N., Senko, O., Maslova, O., Volikov, A., Zhirkova, A., Perminova, I. 2022. Strategies for variable regulation of methanogenesis efficiency and velocity. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2022; 106: 6833-6845. DOI:10.1007/s00253-022-12148-x.
6. Савченко И. А., Корнеева И. Н., Лукша Е. А., Пасечник К. К. (2019) Биологическая активность гуминовых веществ: перспективы и проблемы их применения в медицине (обзор). *Журнал Меди Аль*. 2019; 1(23): 54-60. DOI:10.21145/2225-0026-2019-1-54-60
7. Wei, S., Wu, M., Li, G., Liu, M., Jiang, C., Li, Z. Fungistatic activity of multiorigin humic acids in relation to their chemical structure. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018; 66:7514-7521. DOI:10.1021/acs.jafc.8b01931
8. Wu, M., Song, M., Liu, M., Jiang, C., Li, Z. Fungicidal activities of soil humic/fulvic acids as related to their chemical structures in greenhouse vegetable fields with cultivation chronosequence. *Scientific Reports*. 2016; 6(1): 32858. DOI:10.1038/srep32858
9. Loffredo, E.; Berloco, M.; Casulli, F.; Senesi, N. In vitro assessment of the inhibition of humic substances on the growth of two strains of *Fusarium oxysporum*. *Biology and Fertility of Soils*. 2007; 43:759– 769, DOI:10.1007/s00374-006-0160-z
10. Wu M., Wei S., Liu J., Liu M., Jiang, C., Li, Z. Long-term mineral fertilization in paddy soil alters the chemical structures and decreases the fungistatic activities of humic acids. *European Journal of Soil Science*. 2019; 70(4):776-785. DOI:10.1111/ejss.12778.
11. Cudowski, A., Pietryczuk, A., Górniak, A. Effect of humic acid on the growth and metabolism of *Candida albicans* isolated from surface waters in North-Eastern Poland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19(15): 9408. DOI:10.3390/ijerph19159408.
12. Ma, X., Hu, J., Wang, X., Choi, S., Zhang, T. A., Tsang, Y. F., Gao, M. T. An integrated strategy for the utilization of rice straw: Production of plant growth promoter followed by ethanol fermentation. *Process Safety and Environmental Protection*. 2019; 129: 1-7. DOI:10.1016/j.psep.2019.06.004.
13. Feifičová, D., Šnajdr, J., Siglová, M., Čejková, A., Masák, J., Jirků, V. Influence of humic acids on the growth of the microorganisms utilizing toxic compounds (comparison between yeast and bacteria). *CHIMIA International Journal for Chemistry*. 2005; 59(10): 749-752. DOI:10.2533/000942905777675705.
14. Wikandari, R., Sanjaya, A. P., Millati, R., Karimi, K., Taherzadeh, M. J. Fermentation inhibitors in ethanol and biogas processes and strategies to counteract their effects. in *Biomass, Biofuels, Biochemicals: Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels*, Pandey, A. et al. (Eds.), Second Edition. Academic Press, 2019; 461-499. DOI:10.1016/b978-0-12-816856-1.00020-8.

## Гуминовые вещества и агротехнология

### ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ КОМПАНИИ ООО «ТОРФОПРОДУКТ» В РАЗЛИЧНЫХ ОБЛАСТЯХ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

В.В. Жаркова\*, А.С. Бричков, В.Д. Свинцов  
ООО «Торфопродукт», г. Томск, Россия  
e-mail: vvp@torfpro.ru

**Ключевые слова:** торф, гуминовые вещества, сельское хозяйство, медицина, косметология

**Введение.** Гуминовые кислоты на протяжении десятилетий исследуются и применяются в растениеводстве, медицине, животноводстве, и других отраслях промышленности [1-3]. Известно, что гуматы сами по себе являются природными биологически активными веществами, в оптимальных дозах стимулирующие рост и развитие на клеточном уровне [1, 4, 5, 6]. Перспективным видом непищевого сырья, которое может быть использовано для производства удобрений, БАД, косметических средств, энтеросорбентов является торф. Данное сырье относится к экологически чистым, а его запасы в РФ составляют около 200 миллиардов тонн [4]. Специфичность гуминовых препаратов из торфа определяет их химический состав, который, по большей части, зависит от источников органического сырья и различий в условиях гумификации. Эта связь выражается в проявляемой биологической активности, а также в том, какой препарат будет оптимальным в зависимости от цели использования. Актуально производство стандартного гуминового препарата с определенной массовой долей гуминовых веществ, молекулярной массы, прошедшего контроль качества.

Такой стандартизированный препарат позволит моделировать процессы производства продукции с высокими требованиями к составу на его основе.

Компания ООО «Торфопродукт» на протяжении 6 лет производит жидкий гумат на основе торфа и проводит контроль его качества на базе своей лаборатории. Методики анализа готового продукта и приготовление на его основе препаратов марки «Торфопродукт» со стандартным содержанием гуминовых веществ подробно описаны в регламентах предприятия и патентах (RU 2792354 и 2778504 C1).

**Цель.** Оценить возможность использования гуминовых препаратов компании ООО «Торфопродукт» в различных областях промышленности.

**Материалы и методы.** На опытном участке площадью 20 га посеяны семена культуры Пшеницы яровой, сорт Новосибирская 31, категория семян Массовая репродукция. Во время вегетации растений проведены две обработки опытных растений с помощью опрыскивателя, норма расхода рабочей жидкости составила от 50 л/га.

В первую и вторую обработку к баковой смеси добавляли «Торфопродукт По листу» для снятия стресса от гербицидной обработки, и ускорения развития растений за счёт гуминовых кислот и микроэлементов, содержащихся в препарате. Препарат применялся в дозировке 1 л/га. Схема эксперимента представлена в таблице 1.

Таблица 1. Схема эксперимента «Торфопродукт»

Вариант	Контроль	Опыт
1 обработка	Аминка Фло 0,2 л/га Карбамид 10 кг/га	Аминка Фло 0,2 л/га Карбамид 10 кг/га «Торфопродукт По листу» 1 л/га
2 обработка		«Торфопродукт По листу» 1 л/га

Во время уборки на опытном и контрольном поле были отобраны учётные площадки размером 100x100 см (1 кв. м) для определения структуры урожая, биологической урожайности и качества зерновых культур и сравнения с результатами, полученными на

контрольном участке. Массу 1000 г зёрен определяли согласно ГОСТ 12042-80. Урожайность определяли путём полного обмолота снопа в полупромышленной молотилке типа МК-2М, и взвешиванием полученного зерна. Далее производили пересчет на ц/га. Определение высоты растения производили метрическим методом с помощью метра, из снопа отбирали 30 растений для достоверности полученных результатов. Определение показателей колоса: длина колоса, количество колосков в колосе, количество зёрен в колосе производились путём отбора 30 растений из снопа с последующим ручным обмолотом и подсчётом. Определение качественных показателей зерна, таких как: содержание белка, клейковина, индекс деформации клейковины, стекловидность, число падения) проведено на БИК-анализаторе ИнфраЛЮМ ФТ 10 («Люмэкс», Россия) с использованием кювет с длиной оптического пути 18 мм. Прибор является однолучевым Фурье спектрометром, измеряющим спектры пропускания образцов в ближней инфракрасной области (диапазон 8000–14000 см<sup>-1</sup>).

**Результаты.** В настоящее время основная часть продукции компании используются в растениеводстве. Многолетние полевые исследования влияния препаратов «Торфопродукт» на урожайность, показывают возможности его прироста до 60%. Данный показатель был получен в различных областях России. Для примера приведен результат полевых испытаний препарата «Торфопродукт» в 2021 году. Исследования проводили на полях ООО «Сиб-колос» в Новосибирской области на культуре Пшеница яровая.

При проведении эксперимента проводились фенологические наблюдения. Отмечается, что после гербицидных обработок, растения испытывали меньший стресс от их использования при обработке «Торфопродуктом».

В результате применения «Торфопродукт» отмечены положительные, достоверные изменения в структуре урожая. Данные представлены в таблице 2 и 3.

Таблица 2. Структура урожая при использовании «Торфопродукт»

Показатель	Высота растения, см	Длина колоса, см	Кол-во колосков в колосе, шт.	Кол-во зерен в колосе, шт.	Коэффициент продуктивной кустистости
Контроль	53,62	4,82	10,12	15,24	1
Опыт	66,52*	6,08*	12,4*	22,72*	1,04
НСР	5,594	0,581	1,102	3,206	0

\* достоверное отличие от контроля при  $P \leq 0,05$

Из представленной таблицы видно, что «Торфопродукт» способствовал увеличению средней высоты растения на 12,9 см относительно контроля. Установлена прибавка длины колоса на 1,26 см, и количества колосков в колосе в рамках ошибки. Коэффициент продуктивной кустистости в контрольном варианте составил - 1,0, в опытном - 1,04.

Таблица 3. Урожайность при использовании «Торфопродукт»

Показатель	Урожайность биологическая, ц/га	Урожайность биологическая, %	Масса 1000 зерен, г
Контроль	9,27	100	20,83
Опыт	14,82	159,87	25,31*
НСР	0	0	1,145

\*достоверное отличие от контроля при  $P \leq 0,05$

В результате двукратного применения «Торфопродукт» отмечено увеличение урожайности на 59,87% относительно контроля. Урожайность контрольного участка составила 9,27 ц/га.

Урожайность опытного участка возросла за счет количественных изменений структуры урожая в результате применения «Торфопродукт». Также увеличился коэффициент продуктивной кустистости. Масса 1000 зёрен незначительно увеличилась на 4,48 г.

Качественные характеристики полученного урожая оказывают влияние на стоимость полученной продукции не меньше, чем урожайность (таблица 4). Отмечено, что применение препаратов «Торфопродукт» приводит повышению всех качественных показателей пшеницы. Экономический эффект в результате его применения на данной территории составил 8 948,5 рублей с гектара.

Таблица 4. Качественные показатели при использовании «Торфопродукт»

Показатель	Белок, %	Клейковина, %	ИДК, ед.	Стекловидность, %	Число падения, с
Контроль	14,89	25,28	72,96	45,33	233,07
Опыт	14,98	36,81	81,58	50,71	241,88

Примером применения торфяных вытяжек компании «Торфопродукт» в косметологии может служить сотрудничество с компанией «Alorga». Препараты использованы при получении крем-гелей для обогащения состава микроэлементами, витаминами и жирными кислотами. Гуминовые и фульвокислоты помогают компонентам крема проникать глубже в кожу. Готовый продукт позволяет бороться с болезнями вен, сосудов и морщинами.

Стандартизированный препарат компании «Торфопродукт» применим для получения кормовой добавки. Данный продукт хорошо растворим в воде, и обладает биологически активными свойствами. Качественные показатели кормовой добавки определяются требованиями технических условий ТУ 08.92.10.-007-00493929-2022. В состав препарата входит широкий спектр аминокислот аргинин, тирозин, фенилаланин, гистидин, лейцин+изолейцин, метионин, валин и пр., и отсутствуют токсичные элементы (свинец, кадмий, ртуть).

**Заключение.** На протяжении всего срока работы компании ООО «Торфопродукт» удалось сформировать знания, умения в производстве и контроле качества гуминовых препаратов с целью их применения в растениеводстве, косметологии, животноводстве. Очевидно, что с привлечением научно-технического сообщества получится раскрыть большой потенциал торфа, расширить спектр производимой торфяной продукции и областей ее использования.

#### **Литература.**

1. Симакова С. А., Исхакова Г. М., Пурьгин П. П. Применение композиции гумата калия и спирулины в качестве биологически активной добавки к пище. *Экология и продукты питания*. 2009; 11, 1(5): 1097-1099.
2. Кухаренко Т. А. О молекулярной структуре гуминовых кислот. *Гуминовые вещества в биосфере*. М.: Наука, 1993; 28-35.
3. Жилиякова Т. П. Перспективы применения торфа и продуктов его переработки в животноводстве – Томск: Изд-во ТПУ, 2006. 92 с.
4. Гусев К. К. Биологически активная добавка. *Патент РФ*. 2005; № 2259147. 6 с.
5. Бутов А. А. Гуминовый препарат и способ его получения. *Патент РФ*. 2020; № 2 717 659. 16 с.
7. Горювая А. И. Роль физиологически активных гуминовых веществ в адаптации растений к действию ионизирующей радиации и пестицидов. *Гуминовые вещества в биосфере*. Под ред. Д.С. Орлова. М.: Наука, 1993; 144-150.

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФУЛЬВОКИСЛОТ И ЭКСТРАКЦИОННЫХ СМОЛ БУРЫХ УГЛЕЙ

С.И. Жеребцов\*, К.М. Шпакодраев, К.С. Вотолин, Н.В. Малышенко  
Институт углей и химического материаловедения ФИЦ УУХ СО РАН, г. Кемерово,  
Россия  
e-mail: sizh@yandex.ru

**Ключевые слова:** гуминовые вещества, биологическая активность.

**Введение.** Способность гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК) стимулировать рост растений хорошо подтверждена многими исследованиями [1-2]. Влияние ГК и ФК на развитие растений отражается как на росте корней и проростков, так и на урожайности. Гораздо меньше сведений о фитоактивности фракций битумов бурых углей, в частности, смол.

**Материалы и методы.** В исследовании были использованы препараты на основе ГК, ФК и смол битумов (См), выделенных из бурых углей Тисульского месторождения Канско-Ачинского угольного бассейна и Тюльганского месторождения Южно-Уральского бассейна. Образцы углей, ГК и ФК охарактеризованы элементным и техническими анализами, ИК и <sup>13</sup>С-ЯМР спектроскопией в твердом теле. Разработана и апробирована методика выделения ФК и фракций смол бурых углей. Достигнут высокий выход ГК – до 68,0 %, ФК – до 9,6 %, Полученные образцы охарактеризованы элементным анализом, ИК-Фурье и <sup>13</sup>С-ЯМР (CPMAS), ГХ-МСД спектрометрией. Установлено, что ФК отличаются более высоким содержанием кислородсодержащих алифатических групп с преобладанием карбоновых кислот и сложных эфиров. В то же время для гуминовых кислот (ГК) характерно более высокое содержание углерода, водорода и ароматических фрагментов.

**Результаты.** Ранее было показано, что биологическая активность гуматов прямо пропорциональна степени ароматичности  $f_a$ , гидрофильно-гидрофобному параметру  $f_{hh}$  и отношению ароматических и алифатических фрагментов органической массы  $f_{ar/al}$  при концентрациях 0,01% - 0,005%. Для ФК, выделенных из этих же углей, индексы фитоактивности 1.10 – 1.39 получены при низшей концентрации (0.00025%).

В экстракционных смолах (См) идентифицированы биологически активные вещества растительного происхождения. Показано, что водные растворы ФК, См и их смеси показывают высокий индекс фитоактивности (ИФ) до 1,50. Наиболее выраженное стимулирующее влияние препаратов проявляется на длине корней и высоте проростков. Отмечен синергический эффект фитоактивности смесей ФК и См [2, 3].

**Заключение.** Установлено, что исследованные фракции характеризуются индивидуальным элементным и структурно-групповым составом. Это необходимо учитывать при практическом применении данных фракций буроугольного органического вещества.

#### **Литература.**

1. Olaetxea M., De Hita D., Garcia C. A., Fuentes M., Baigorri R., Mora V., Garnica M., Urrutia O., Erro J., Zamarreno A. M., Berbara R. L., Garcia-Mina J. M. Hypothetical framework integrating the main mechanisms involved in the promoting action of rhizospheric humic substances on plant root- and shoot-growth. *Applied Soil Ecology*. 2018; 123: 521-537.
2. Воронина Л.П., Якименко О.С., Терехова В. А. Оценка биологической активности промышленных гуминовых препаратов. *Агрехимия*. 2012; 6: 50-57.
3. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М.: Издательство стандартов, 1984. 30 с.

## ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В ОКСИЛЕННЫХ ФРАКЦИЯХ ТОРФА

Н.А. Жмакова\*, Н.Л. Макарова

Государственное научное учреждение «Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь  
e-mail: zhmakova@mail.ru

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, фульвокислоты, фенольные соединения

**Введение.** В настоящее время все более актуальным становится разработка и создание на основе природного сырья препаратов различной функциональной направленности, в том числе, бактерицидного, фунгицидного и противовирусного действия. Торф и продукты его химической деструкции могут рассматриваться как источники биологически активных веществ различных химических классов, в составе которых гуминовые вещества,

полисахариды разнообразного строения, в том числе полиурониды или пектиновые вещества, уроновые кислоты; природные фенольные соединения, включающие фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, альдегиды, кумарины, флавоны, органические кислоты и др., многие из которых проявляют выраженные биоцидные свойства. В связи с этим, на основе торфа могут быть получены экологически безопасные антимикробные препараты для растениеводства, животноводства, ветеринарии и медицины.

Научными исследованиями, проведенными в Институте природопользования НАН Беларуси, показана целесообразность применения продуктов окисления сфагнового торфа в качестве средств защиты сельскохозяйственных растений от патогенов. На их основе разработано средство защиты растений от грибных и бактериальных инфекций Сфагнин. Этот препарат не уступает химическим аналогам по эффективности в борьбе с корневыми и стеблевыми гнилями овощных культур, выращиваемых в закрытом грунте [1].

Установлено, что действующим началом Сфагнина являются окисленные гуминовые вещества и низкомолекулярные фенольные соединения, как содержащиеся в исходном торфе, так и образующиеся при деструкции его высокомолекулярных соединений в процессе окисления. В связи с тем, что торф является сложным природным продуктом и содержит в своем составе гуминовые кислоты, фульвокислоты, вещества углеводного строения, битумы, негидролизующий остаток, представляет интерес установление компонентов торфа, которые являются источником этих соединений.

**Цель.** Изучение вклада отдельных органических компонентов торфа в образование свободных фенольных соединений при его окислительной деструкции.

**Материалы и методы.** Из сфагнового торфа со степенью разложения 20-25 % были выделены фракции гуминовых кислот, фульвокислот, пектинов и негидролизующего остатка.

Гуминовые кислоты выделяли трехкратной обработкой торфа 0,1 М раствором едкого натра при гидромодуле 1:150, температуре 80–90 °С в течение 1 ч. Фильтраты соединяли, подкисляли соляной кислотой до pH 1–2. Осадок вымораживали в течение 2-х суток при температуре минус 2 °С, отделяли от фильтрата, промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе.

Фульвокислоты выделяли по методу Форсита из кислого фильтрата после осаждения гуминовых кислот, применяя адсорбцию органических компонентов на угле марки ОУ-А (щелочной) [2]. Уголь последовательно промывали 0,1 М соляной кислотой (для удаления аминокислот, пуриновых оснований и углеводов), смесью ацетона и воды в соотношении 10:1 (для очистки от углеводов и фенольных компонентов) и водой (для удаления полисахаридов, содержащих глюкозные и глюкуроновые остатки и пентозаны). Фульвокислоты элюировали с активированного угля 0,5 М раствором гидроксида натрия с ацетоном в соотношении 4:1. Раствор фульватов натрия нейтрализовали до pH 7 соляной кислотой, диализовали, концентрировали вымораживанием при температуре минус 2 °С и высушивали при 35–40 °С.

Для выделения пектинов из торфа использовали метод [3]. Высушенные и измельченные образцы торфа экстрагировали смесью спирт: бензол (1:2) в аппаратах Сокслета для удаления экстрактивных веществ, а затем проводили делигнификацию торфа окислением 10 %-ным раствором надуксусной кислоты в течение 10 мин при температуре 65 °С. Выход холоцеллюлозы составил 69,8 %. После этого полисахариды экстрагировали 18 %-ным раствором гидроксида натрия, осаждали 5-кратным объемом этилового спирта. Осадок полисахаридов промывали спиртом, а затем ацетоном и высушивали при комнатной температуре.

Негидролизующий остаток, представляющий собой так называемый «лигнин» торфа, имеющий полифенилпропановую структуру получали по методу [4]. Окисление выделенных фракций торфа проводили в лабораторных автоклавах из нержавеющей стали в щелочной среде в присутствии пероксида водорода и катализирующих добавок — солей металлов переменной валентности при повышенной температуре и избыточном давлении в технологических условиях получения препарата Сфагнин.

В оксидатах определяли содержание свободных фенольных соединений по методике, предусматривающей их экстракцию 70%-ным раствором этилового спирта с последующим спектрофотометрическим измерением интенсивности окрашивания цветных продуктов, образующихся при взаимодействии фенольных соединений с реактивом Фолина–Дениса [5].

**Результаты.** Выделенные фракции характеризовались высоким содержанием органических веществ и низкой зольностью. При этом наиболее высоким содержанием золы отличались пектины, способные удерживать минеральные составляющие за счет кислых функциональных групп (карбоксилы) (табл. 1).

Таблица 1. Выход и характеристика фракций торфа

Фракция торфа	Выход, % от органической массы торфа	Массовая доля, %		
		органических веществ	влаги	золы
Гуминовые кислоты	31,2	90,2	8,0	1,8
Фульвокислоты	9,1	89,7	7,1	3,2
Пектины	16,8	85,8	7,9	6,3
Негидролизуемый остаток	11,7	86,4	10,1	3,5

Выход гуминовых кислот составил 31,2 % от органической массы торфа, фульвокислот – 9,1 %, пектиновых соединений – 16,8 %, негидролизуемого остатка – 11,7 %.

Результаты определения содержания свободных фенольных соединений в оксидатах выделенных фракций торфа, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Содержание свободных фенольных соединений в оксидатах фракций торфа

Оксидат компонента торфа	Массовая доля фенольных соединений	
	в растворе, мг/мл	мг/г ОВ торфа
Гуминовые кислоты	6,7	67,2
Фульвокислоты	1,5	13,7
Пектины	3,1	37,7
Негидролизуемый остаток	3,1	39,8

Как видно из полученных данных, все исследуемые компоненты сфагнового торфа принимают участие в образовании свободных фенольных соединений при его окислении. Наибольший вклад в сумму фенольных соединений оксидата торфа вносят гуминовые кислоты, в то время как фульвокислоты менее других компонентов участвуют в образовании этих соединений.

Окисление негидролизуемого остатка сфагнового торфа также приводит к образованию значительных количеств фенольных соединений (39,8 мг/г ОВ торфа), что свидетельствует об его активном участии в формировании соединений этой группы в процессе окислительной деструкции.

Следует отметить также существенный вклад фракции кислых полисахаридов (пектинов) в образование свободных фенольных соединений в оксидатах. Это, свидетельствует о том, что эти соединения в сфагновом торфе находятся в виде фенолгликозидов.

**Заключение.** Таким образом, окисление сфагнового торфа в щелочной среде в присутствии катализирующих добавок приводит к обогащению оксидатов свободными фенольными соединениями, которые образуются в результате деструкции гуминовых кислот, негидролизуемого остатка, пектинов и фульвокислот.



### **Литература**

1. Наумова Г. В., Жмакова Н. А., Макарова Н. Л., Овчинникова Т. Ф., Прищепа И. А., Жердецкая Т. Н. Бицидная активность продуктов окисления сфагнового торфа. *Экологический вестник Северного Кавказа*. 2022; 1:90–96.
2. Орлов Д. С., Гришина Л. А., Ерошичева Н. Л. Практикум по биохимии гумуса. М.: Изд-во МГУ; 1969. 157 с.
3. Шарков В. И., Куйбина Н. И. Химия гемицеллюлоз. М.: Лесная промышленность; 1972. 440 с.
4. Лиштван И. И., Король Н. Т. Основные свойства торфа и методы их определения. *Наука и техника*. 1975; 86–95.
5. Beauchamp C. O., Fridovich I. Superoide dismutase: Improved assays and an assays applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 1971.44:276–287. DOI: 10.1016/0003-2697(71)90370-8.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ТОРФА В ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

А.В. Кравец

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа - филиал Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук, г. Томск, Россия  
e-mail: [kravets.alexa@mail.ru](mailto:kravets.alexa@mail.ru)

**Ключевые слова:** гумат кальция, яровой ячмень, яровая пшеница, урожайность, качество зерна.

**Введение.** Получением из разного сырья гуминовых веществ и их изучением занимается множество исследователей. Привлекают эти вещества своей относительной простотой получения, разнообразным применением, экологичностью и безопасностью. Торф как один из сырьевых источников получения гуминовых веществ симпатичен своей возобновляемостью и широким распространением на просторах нашей страны. Располагаются торфяные запасы в низинах и в горных районах. Разнообразие ботанического состава растений-торфообразователей привлекает своим богатством химических соединений. Кроме того, разнообразны способы выделения гуминовых веществ из сырья.

Изучением гуминовых веществ из торфов в Сибирском НИИ сельского хозяйства и торфа занимаются уже в течении почти сорока лет. Получены, исследованы и запатентованы несколько препаратов. Одним из таких препаратов стал гумат кальция. Введение в состав гуминового препарата кальция обусловлен его значением в жизни растений. Кальций нужен растению на разных этапах жизненного цикла. Особенно важно его присутствие на начальных этапах развития растения, в фазу прорастания, поскольку элемент необходим для корнеобразования. Недостаток кальция вызывает прекращение образования боковых корней и корневых волосков. Элемент принимает участие в поддержании структуры хромосом, рибосом и митохондрий [4].

**Цель.** оценить влияние гумата кальция из торфа при предпосевной обработке семян яровых ячменя и пшеницы в почвенно-климатических условиях Томской области.

**Материалы и методы.** Препарат гумат кальция получен из низинного торфа месторождения «Темное» Томского района Томской области на экспериментальной опытной установке в Сибирском НИИ сельского хозяйства и торфа (патент № 2514659) [6]. Закладка полевых опытов проведена на стационаре в п. Лучаново (Томский район) по методике Б.А. Доспехова в 3-кратной повторности [3] в 2011-2014г.г. Размещение вариантов систематическое, площадь делянок 40 м<sup>2</sup>, учетная 32 м<sup>2</sup>. Почва стационара – агросерая оподзоленная характеризовалась следующими показателями: рН вод. 4,87 ед., гумус 4,87%, гидролитическая кислотность 3,49 мг-экв/100г сухой почвы. Предпосевную обработку

семян осуществляли ручным опрыскивателем из расчета 10 л/т непосредственно перед севом. Препарат применяли на яровом ячмене *Hordeum sativum* L., сорт Ача и на яровой пшенице *Triticum aestivum* L., сорт Иргина по минеральному фону (Кемира N<sub>30</sub>P<sub>30</sub>K<sub>30</sub>). Концентрации препарата выбраны в предварительных лабораторных опытах при использовании методов ГОСТа 12038-84 [1] (для ячменя - 0,01 и 0,0001%, для пшеницы - 0,01 и 0,001% по гуминовым кислотам). Норма высева ярового ячменя составила 5 млн. всхожих семян, яровой пшеницы – 6,5 млн. всхожих семян на гектар посевов. Предшественник для пшеницы – яровая пшеница, для ячменя – бобово-суданковая смесь.

Эффективность применения препарата оценивали по определению полевой всхожести; биометрических показателей в разные фазы вегетации; содержанию фотосинтетических пигментов в листьях (спиртовая вытяжка); структуры и урожайности культур; содержанию сырого протеина в зерне ячменя, содержанию белка и клейковины в зерне пшеницы. Полученные семена нового урожая подвергали фитоанализу на предмет наличия возбудителей корневых гнилей методом влажных камер [2]. Полученные данные обрабатывали методом дисперсионного анализа с помощью пакета прикладных программ Snedekor [5].

Погода в годы проведения экспериментальных работ была разнообразна: ГТК варьировал от 0,87 (2012 г умеренно теплый влажный), 0,97 (2014 г умеренно прохладный засушливый), 1,33 (2013 г умеренно влажный умеренно прохладный) до 1,6 (2011г умеренно теплый влажный).

**Результаты.** Предварительные лабораторные опыты по выявлению стимулирующей активности гумата кальция показали, что при обработке семян ячменя лабораторная всхожесть увеличивается на 5-8%. При этом надземная масса превысила контроль на 15-22%, а показатели корневой массы на 14-16%.

Обработка семян пшеницы повышает лабораторную всхожесть семян пшеницы на 3%. При этом прирост надземной массы составил 4-19%, корневой массы – 25-73%. Максимальное стимулирующее действие оказал гумат кальция в концентрации 0,001%, увеличив сухую вегетативную массу на 19%, сухую корневую – на 73%.

Полевые исследования влияния предпосевной обработки семян гуматом кальция показали, что всхожесть ячменя либо остается на уровне контроля, либо имеет небольшую положительную тенденцию (+1,2%). Что касается пшеницы, то всхожесть семян при обработке гуматом кальция повышается от 2,0% до 4,4%.

Учет сухой массы листьев растений ячменя в разные фазы вегетации показал прирост массы листьев опытных вариантов на 15-18% по отношению к контролю. Также изменялась площадь листа на 8-9%. Рассчитанный показатель удельной поверхностной плотности листа возрос на 11-18%. Коэффициент кущения в фазу выметывания возрос с 1,6 в контроле до 1,9 в опытных вариантах.

Измерения площади листовой поверхности пшеницы по фазам вегетации показали, что обработка семян гуминовым препаратом увеличила листовую поверхность на 5 - 25% к контролю. Те же закономерности касаются и динамики нарастания вегетативной массы растений пшеницы. В фазу цветения сухая масса растений опытных вариантов превысила показатели контрольного варианта на 12-53%.

Определение пигментного комплекса в подфлаговом листе ячменя в фазу выметывания показало различия в содержании пигментов по вариантам опыта. Гуминовый препарат в концентрации 0,0001% увеличил содержание суммы хлорофиллов от 1,63 до 1,79 мг/г сухой массы. Количество каротиноидов также возросло с 0,36 в контроле до 0,41 мг/г сухой массы в опытном варианте. Увеличились размеры пигмент-белковолипидных комплексов (ПБЛК) фотосистем и светособирающего комплекса (ССК). Уровень ПБЛК возрос с 0,84 мг/г сухой массы в контроле до 0,90 мг/г сухой массы. Также выросли показатели ССК с 0,79 до 0,89 мг/г сухой массы.

Измерения пигментного комплекса во флаговом листе пшеницы в фазу цветения показали возрастание количества пигментов в опытных вариантах. Обработка гуматом кальция увеличила количество хлорофиллов а и b на 50%. Уровень ПБЛК возрос с 0,92 в

контроле до 1,03 мг/г сухой массы в опытном варианте. Также выросли показатели ССК с 0,84 до 0,91 мг/г сухой массы. Увеличение содержания зеленых пигментов косвенно свидетельствуют об увеличении накопления органического вещества в растении, биомассы и в конечном итоге увеличении продуктивности культур.

Определение элементов структуры урожая позволяет сказать, за счет чего увеличилась урожайность культуры, на какие органы произошло влияние препаратов. Несмотря на то, что не произошло увеличения длины ячменного колоса, незначительно возросло количество зерен в колосе, увеличилась масса зерна с растения: в контрольном варианте 1,95 г, в опытных вариантах – 2,0-2,3 г. Увеличился коэффициент продуктивной кустистости с 1,5 в контроле до 1,8 в опытных вариантах.

Анализ структуры урожая пшеницы показал, что увеличение урожайности зерна произошло из-за увеличения длины колоса, количества колосков в колосе и озернённости колоса. Длина колоса увеличилась с 5,86 см (в контроле) до 6,16 - 6,26 см в опытных вариантах. Количество колосков в колосе в контрольном варианте составило 8,94 шт., в вариантах с гуматом кальция 9,60 - 9,69 шт. Количество зерен в колосе в контрольном варианте было 13,18 шт., в опытных вариантах – 16,64 - 16,65 шт.

Урожайность ярового ячменя увеличилась с 39,5 ц/га в контрольном варианте до 42,1 - 43,4 ц/га при обработке гуматом калия. Масса 1000 зерен также увеличилась с 47,14 г до 47,38 г. Урожайность пшеницы в вариантах с предпосевной обработкой семян гуматом кальция возросла с 15,89 ц/га в контроле до 18,46 – 18,94 ц/га (+16 - 19%). Масса 1000 зерен возросла с 33,85 г в контроле до 34,01 – 35,14 г.

При определении содержания сырого протеина в зерне ячменя нового урожая выяснилось, что в контрольном варианте содержится 10,8%, а в опытных вариантах 11,3-11,6%. При расчетах по сбору белка с посевной площади оказалось, что оба варианта с применением гуминового препарата превысили сбор белка в контроле: 343,4 - 343,7 кг/га белка, тогда как без обработки - только 317,6 кг/га.

Содержание белка в зерне пшеницы нового урожая увеличилось с 15,3% до 16,3%, а содержание клейковины увеличилось с 29,5% до 31,8%. При расчетах сбора белка с посевной площади оказалось, что оба варианта с применением гуминового препарата превысили сбор белка в контроле. Обработанные гуматом кальция варианты позволили собрать 294-298 кг/га белка, тогда как без обработки - только 255 кг/га.

Обследование семян нового урожая на наличие возбудителей корневыми гнилями показало, что суммарная зараженность семян ячменя статистически значимо снизилась в вариантах с обработкой гуматом кальция: с 70% в контроле до 50-53% в опытных вариантах. При этом максимально снизилось количество возбудителей гельминтоспориоза: с 65% в контроле до 32-40% в опытных вариантах.

При фитоанализе семян пшеницы нового урожая суммарная зараженность корневыми гнилями в контроле составила 48%, тогда как в опытных вариантах статистически значимо уменьшилась до 26-41%. При этом максимально снизилось количество возбудителей фузариоза (с 5% до 1% в опытных вариантах) и альтернариоза: с 26% в контроле до 14-22% в вариантах с обработкой гуматом кальция.

**Заключение.** Проведенные исследования по влиянию предпосевной обработки семян яровых ячменя и пшеницы гуматом кальция, полученным из торфа в почвенно-климатических условиях Томской области показали перспективность данного агротехнического приема. Вместе с повышением полевой всхожести увеличились биометрические показатели растений, содержание фотосинтетических пигментов, урожайность и качество зерна, снизилась зараженность зерна нового урожая возбудителями корневых гнилей.

#### **Литература.**

1. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М.: Изд-во стандартов, 1985. 60 с.
2. ГОСТ 12044-93 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. М.: Стандартинформ, 2011. 57 с.

3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М: Колос, 1968. 336 с.
4. Малиновский В. И. Физиология растений. Учебное пособие. – Владивосток: Изд-во ДВГУ, 2004. 106 с.
5. Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере. Новосибирск: изд-во СО РАСХН, 2004. 162 с.
6. Патент № 2514659 Стимулятор роста растений, обогащенный кальцием, способ его получения и способ обработки семян. МПК А01N 65/00, А01N 59/08, заявка 2012134999/10, приор. 15.08.2012 / Касимова Л.В., Кравец А.В., Николаева Д.Л. Оpubл.20.02.2014. Бюл. № 12.

## ОЦЕНКА МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ГРЕЧНЕВОЙ КРУПЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕГИОНА ПРОИЗРАСТАНИЯ

Н.А. Белоконова, Н.А. Наронова\*, И.Г. Касаткина  
ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет,  
г. Екатеринбург, Россия  
e-mail: edinstvennaya@inbox.ru

**Ключевые слова:** гуминовые вещества, комплексные соединения, ионы металлов

**Введение.** Одна из самых популярных круп в России – гречневая – считается продуктом повышенной пищевой ценности. Она широко используется для питания различных групп населения [1]. Гречневая крупа подходит для питания детей раннего возраста, активно используется в лечебном питании. Хорошо сочетается гречка с продуктами животного происхождения – такими как мясо, молоко, творог, что позволяет составлять полноценные по нутриентному составу комбинации продуктов. Минеральные вещества, которые содержатся в гречневой крупе, являются важнейшими факторами питания, поэтому их поступление в организм с продуктами пищевого рациона должно обеспечиваться в необходимом количестве. Основу минерального состава пищевого рациона человека составляют такие макро- и микроэлементы, как кальций, магний, фосфор и железо [2]. Согласно содержанию справочника «Химический состав пищевых продуктов»: кальций – 20 мг, магний – 200 мг, железо – 6,7 мг, фосфор – 298 мг [3,4]. Суточная потребность взрослого человека составляет: кальций – 1250 мг, магний – 400 мг, железо – 15 мг, фосфор – 800 мг. Несмотря на важность всех перечисленных минеральных веществ, особое внимание необходимо обратить на содержание магния.

В России, по данным эпидемиологических исследований, около 30% жителей получают в день менее 70% суточной дозы магния, при этом дефицит магния отмечается значительно чаще у женщин, чем у мужчин [5,6]. Исходя из гигиенических нормативов, рекомендованное суточное потребление магния составляет 420 мг для мужчин и 320 мг для женщин, а диета DASH (Dietary Approach to Stop Hypertension) рекомендует большее его количество – 500 мг [7,8]. На сегодняшний день, в направлении решения обозначенных проблем особую роль приобретает естественная коррекция и по содержанию магния гречневая крупа занимает одно из первых мест.

В разных регионах нашей страны химический состав почвы значительно различается, поскольку содержит природные гумусовые вещества (ГВ). ГВ влияют на растение как прямо, так и косвенно. Косвенный эффект связан с улучшением водно–физических свойств почвы, активизацией микрофлоры, влиянием на миграцию питательных веществ, связыванием токсичных агентов – пестицидов и тяжелых металлов. Гумусовые вещества оказывают прямое всестороннее действие на процессы роста растений, оно носит сложный многоступенчатый характер и охватывает весь период вегетации. Каждая функциональная группа молекулы гуминовой кислоты выполняет свою роль, а таких групп очень много, поэтому действие гуматов на воду, почву и все стадии роста растений многогранно [9]. Безусловно, разный состав почвы будет влиять и на минеральный состав продуктов растительного происхождения, поскольку ГВ являются веществами органической природы,

содержащие в своем составе гуминовые и фульвовые кислоты, которые могут связывать металлы, такие как  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ . Однако необходимо помнить, что и другие макро- и микроэлементы могут вступать во взаимодействие с органической матрицей, а, следовательно, будет меняться состав и биодоступность данных элементов.

**Цель.** Определить влияние места произрастания зерна на содержание отдельных минеральных веществ (кальция, магния, железа, фосфора) в гречневой крупе.

**Материалы и методы.** Объекты исследования – образцы гречневой крупы различных производителей (регион произрастания): образец 1 – Гречневая крупа (Ядрица, Алтайский край, с. Шипуново), образец 2 – Гречневая крупа (Ядрица, Московская обл., г. Лыткарино), образец 3 – Гречневая крупа (Ядрица, Воронежская область, г. Бобров), образец 4 – Гречневая крупа (Ядрица, Челябинская обл., п. Рошино), образец 5 – Гречневая крупа (Ядрица, Краснодарский край, х. Протичка), образец 6 – Гречневая крупа (Хлопья, Орловская обл., Мценский район, п. Воля), образец 7 – Гречневая крупа (Хлопья, Челябинская обл., п. Увельский), образец 8 – Гречневая крупа (Крупа быстрорастворивающаяся, Орловская обл., Мценский район, п. Воля), образец 9 – Гречневая крупа (Ядрица, Новосибирская обл., Черепановский р-н, ст. Безменово), образец 10 – Гречневая крупа (Крупа зеленая, Владимирская обл., г. Владимир).

Навеска пробы гречневой крупы массой 2 г измельчалась и прокаливалась в высокотемпературной печи в течение 2 часов при температуре 850° С. Прокаленные пробы растворяли в концентрированной соляной кислоте, затем переводили в водный раствор путем доведения до 100 мл дистиллированной водой. Определение минеральных компонентов осуществлялось по известным методикам: кальций и магний – титриметрическим методом, железо и фосфор – спектрофотометрическим методом.

**Результаты.** Содержание кальция изменяется в пределах 20 – 80 мг, а содержание магния в пределах 117 – 279 мг. Минимальное содержание кальция и магния на 100 г продукта в образце 4, максимальное в образце 5 по кальцию (в 4 раза больше) и в образце 10 по магнию (в 1,21 раза больше). Содержание кальция во всех образцах больше справочных данных, при этом содержание магния, железа, фосфора в 90% образцов меньше справочных данных. Стоит отметить образец 10 с повышенным содержанием магния и фосфора, а также образец 6 с повышенным содержанием железа (в 1,57 раз больше). Содержание железа изменяется в пределах 1,6 – 10,5 мг, а фосфора в пределах 163 – 343 мг. Экспериментальные данные представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Содержание основных макро- и микроэлементов в исследуемых образцах

Проба	Ca (мг) в 100 г	Mg (мг) в 100 г	Fe (мг) в 100 г	P (мг) в 100 г
Образец 1	50	147	3,2	163
Образец 2	30	150	2,7	172
Образец 3	35	204	3,4	183
Образец 4	20	117	1,6	249
Образец 5	80	147	2,5	271
Образец 6	40	204	10,5	273
Образец 7	30	180	2,4	275
Образец 8	70	228	4,8	285
Образец 9	35	225	2,4	286
Образец 10	75	279	3,4	343
Справочные данные	20	231	6,7	298

Анализ суточной потребности человека в микро- и макроэлементах и сопоставление с полученными данными на примере образца № 10, показывает, что при употреблении 100 г гречневой крупы суточная потребность в магнии удовлетворяется примерно на 70%, в фосфоре – на 43%, в железе на 23% и в кальции – всего на 6%. Однако, следует брать во

внимание биодоступность данных элементов, так как их фактическое поступление в организм может существенно отличаться от представленных данных.

#### **Выводы.**

1. Наиболее полноценной по минеральному составу является гречневая крупа, произрастающая в Орловской, Воронежской и Владимирской областях. Крупа, выращенная в Новосибирской области, является полноценной по содержанию фосфора и магния.

2. Содержание железа и фосфора в 90% образцов меньше справочных данных. Наименее полноценной по содержанию минеральных веществ является крупа, выращенная в Челябинской области.

3. Регион произрастания влияет на состав гречневой крупы, а, следовательно, необходимо исследовать процессы взаимодействия природных гумусовых веществ с макро- и микроэлементами.

#### **Литература.**

1. Зенькова А. Н., Панкратьева И. А., Политуха О. В. Гречневая крупа–продукт повышенной пищевой ценности. *Хлебопродукты*. 2013; 1: 42-44.

2. Королев А. А. Гигиена питания: учеб, для студ. высш. учеб, заведений. М.: Издательский центр «Академия». 2006. 528 с.

3. Покровский А. А. Химический состав пищевых продуктов. Справочник / Под ред. А.А. Покровского – Изд-во "Пищевая промышленность", 1976 г.

4. Скурихин И.М. Химический состав российских пищевых продуктов: Справочник / Под ред. член-корр. МАИ, проф. И. М. Скурихина и академика РАМН, проф. В. А. Тутельяна. - Х46 М.: ДеЛи принт, 2002. - 236 с

5. Рацион питания населения. 2013: Статистический сборник/Росстат-М.: ИИЦ «Статистика России», 2016. 220 с.

6. Громова О.А. Магний и пиридоксин: основы знаний. Новые технологии диагностики и коррекции дефицита магния. Обучающие программы Юнеско. М.: РСЦ Институт микроэлементов, 2006. 3–176.

7. Shechter M. Magnesium and cardiovascular system. *Magnes. Res.* 2010; 23: 1-13.

8. Eilat- Adar S., Sinai T., Yosefy Y., Henkin Y. Nutritional Recommendations for Cardiovascular Disease Prevention. *Nutrients*. 2013; 5: 3646- 3683.

9. Бондаренко А.М., Качанова Л.С., Челбин С.М., Головкин А.Н. Исследование процесса производства гуминовых органоминеральных удобрений в системе экономической безопасности страны. Дальневосточный аграрный вестник. 2022. Вып. 1 (61). 95–103. doi: 10.24412/1999-6837-2022-1-95-103.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГУМАТО-МИКРОБНЫХ БИОКОМПОЗИЦИИ С ДОБАВЛЕНИЕМ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ ВЕРТИКАЛЬНОГО ВЫРАЩИВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И ЭФИРОМАСЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ГИДРОСВЕТОКУЛЬТУРЫ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТА

Я.В. Пухальский<sup>1\*</sup>, С.И. Лоскутов<sup>1</sup>, А.С. Митюков<sup>2</sup>, Г.В. Никитичева<sup>1</sup>, Н.И. Воробьев<sup>3</sup>,  
Ю.В. Косульников<sup>3</sup>, А.И. Якубовская<sup>4</sup>, И.А. Каменева<sup>4</sup>, А.П. Кожемяков<sup>3</sup>,  
Ю.В. Лактионов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГАОУ ВО ЛО «Ленинградский государственный университет имени А.С.Пушкина»,  
г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Россия

<sup>2</sup>Институт озераведения Российской академии наук – обособленное структурное  
подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Санкт-  
Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук»  
(ИНОЗ РАН - СПб ФИЦ РАН), г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>ФГБНУ «Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии»,  
г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Россия,

<sup>4</sup>ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Республика  
Крым, г. Симферополь, Россия

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, микроорганизмы, микроэлементы, гидросветокультура

**Введение.** В соответствии с Указом Президента РФ о стратегии лекарственного обеспечения населения до 2025 года, в настоящее время ведется активная работа по селекции новых растительных линий, предназначенных исключительно для медицинского использования. Отличительной особенностью возделывания культур в рамках данных фармакогностических исследований, является минимальное применение минеральных удобрений, гербицидов и прочих химических средств защиты растений, за счет использования органических биостимуляторов роста и биопрепаратов на основе консорциума полезных микроорганизмов. Полученное таким образом лекарственное растительное сырье (ЛРС) будет являться экологически чистым, без остаточных примесей в виде пестицидов и тяжелых металлов. При этом, важное значение здесь также имеет понимание особенностей накопления в зеленой биомассе эссенциальных микроэлементов. Доказано, что многие болезни людей, считавшиеся ранее неизлечимыми, теперь можно лечить, уравнивая баланс этих биоэлементов в живом организме. Из недооцененных можно выделить кремний, который участвует в процессе ремоделирования костной ткани и профилактике развития остеопороза [1-2]. Кроме того, в процессе питания растений он способствует повышению адаптационных возможностей культур к воздействию различных абиотических стрессов [3].

В рамках экологического земледелия, на специально отведенных для этих целей плантациях лекарственных и эфиромасличных растений, для частичной или полной замены применения синтетических веществ сейчас активно используют органические удобрения на основе гумусовых кислот. Из числа последних, чаще всего используют гуминовые (ГК) и фульвокислоты (ФК), как наиболее распространенные биологически активные компоненты среди природных экосистем. Действуя как специфические сенсibiliзирующие агенты, они снижают кислотность среды, и, способствуя увеличению проницаемости плазматических мембран, улучшают хелатирование и мобилизацию биофильных катионов из почвы. А благодаря, наличию в их составе низкомолекулярных соединений, обеспечивается пролонгированный эффект питания растений. Также данные соединения могут выступать в качестве питательной подложной для роста и стабилизации титра эндосимбиотических арбускулярных грибов и ассоциативных ризобактерий, которые обладают комплексом положительных эффектов на развитие растений и хорошо приживаются на их корневой системе [4-5]. В результате образуется сложная гумато-микробная биокомпозиция, экокхимические связи вторичных метаболитов, в которой выступают в качестве информационно-коммуникативных сигналов при создании устойчивой растительно-микробной симбиосистемы. В рамках успешной интеграции данной технологии в глобальный производственный цикл получения ЛРС необходимо оптимизировать систему круглогодичного выращивания лекарственных эфирносов к условиям защищенного грунта. Помимо полного отказа от лимитирующего фактора влияния почв, здесь можно искусственно моделировать внутренний климат и режим инсоляции помещения для проведения цифрового фенотипирования растений и подбора оптимальных условий эффективного развития симбиосистемы в динамике вегетации. Растения здесь часто выращивают в условиях вертикального земледелия на многоярусных фитоустановках при различных разновидностях гидропонной среды (био-, хемо-, ионо-, аэро-, агрегатопоника).

Цифровые датчики, установленные на данных фитофермах позволяют вести круглосуточный мониторинг и улавливать малейшие изменения в системе, что позволяет оператору тонко настраивать ее под любые свои конечные нужды. Профессия оператора-ситифермы еще слабо распространена в России, хотя по сведениям агентства стратегических инициатив сити-фермерство уже вошло в список атласа профессий будущего, который в 2017 году составила Московская школа управления «Сколково».

Поэтому, по заверениям агентства ТАСС в России данная специальность должна появиться в стране к 2030 году.

**Цель работы.** Оценка методологии обогащения нейтральной питательной среды на основе ГК кремнесодержащими удобрениями и микробными симбионтами для стимуляции роста лекарственных эфирносов. Настоящая работа проводится в рамках региональной программы научных исследований по акклиматизации выращивания лекарственных декоративных культур в органическом вертикальном земледелии с использованием микробиологических биопрепаратов.

**Материалы и методы.** В качестве модельного объекта для исследований были взяты растения из рода Бархатцы (*Tagetes*), экстракты эфирных масел, полученные из цветков которых уже давно используются в народной медицине для лечения воспалительных процессов, сердечно-сосудистых и почечных заболеваний, а также диабета [6-9].

Растения выращивали на пятирусной фитоферме с системой проточной гидропонике и энерго-спектральной регуляции освещения (Рис. 1).



Рисунок 1. Автоматизированная многоярусная фитоферма для проведения научных опытов с лекарственными эфирносами в условиях гидросветокультуры защищенного грунта

Было проведено два независимых опыта с полным периодом вегетации бархатцев от семян до цветков (45 суток). В первом опыте оценивали влияние возрастающих концентраций диоксида кремния (50, 100, 200, 300 ppm), используемого при обработке и посадке семян в субстрат. Во втором опыте, в субстрат под каждое растение отдельно вносили 1,0 г почвенно-корневой смеси из накопительной культуры арбускулярного гриба *Rhizophagus irregularis*. Семена выращивали в пластиковых кассетах, заполненных субстратом, влажность которого поддерживалась на уровне 60% путем систематического подтопления. В качестве нейтрального субстрата в обоих опытах служило кокосовое волокно, в которое вносили суспензию ГК (500 ppm), экстрагированных из сухого порошка сапропеля, полученного из озер Псковской области (д. Ермолино), в соответствии с методиками количественного анализа [10]. Контролем везде служил вариант с прикорневым поливом саженцев чистой водой, без обогащения субстрата ГК, *R. irregularis* или кремнием. Фотопериод составил 16 часов. На каждый вариант приходилась выборка из 162 растений. Параллельно проводились эксперименты в лабораторных условиях с культивированием (посевом) различных видов ризобактерий на агаризированной питательной среде (чашечный метод) с широким диапазоном добавок ГК, для установления рабочих доз.

**Результаты.** Высокий результат при анализе морфометрических характеристик показал вариант с посадкой обработанных кремнием семян в обогащения ГК субстрат в дозе 300 ppm. Увеличение сухого веса побегов с соцветиями по сравнению с контролем



составило 71%. В варианте с той же концентрацией микроэлемента без внесения ГК прибавка составила порядка 30%. Во втором опыте внесение ГК также показало положительный эффект действия. Увеличение веса при этом не наблюдалось, однако существенно возростала высота полученных культиваров. В сравнении с контрольными образцами (8,6 см) совместная обработка семян растений ГК и *R. irregularis* увеличила высоту побегов на 27% (10,9 см). Значимая роль тут отводилась микоризе, где прибавка к высоте составила 20% (10,3 см).

Выявлено увеличение титра почвенных ризобактерий из родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Aminobacter* и *Pseudomonas* при выращивании на среде, с использованием ГК в качестве единственного источника углерода. Диапазон положительно действующих концентраций ГК варьировал в значениях от 10 до 1000 ppm. Грамположительные бактерии сорбировали ГК в больших количествах, чем грамотрицательные. Бактериальный консорциум при этом использовал ГК в 4 раза более интенсивнее, чем чистые культуры, а в условиях кометаболизма в 10 раз.

**Заключение.** На примере бархатцев показано, что использование ГК вносит существенный вклад в стимуляцию роста лекарственных растений и стабилизацию титра микроорганизмов для их последующей инокуляции. В дальнейшем можно проводить оценку совместного действия гумато-бактериальной композиции для создания многокомпонентной симбиосистемы с добавлением отработанной дозы Si, а также поиска среды других биогенных микроэлементов.

#### **Литература.**

1. Rondanelli M., Faliva M. A., Peroni G., Gasparri C., Perna S., Riva A., Petrangolini G., Tartara A. Silicon: A neglected micronutrient essential for bone health. *Experimental Biology and Medicine*. 2021;246(13):1500–1511. doi:10.1177/1535370221997072
2. Скрипникова И. А., Гурьев А. В. Микроэлементы в профилактике остеопороза: фокус на кремний. *Остеопороз и остеопатии*. 2014; 2:36–40.
3. Безручко Е. В. Кремний - недооцененный элемент питания растений. *Земледелие*. 2020;4:40–46.
4. Лактионов Ю. В., Попова Т. А., Андреев О. А., Ибатуллина Р. П., Кожемяков А. П. Создание стабильной формы ростстимулирующих микробиологических препаратов и их эффективность. *Сельскохозяйственная биология*. 2011;46(3):116–118.
5. Gryndler M, Hrselová H, Sudová R, Gryndlerová H, Rezacová V, Merhautová V. Hyphal growth and mycorrhiza formation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum* BEG 23 is stimulated by humic substances. *Mycorrhiza*. 2005;15(7):483–488. doi: 10.1007/s00572-005-0352-7.
6. Salehi B, Valussi M, Morais-Braga MFB, Carneiro JNP, Leal ALAB, Coutinho HDM, Vitalini S, Kręgiel D, Antolak H, Sharifi-Rad M, Silva NCC, Yousaf Z, Martorell M, Iriti M, Carradori S, Sharifi-Rad J. *Tagetes* spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. *Molecules*. 2018;23(11):2847. doi:10.3390/molecules23112847
7. Riaz M., Ahmad R., Rahman N. U., Khan Z., Dou D., Sechel G., Manea R. Traditional uses, Phyto-chemistry and pharmacological activities of *Tagetes Patula* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;255:112718. doi:10.1016/j.jep.2020.112718
8. Chkhikvishvili I, Sanikidze T, Gogia N, Ehlukidze M, Machavariani M, Kipiani N, Vinokur Y, Rodov V. Constituents of French Marigold (*Tagetes patula* L.) Flowers Protect Jurkat T-Cells against Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016:4216285. doi: 10.1155/2016/4216285.
9. Mudumbi J. B. N, Daso A. P., Okonkwo O. J., Ntwampe S. K. O., Matsha T. E., Mekuto L., Itoba-Tombo E. F., Adetunji A. T., Sibali L. L. Propensity of *Tagetes erecta* L., a Medicinal Plant Commonly Used in Diabetes Management, to Accumulate Perfluoroalkyl Substances. *Toxics*. 2019;7(1):18. doi:10.3390/toxics7010018
10. Пансю М., Готеру Ж. Анализ почвы. Справочник. Минералогические, органические и неорганические методы анализа. СПб.: Профессия; 2014. 800 с.

Научное издание

**II Международная  
научно-практическая конференция  
РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ –  
ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**  
(г. Томск, 04-06 октября 2023 г.)

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ**

**Под реакцией**  
д-ра фарм. наук М.В. Белоусова

Издательство СибГМУ  
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107  
тел. 8(3822) 51-41-53  
E-mail: [otd.redaktor@ssmu.ru](mailto:otd.redaktor@ssmu.ru)

---

Подписано в печать 10.09.2023 г.  
Электронное издание  
Гарнитура «Times». Усл. печ. л. 26,37 Усл. изд. л. 21,3

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС  
ДЛЯ ПОДДЕРЖКИ ОРГАНИЗМА

# LIFE FORCE



Сорбция и  
вывод токсинов  
из ЖКТ



Поддержание  
здоровой  
микрофлоры



Нормализация  
обменных  
процессов



Кишечный  
иммунитет



Бережный  
детокс



Улучшение  
пищеварения

ООО «Лайф Форс Групп»,  
+7 499 112 45 46, [Mylifeforce.ru](http://Mylifeforce.ru)

**Компания СовЛаб предлагает стеклянные реакторы с рубашкой, которые предназначены для проведения синтезов в лабораторных условиях, от 5 до 200 литров.**

Реактор позволяет осуществлять синтез, экстракцию, нагревание и перемешивание, кристаллизацию и прочие процедуры с максимальной эффективностью и возможностью визуального контроля.

**Преимущества:**

- мобильность реакторной установки
- оптимальная комплектация
- простая в эксплуатации конструкция
- доступная цена

Диапазон рабочих температур: от -120 до 300С

В комплект входит обратный холодильник с приемной колбой, вакуумметр, блок управления, двигатель перемешивающего устройства, фторопластовый вал со стальным сердечником, передвижная опорная рама, комплекты фланцев и переходников, датчик температуры.

Реакторы могут комплектоваться чиллерами (термостатами) для поддержания заданной температуры.



**E-mail: [sov\\_lab@mail.ru](mailto:sov_lab@mail.ru),**

**[info@sov-lab.ru](mailto:info@sov-lab.ru)**

**Телефон: +7 (495) 045-58-29 (офис)**

# NOVA-2



## СИСТЕМА МИКРОВОЛНОВОГО СИНТЕЗА

**Микроволновая система Nova-2** - мономодовая система, предназначена для проведения реакций микроволнового синтеза как при повышенном, так и при атмосферном давлении. Система Nova-2 может использоваться как в одиночном исполнении с ручной подачей сосудов, так и в системе с автосемплером, с автоматической подачей. Синтез может проходить в герметичных запаянных ампулах под давлением и в открытых кварцевых сосудах. В открытых сосудах возможно проведение автоматизированной процедуры микроволновой экстракции любых образцов. Система ускоренного нагрева. Система магнитного перемешивания 0-1500 об/мин. Опциональная система автосемплера рассчитана на 4 планшета по 24 (10 мл) или 16 (30 мл и 55 мл) контейнеров.



### Технические характеристики

Характеристика	Значение
Электропитание	220 В, 50 Гц
Микроволновый нагрев	0 - 500 Вт
Измерение температуры	0- 350 °С
Контроль давления	0 - 4 МПа
Используемые контейнеры - синтез под давлением (до 30атм, 240°С) - синтез при атмосферном давлении	10 мл и 30 мл 55 мл
Количество контейнеров - 10 мл - 30 мл и 55 мл	96 64
Измерение температуры	ИК-датчик

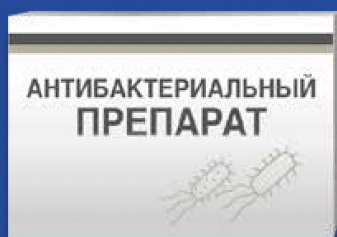
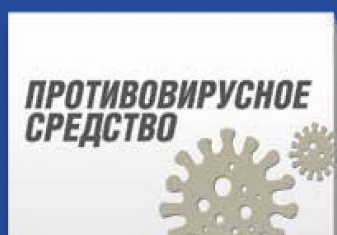
### Область применения

- микроволновый синтез органических субстанций
- микроволновый синтез наноструктурированных материалов
- автоматизированная пробоподготовка пищевых продуктов при проведении элементного анализа
- синтез фармацевтических препаратов - получение новых конструкционных материалов.
- испытания различных материалов, в том числе нефти, на воздействие СВЧ излучения.

# Против вирусов, против бактерий. НЕ ДАЙТЕ ИНФЕКЦИИ ЗАТЯНУТЬСЯ!

**x2** ДЕЙСТВИЯ:

**ПРОТИВОВИРУСНОЕ  
И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ**



РУ ЛП-№(002207)-(РГ-РУ)



Рафамин® - победитель премии Russian Pharma Awards® 2022 в номинации "Инновационный препарат для лечения инфекций дыхательных путей".



Снижает риск развития осложнений (в том числе требующих назначения антибиотиков)<sup>1,2</sup>



Способствует сокращению продолжительности заболевания в среднем до 4-х дней<sup>1</sup>



Можно назначить на любом этапе ОРВИ, независимо от времени обращения пациента<sup>3</sup>

1. Хамитов Р.Ф. Терапевтический архив. 2022; 94 (1): 83–93.

2. Инструкция по медицинскому применению, листок-вкладыш.

3. Яковлев С.В. Consilium Medicum. 2023;25(3):157-162.

Реклама

ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ», 127473, Москва, 3-й Самотечный переулок, д. 9, тел.: (495) 684-43-33

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

- ✓ **многолетний опыт в производстве субстанций и готовых лекарственных препаратов**
- ✓ **современные технологии, надежность и качество**



**АО "ОРГАНИКА"** - одно из ведущих химико-фармацевтических предприятий Сибири и Дальнего Востока в сфере производства лекарственных средств (в том числе содержащих сильнодействующие вещества) для медицинского применения и (или) лекарственных препаратов для клинических исследований (испытаний): таблеток, капсул, растворов и субстанций.

Лекарственные средства на **АО "ОРГАНИКА"** производятся согласно международным стандартам GMP

Преимущество **АО "ОРГАНИКА"** - наличие химического комплекса по наработке субстанций и производственных мощностей для производства готовых лекарственных форм



 [www.organica-nk.ru](http://www.organica-nk.ru)

 [e-mail: hr@organica.su](mailto:hr@organica.su)

**654034, Россия, Кемеровская область - Кузбасс,  
г.о. Новокузнецкий, г. Новокузнецк, шоссе Кузнецкое, 3.  
Отдел кадров 8 (3843) 994-204  
Приемная 8 (3843) 994 - 222**

**GENESIS**

materia  medica



**sib·balance**  
philosophy of health

**СОВЕ**  **ЛАБ**  
КОМПЛЕКСНОЕ ОСНАЩЕНИЕ



**ВИСТЕРРА**



**Life Force**



**ОРГАНИКА**  
*Вместе к исцелению!*



**DDTP-2023**

II МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
"РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ - ТРАДИЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ"