

*На правах рукописи*

**Терехов Роман Петрович**

**ВЛИЯНИЕ ФАЗОВОГО СОСТОЯНИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ,  
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ  
ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Москва – 2021

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)

**Научный руководитель:**

доктор фармацевтических наук,  
профессор

**Селиванова Ирина Анатольевна**

**Официальные оппоненты:**

**Куркин Владимир Александрович** – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, заведующий кафедрой.

**Лякина Марина Николаевна** – доктор фармацевтических наук, Институт фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет»

Защита состоится «20» мая 2021 г. в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.01 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр.2

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119034, г. Москва, ул. Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации: <http://sechenov.ru/>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета ДСУ 208.002.01  
доктор фармацевтических наук,  
профессор

**Демина Наталья Борисовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В XIV издание Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ XIV) впервые включена ОФС.1.1.0017.15 «Полиморфизм», в которой прописана обязательная оценка полиморфизма фармацевтических субстанций в тех случаях, когда он влияет на их терапевтическую эффективность и безопасность. В статье предусматривается контроль фазового состояния действующего вещества при разработке лекарственного препарата и регламентируются методы исследования полиморфных модификаций.

Дигидрокверцетин (ДКВ) – флаванол, производимый в промышленных масштабах в качестве фармацевтической субстанции из древесины Лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и Лиственницы даурской (*Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr., синоним *Larix dahurica* Turcz.). Несмотря на ограниченную биодоступность, это соединение обладает потенциалом в качестве основы для новых фитопрепаратов благодаря выраженным антиоксидантным свойствам и аффинности к различным биологическим мишеням.

Таким образом, актуальность обусловлена возможностью улучшения характеристик ДКВ путем оптимизации его фазового состояния.

**Степень разработанности темы исследования.** Комплексное изучение ДКВ было проведено в ИриХ СО РАН под руководством Н.А. Тюкавкиной. В результате совместных исследований сотрудников Сеченовского университета (Н.А. Тюкавкина, Ю.А. Колесник, И.А. Селиванова), ВИЛАР (В.А. Быков, В.К. Колхир, Т.А. Сокольская), РНИМУ имени Н.И. Пирогова (Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова) на базе ДКВ был создан препарат «Диквертин» антиоксидантного действия. В настоящее время изучается возможность использования ДКВ в качестве субстанции для разработки комбинированных лекарственных препаратов (М.Б. Плотников, В.Л. Белобородов, И.Р. Ильясов). Несмотря на общемировую тенденцию по оптимизации свойств флавоноидов путем изменения строения твердой фазы, отраженную в работах M.J. Zaworotko, M. Sowa и D. Setyawan, вопрос влияния фазового состояния на свойства ДКВ ранее не рассматривался.

**Цель исследования** – разработать способы получения фазовых модификаций ДКВ с улучшенными биофармацевтическими характеристиками,

изучить природу твердой фазы и провести сопоставительный анализ их свойств.

**Задачи исследования:**

1. Проанализировать современные тенденции в области модификации свойств флавоноидов посредством изменения их фазового состояния.
2. Сформулировать принципы, позволяющие направленно синтезировать фазовые модификации ДКВ.
3. Получить модификации ДКВ путем изменения его фазового состояния.
4. Разработать системный подход к исследованию фазовых модификаций ДКВ, охарактеризовать их с позиции полиморфизма, разработать и валидировать методики анализа.
5. Изучить биофармацевтические характеристики фазовых модификаций на модели *ex vivo*.
6. Сравнить профили высвобождения действующего вещества и прочностные характеристики таблеток на основе различных фазовых модификаций дигидрохверцетина.
7. Оценить взаимосвязь между фазовым состоянием ДКВ и его ранозаживляющими свойствами на модели ожога IIIA степени в эксперименте *in vivo*.

**Научная новизна.** В результате проведенных исследований автором впервые:

- использованы методы молекулярного моделирования *in silico* для поиска и предсказания свойств фазовых модификаций дигидрохверцетина;
- синтезированы фазовые модификации ДКВ с повышенной растворимостью в воде при комнатной температуре: микротрубчатая (ДКВ<sub>т</sub>), микросфероидная (ДКВ<sub>с</sub>) и микроволокнистая (ДКВ<sub>в</sub>);
- расшифрована структура кристаллической ячейки ДКВ<sub>т</sub>, которая депонирована в международной базе кристаллографических данных Cambridge Structural Database (Deposition Number: 1892198);
- описана микроскопическая морфология фазовых модификаций ДКВ;
- установлена псевдополиморфная природа двух фазовых модификаций ДКВ;

– применены принципы фрактальной геометрии для разработки неразрушающей аналитической методики контроля качества лиофилизатов;

– продемонстрирована корреляция между биофармацевтическими и фармакологическими свойствами фазовых модификаций ДКВ.

Научная новизна исследования подтверждена патентом Российской Федерации № 2640413 от 09 января 2018 г.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Доказана важность изменения фазового состояния действующего вещества как современного подхода к оптимизации свойств фармацевтических субстанций.

Выявлена способность ДКВ<sub>с</sub> высвобождаться из таблеток в пролонгированном режиме, что позволяет рассматривать эту фазовую модификацию в качестве перспективного объекта для разработки таблеток для рассасывания. Установлено повышение ранозаживляющего фармакологического эффекта ДКВ<sub>т</sub> на 14,3% в сравнении с ДКВ<sub>фс</sub>, что определяет целесообразность их дальнейшего изучения и последующего внедрения в качестве действующего вещества противоожоговых и ранозаживляющих лекарственных препаратов местного действия. Разработана методика автоматизированного неразрушающего контроля качества лиофилизатов посредством фрактального анализа, которая может послужить основой для реализации концепции Индустрии 4.0 в отечественном фармацевтическом производстве.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой данной работы является трансляционная модель исследования (Рисунок 1), включающая этапы молекулярного дизайна *in silico*, синтеза, отбора объектов-лидеров по ключевым характеристикам и дальнейшего сопоставительного анализа их свойств в условиях *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*.

**Достоверность научных положений и выводов.** Достоверность экспериментальных данных и сформулированных выводов определяется комплексным характером работы, использованием современных инструментальных методов анализа, многократными измерениями, выполненными на сертифицированном поверенном оборудовании, статистической обработкой данных и валидацией разработанных методик.

Теоретическая база	Эксперимент		Этап
Свойства ДКВ Химическая природа модификации фазового состояния	<p style="text-align: center;"><b>Дизайн</b></p> <p>Анализ межмолекулярных синтонов флавоноидов Моделирование фазовых модификаций <i>in silico</i></p>		<i>In silico</i>
Методы модификации фазового состояния	Осаждение антирастворителем	<p style="text-align: center;"><b>Синтез фазовых модификаций</b></p> <p>Распылительная сушка      Лиофилизация</p>	
Системный подход к анализу фазовых модификаций	<p style="text-align: center;"><b>Физико-химический анализ</b></p> <p>Спектральный Морфологический Хромато-масс-спектрометрический Рентгеноструктурный Рентгенофазовый</p> <p>Термический Фрактальный Растворимость Сорбционные свойства</p>		<i>In vitro</i>
Влияние фазового состояния на свойства соединений	<p style="text-align: center;"><b>Фармацевтико-технологические испытания</b></p> <p>Прочность таблеток на раздавливание Истираемость таблеток</p> <p>Распадаемость таблеток Тест «Растворение»</p>		
	<p style="text-align: center;"><b>Оценка биофармацевтических параметров</b></p> <p>Оценка цитотоксичности</p> <p>Оценка проницаемости</p>		<i>Ex vivo</i>
	<p style="text-align: center;"><b>Оценка ранозаживляющих свойств</b></p> <p>Контактный метод Поповой      Бесконтактный метод с внутренним стандартом</p>		<i>In vivo</i>

Рисунок 1 – Дизайн исследования фазовых модификаций ДКВ в трансляционном формате

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

– Способ получения микротрубчатой кристаллической модификации ДКВ с заданным размером частиц методом осаждения антирастворителем в присутствии мочевины.

– Системный подход к проблеме идентификации фазового состояния ДКВ с позиции полиморфизма с помощью микроскопических, спектральных, рентгенографических и термических методов анализа.

– Результаты комплексного трансляционного исследования фазовых модификаций ДКВ, включающие расчеты их свойств методом молекулярного моделирования *in silico*, анализ биофармацевтических параметров *in vitro*, и изучение фармако-токсикологических характеристик *ex vivo* и *in vivo*.

– Методика фрактального анализа лиофилизатов на базе интеллектуальных технологий в тандеме с оптической микроскопией.

– Валидационные характеристики неразрушающей методики определения предела содержания посторонних примесей в лиофилизированных субстанциях: специфичность, предел обнаружения, правильность, сходимость и устойчивость.

**Апробация результатов исследования.** Основные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на 11<sup>th</sup> World Congress on Polyphenols Applications (Вена, 2017), XI International Conference on Chemistry for Young Scientists «Mendeleev-2019» (Санкт-Петербург, 2019), XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019), Международном симпозиуме «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва; 2015, 2018), Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» (Казань; 2016, 2019), XIX Международной конференции студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука XXI века (Витебск; 2019), Ежегодном Саммите молодых ученых и инженеров «Большие вызовы для общества, государства и науки» (Сочи; 2019), IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Инновации в здоровье нации" (Санкт-Петербург; 2016), Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург; 2018, 2019, 2020), Российском национальном конгрессе "Человек и лекарство" (Москва; 2018, 2019, 2020).

Апробация диссертационной работы состоялась «29» января 2021 г. на совместном заседании кафедр химии, фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева, фармацевтического естествознания и фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет).

**Личный вклад автора.** Автору принадлежит ведущая роль в выполнении информационно-поисковых и экспериментальных исследований, в анализе, интерпретации и обобщении полученных данных. При активном участии соискателя сформулированы положения и выводы диссертационной работы, подготовлены публикации по теме исследования.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры химии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, в производственный процесс АО «Аметис» и используются в научно-исследовательской деятельности Отдела медицинской биофизики НИИ трансляционной медицины ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения, изложенные в диссертационной работе, соответствуют формуле паспорта специальности 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия», а именно пунктам 1, 2, 3 области исследования.

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки.** Диссертационная работа выполнена в рамках плана и в соответствии с тематикой научно-исследовательской работы на кафедре химии ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по теме «Разработка подходов к анализу, стандартизации, оценке качества, и сертификации биологически активных соединений синтетического и природного происхождения, лекарственных препаратов, медицинских изделий (технологические и экологические аспекты)».

**Публикации.** По теме диссертационной работы опубликована 31 печатная работа, в том числе 5 статей в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, 7 статей в журналах, индексируемых в международных базах данных, и 1 патент РФ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 173 страницах машинописного текста, содержит 27 таблиц и иллюстрирована 63



рисунками. Текст диссертации состоит из введения, обзора литературы, пяти глав, посвященных обсуждению результатов исследования, экспериментальной части, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Библиография включает 186 источников, в том числе 148 на иностранном языке.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Объекты и методы исследования

Объектом исследования служила ДКВ<sub>фс</sub> – «Лавитол», АО «Аметис», Россия. ДКВ<sub>т</sub> получали путем осаждения водой из этанольного раствора в присутствии мочевины при значении pH 7 в интервале температур от 5 до 35 °С. ДКВ<sub>с</sub> синтезировали посредством пропускания водного раствора ДКВ<sub>фс</sub> через распылительную сушилку (GLP-60, Китай). ДКВ<sub>в</sub> образовывался в ходе лиофильной сушки водно-спиртового раствора ДКВ<sub>фс</sub> на приборе Alpha 1-2 LD (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Германия).

Строение твердой фазы ДКВ моделировали в модуле Disordered System Builder в программе Materials Science Suite (v. 2018-2, Schrödinger, США). 3D-модели подготовили и визуализировали в графическом редакторе BIOVIA Discovery Studio Visualizer (v. 4.5, Dassault Systèmes BIOVIA, Франция).

Масс-спектральный анализ выполняли на приборе LC-MS (Advion, США) в диапазоне  $m/z$  от 10 до 1000 в режиме определения отрицательных ионов. УФ/ВИД-спектры снимали в интервале длин волн от 250 до 800 нм (Cary-100, Varian, США). Для снятия ИК-спектра в таблетках калия бромиды использовали FSM-1201 (Инфраспек, Россия) в диапазоне частот от 4000 до 350 см<sup>-1</sup>. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H образцов, растворенных в ДМСО-*d*<sub>6</sub>, получали на Varian VNMRS-400 (Agilent, США). Высокоэффективную жидкостную хромато-масс-спектрометрию (ВЭЖХ-МС/МС) осуществляли на хроматографе с диодно-матричным детектором ACQUITY UPLC (Waters, США) и tandemным квадрупольным масс-спектрометром Xevo TQD (Waters, США) в отрицательном режиме ионизации. Морфологию частиц изучали с помощью СЭМ при увеличении до ×10000 раз (JSM-6380LA, Jeol, Япония). Распределение частиц по размеру определили методом лазерной дифракции света на приборе Analysette 22 (Fritsch GmbH, Германия). Фрактальный анализ выполняли путем оптической микроскопии (Galen III, Leica Microsystems, Германия) при увеличении от ×200 раз в тандеме с программой FDim (Harvard

Medical School, США). Методику валидировали в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15. Монокристалл ДКВ<sub>т</sub> выращивали при 4 °С в течение 1 месяца из водно-спиртового раствора. РСА осуществляли на дифрактометре Xcalibur Eos (Agilent, США), РПД – на дифрактометре ARL X'TRA X-ray (Thermo Electron Corporation, США). Сорбционные свойства оценивали по изотерме Ленгмюра для системы Судана III (ООО «ХромРесурс», Россия) в циклогексане. Для термических методов анализа использовали приборы DSC 204 F1 Phoenix и TG 209 F1 Iris (NETZSCH, Германия) в интервале температур от 25 до 300 °С.

Эксперимент *ex vivo* выполняли на культуре клеток MDCK (p=25-28), предоставленной Cell Culture Center of Chinese Academy of Medical Sciences (Китай). Цитотоксичность оценивали по индикатору ССК-8 (Beijing Bio Dee Biotechnologies, Китай).

Сравнение фармацевтико-технологических свойств фазовых модификаций осуществляли на таблетках следующего состава: ДКВ : сахароза (Sudzucker AG, Германия) : кросповидон (ISP Inc., Германия) : кальция стеарат (ЛДХим, Россия) : ментол (Sigma-Aldrich, США) в соотношении 20:265:8:2:5. Показатели качества таблетлируемых масс и таблеток определяли на приборах фирмы Erweka (Германия): SVM 121, D-63150, ТВН-100, ТАР-2020, ДТ-600.

Ранозаживляющую способность фазовых модификаций ДКВ изучали на модели ожога IIIA степени у крыс линии Sprague Dawley на четырех группах по 12 особей в каждой. Дизайн эксперимента одобрен Локальным этическим комитетом Сеченового университета (протокол №02-20 от 05.02.2020).

### Дизайн и синтез фазовых модификаций ДКВ

В ходе молекулярного моделирования (Рисунок 2) установлено, что молекулы воды в твердой фазе ДКВ выполняют две функции: структурную, способствуя формированию внутренней полости, и конструкционную, придавая веществу дополнительную жесткость.

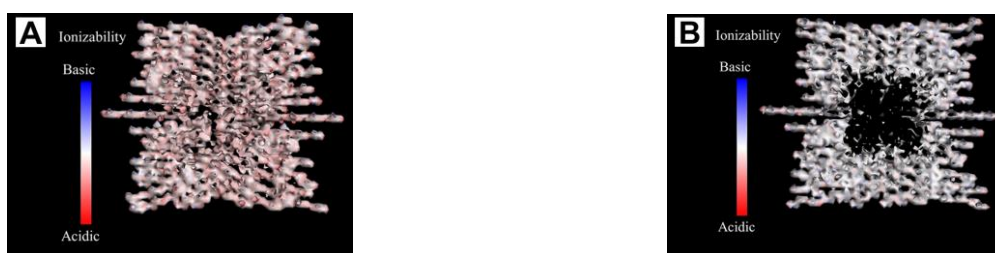


Рисунок 2 – Поперечный срез моделей фазовых модификаций ДКВ: А – в отсутствии молекул воды, В – при наличии кристаллизационной воды

Результаты молекулярного моделирования послужили теоретической базой для направленного синтеза фазовых модификаций ДКВ. Их морфология представлена на Рисунке 3.

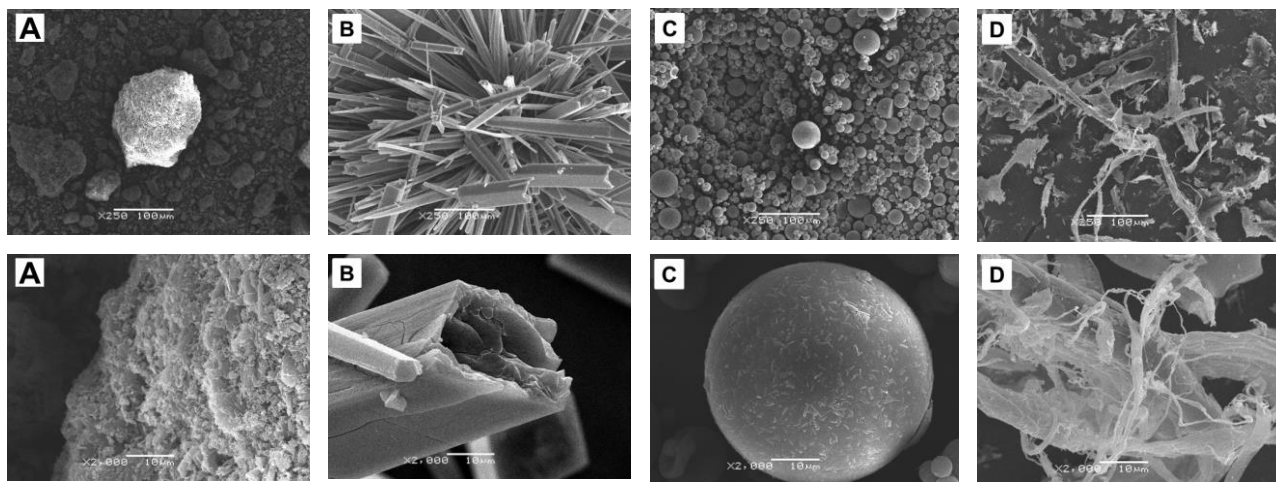


Рисунок 3 – Микрофотографии фазовых модификаций ДКВ (верхний ряд – увеличение  $\times 250$ , нижний –  $\times 2000$ ): А – ДКВ<sub>фс</sub>, В – ДКВ<sub>т</sub>, С – ДКВ<sub>с</sub>, D – ДКВ<sub>в</sub>

### Характеристика фазовых модификаций ДКВ

По результатам масс-спектрального анализа (Рисунок 4А) и ИК-спектроскопии (Рисунок 4В) в продуктах синтеза не обнаружено образования новых ковалентных связей в структуре ДКВ (2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4*H*-1-бензопиранон-4). ИК-спектры образцов характеризуются широкой полосой поглощения в области  $3550 - 3200 \text{ см}^{-1}$ , соответствующей валентным колебаниям фенольных гидроксильных групп, и интенсивной полосой поглощения в области  $1600 \text{ см}^{-1}$ , относящейся к валентным колебаниям карбонильной группы. Различия в форме спектра в области колебаний фенольных гидроксильных групп указывают на формирование новых супрамолекулярных связей между компонентами твердой фазы ДКВ.

Методом ЯМР  $^1\text{H}$  (Рисунок 4С) установлено наличие следовых количеств этанола в ДКВ<sub>т</sub> и ДКВ<sub>в</sub> (триплет в области 1,1 м.д. (3H) и квадруплет в области 4,4 м.д. (2H)). Наличие синглета в области 5,4 м.д. (4H) в спектре ДКВ<sub>т</sub> позволяет судить о присутствии мочевины. Для ДКВ<sub>с</sub> отмечена частичная изомеризация молекул флавоноида, о чем говорит наличие сигналов в области 4,0 м.д., 5,3 м.д. и 6,1 м.д. Соотношение изомеров было определено методом ВЭЖХ-МС/МС (Рисунок 5).

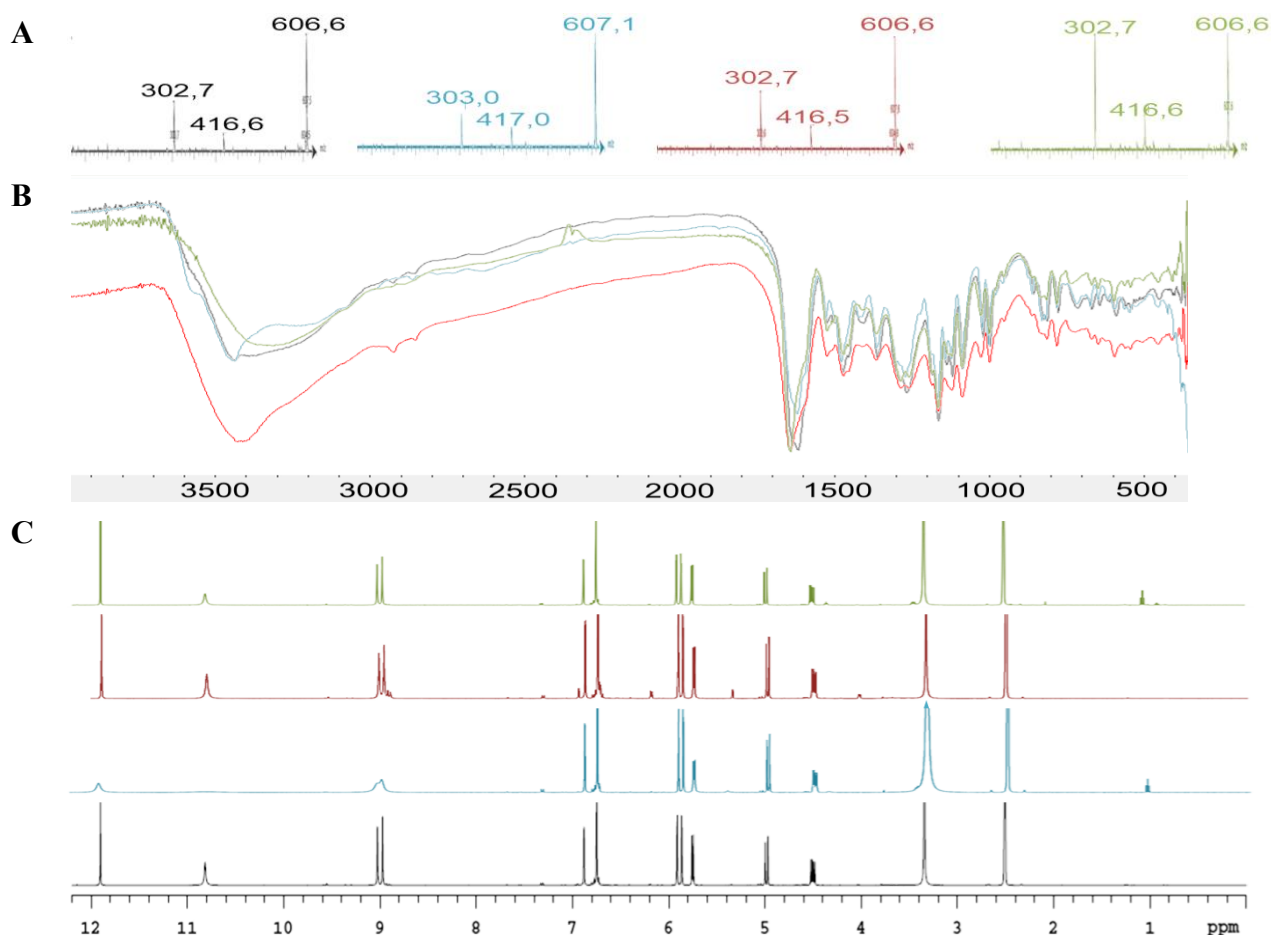


Рисунок 4 – Спектральный анализ фазовых модификаций ДКВ (ДКВ<sub>фс</sub> – черный, ДКВ<sub>т</sub> – синий, ДКВ<sub>с</sub> – красный, ДКВ<sub>в</sub> – зеленый): А – масс-спектрометрия, В – ИК-спектроскопия, С – <sup>1</sup>H ЯМР

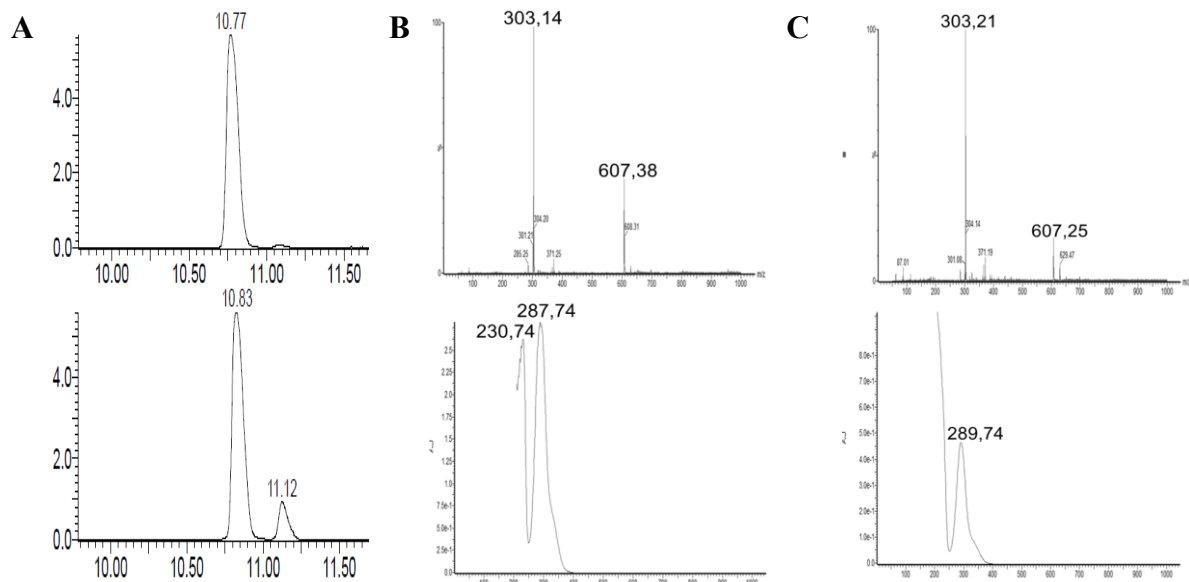


Рисунок 5 – ВЭЖХ-МС/МС (колонка ACQUITY UPLC BEH Phenyl 1,7мкм (Waters, США); подвижная фаза А – 0,1% водный раствор муравьиной кислоты, подвижная фаза В – 0,1% раствор муравьиной кислоты в смеси метанол:ацетонитрил (1:1, об.); режим элюирования – ступенчатый градиент; скорость потока – 0,2 мл/мин): А – хроматограммы образцов, В – спектры вещества с ВУ = 10,83, С – спектры вещества с ВУ = 11,12.

Для выявления природы фазовых модификаций использовали рентгенодифракционный и термический методы анализа.

По результатам РПД установлено, что ДКВ<sub>с</sub> и ДКВ<sub>в</sub> обладают аморфным строением, на что указывает характерное гало на спектрах (Рисунок 6А). Первый максимум ДКВ<sub>с</sub> приходится на  $2\theta$  24,92°, а ДКВ<sub>в</sub> – на  $2\theta$  8,94°, то есть они представляют собой различные аморфные модификации ДКВ. ДКВ<sub>фс</sub> и ДКВ<sub>т</sub> являются кристаллическими соединениями, дифрактограммы которых различаются интенсивностью сигналов. Это обстоятельство не позволяет по данным РПД при комнатной температуре однозначно признать ДКВ<sub>фс</sub> и ДКВ<sub>т</sub> полиморфами.

Отсутствие отражений при 28,2°, 33,8° и 44,5° свидетельствует, что в ДКВ<sub>т</sub> нет свободной мочевины, что подтверждается результатами РСА (Рисунок 6В). Установлено, что ДКВ<sub>т</sub> представляет собой сестергидрат. Его кристаллическая ячейка характеризуется моноклинной сингонией и кристаллизуется в хиральной пространственной группе С2.

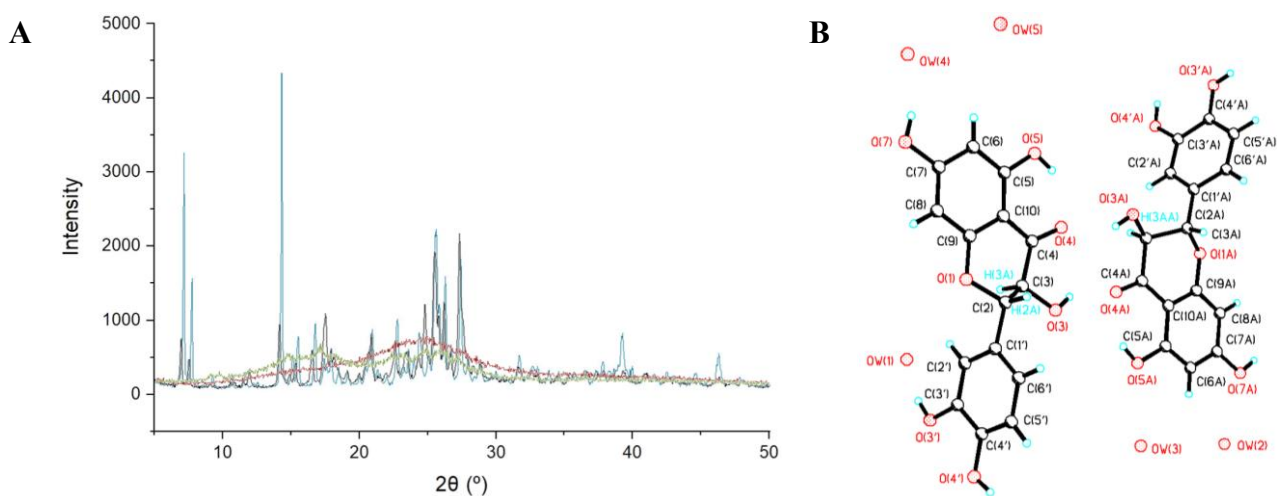


Рисунок 6 – Рентгенодифракционный анализ фазовых модификаций ДКВ: А – РПД (ДКВ<sub>фс</sub> – черный, ДКВ<sub>т</sub> – синий, ДКВ<sub>с</sub> – красный, ДКВ<sub>в</sub> – зеленый), В – РСА ДКВ<sub>т</sub>.

Для установления различий в природе ДКВ<sub>фс</sub> и ДКВ<sub>т</sub> был проведен термический анализ (Рисунок 7). На термограммах обоих образцов наблюдается протяженный эндотермический эффект до 100 °С, который связан с удалением сорбированной воды. ДКВ<sub>т</sub> характеризуется резким пиком в области от 89,2 до 91,5 °С, свидетельствующим об отщеплении химически связанной воды. Таким образом, установлено, что ДКВ<sub>фс</sub> является безводной формой, следовательно, ДКВ<sub>т</sub> – его псевдополиморфная модификация.

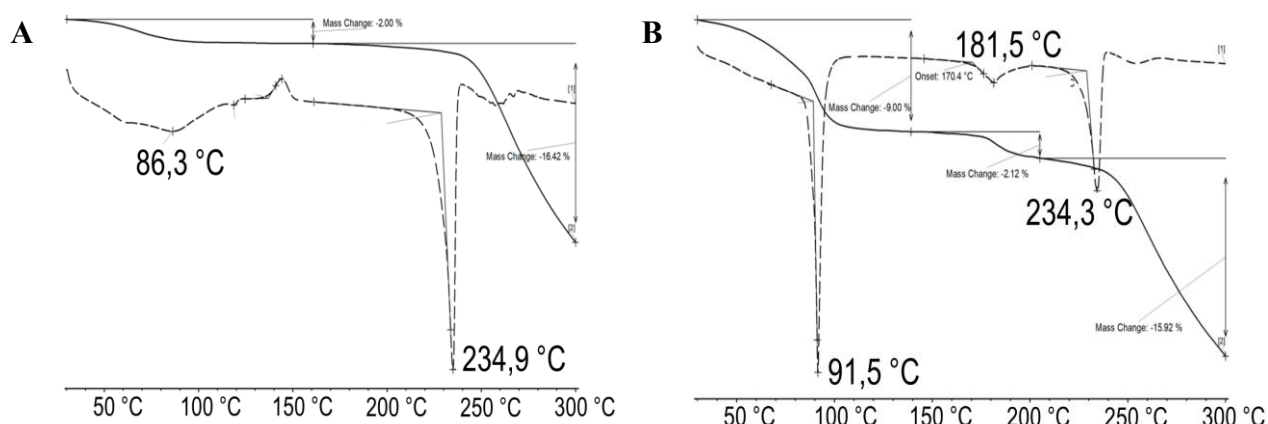


Рисунок 7 – Термограммы фазовых модификаций ДКВ: А – ДКВ<sub>φс</sub>, В – ДКВ<sub>Т</sub>

На термограмме ДКВ<sub>Т</sub> наблюдается эндотермический эффект с пиком при 181,5 °С, который мог быть обусловлен следами мочевины. Для подтверждения этого предположения, было проведено дополнительное исследование методом СТА МС (Рисунок 8). Присутствие мочевины доказано комплексом характеристических пиков. Учитывая совокупность результатов рентгенодифракционных и термических методов можно сделать вывод, что молекула мочевины не участвуют в формировании кристаллической ячейки и находятся во внутренней полости микротрубок.

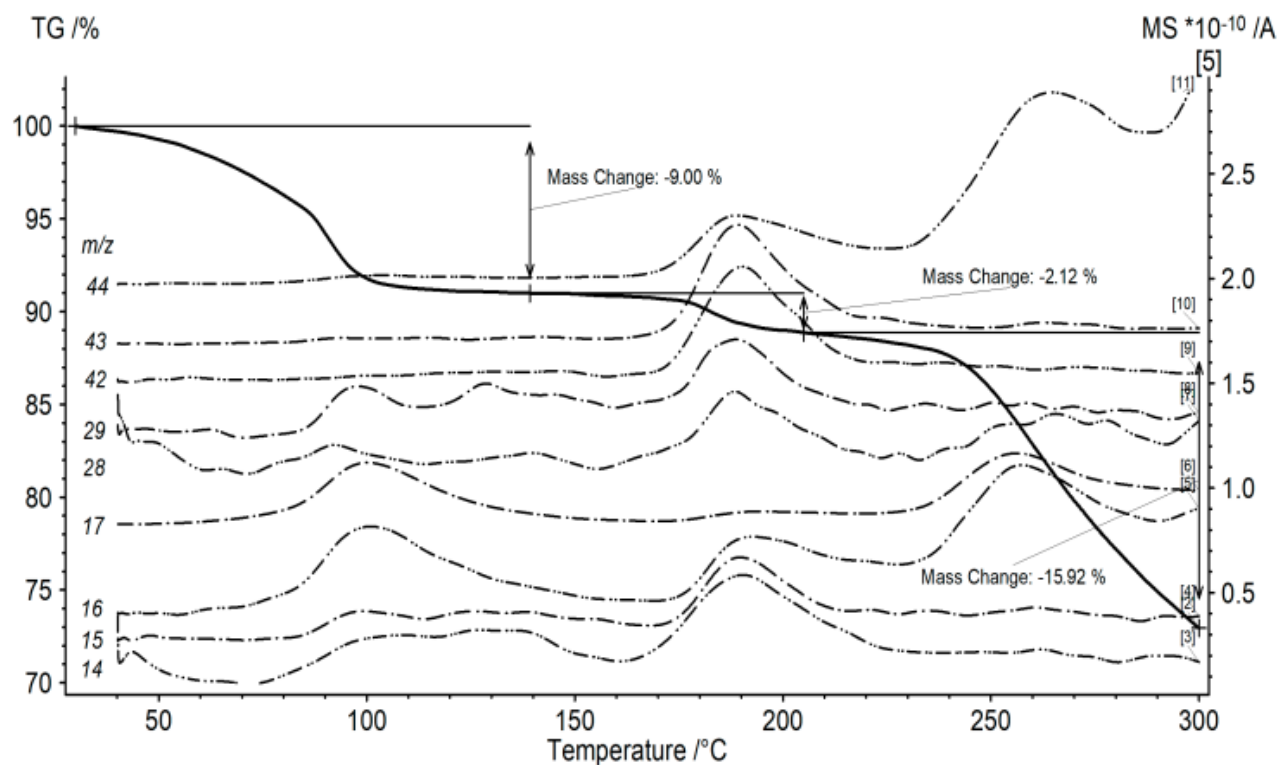
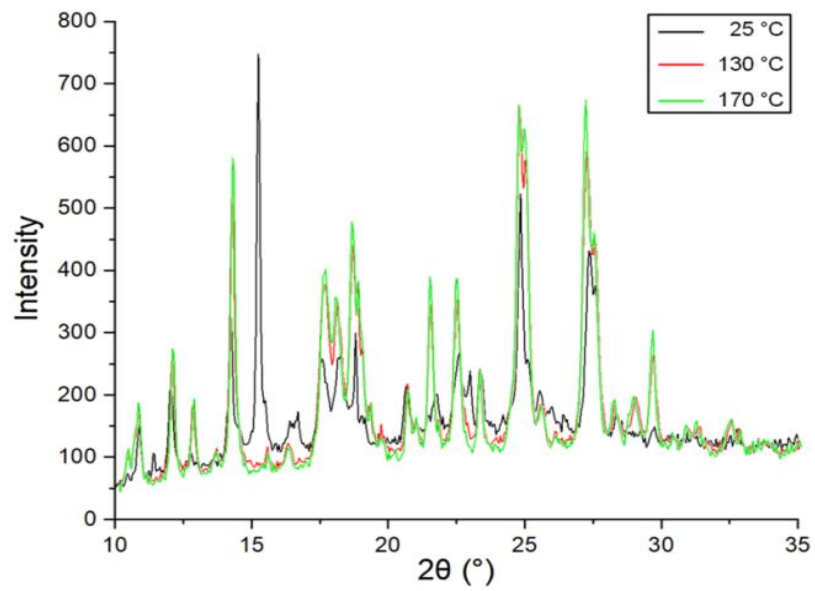
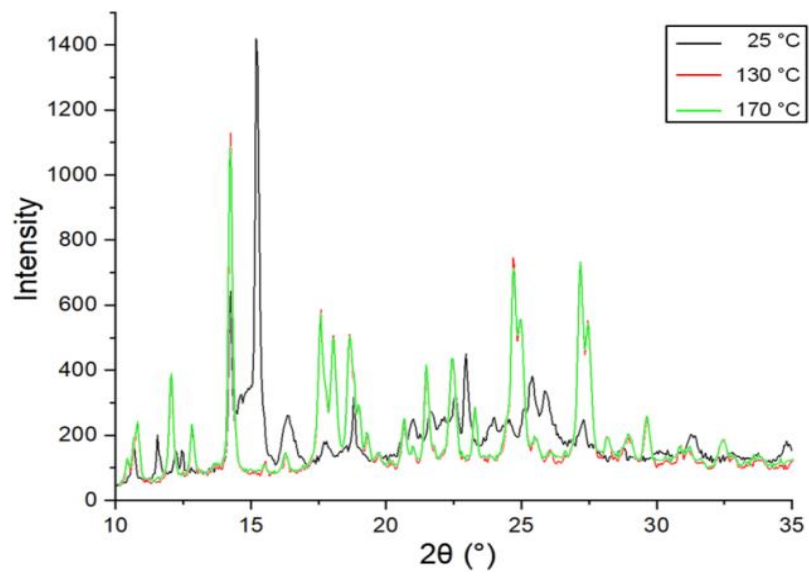


Рисунок 8 – Спектры СТА МС ДКВ<sub>Т</sub>

A



B



C

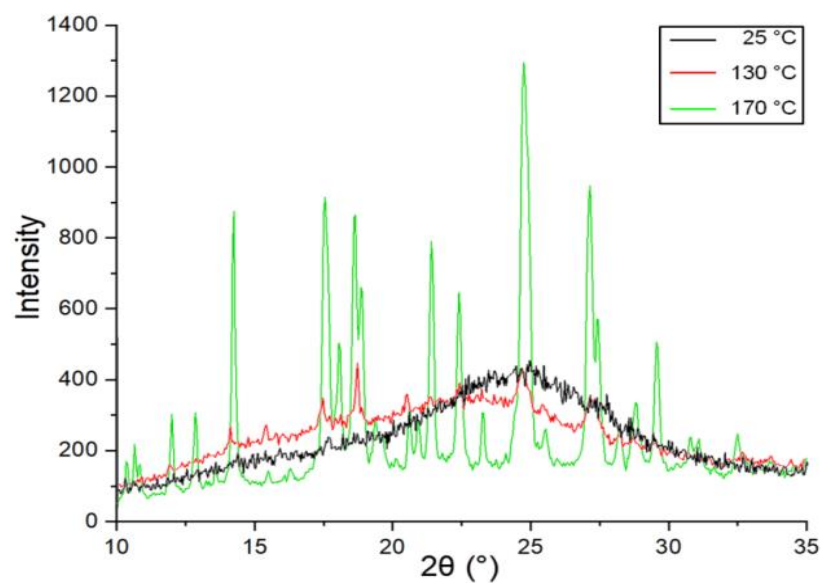


Рисунок 9 – Дифрактограммы фазовых модификаций ДКВ при нагревании до 170 °C (условия см. 7.5.7): А –  $\text{DKB}_{\phi\text{с}}$ , В –  $\text{DKB}_{\tau}$ , С –  $\text{DKB}_{\text{с}}$

Фазовые переходы между различными формами ДКВ были выявлены методом РПД при различных температурах *in situ*. Спектры РПД фазовых модификаций при 170 °С имеют одинаковые положения пиков для всех исследованных образцов и совпадают с дифрактограммой ДКВ<sub>фс</sub> (Рисунок 9). Результаты исследования позволяют однозначно утверждать, что все изучаемые объекты принадлежат к различным фазовым модификациям ДКВ.

Трубчатая структура ДКВ<sub>т</sub> была подтверждена исследованием сорбционных свойств (Таблица 1). В сравнении с ДКВ<sub>фс</sub>, сорбционная способность ДКВ<sub>т</sub> в 2,6 раза выше.

Таблица 1 – Сорбционные свойства фазовых модификаций ДКВ

Образец	Доля поглощенного красителя (%) при различных массах сорбента					Параметры изотермы Ленгмюра		
	10,0 мг	25,0 мг	50,0 мг	75,0 мг	100,0 мг	Сорбционная способность, мг/мг	Константа Ленгмюра	R <sup>2</sup>
ДКВ <sub>фс</sub>	0,9	1,2	3,4	4,6	5,3	84,80	0,027	0,9674
ДКВ <sub>т</sub>	1,6	2,8	5,6	11,5	15,6	218,75	0,101	0,9818

В результате разработанного системного подхода, заключающего в последовательности использования адекватных методов исследования, установлено, что ДКВ<sub>т</sub> является псевдополиморфной модификацией ДКВ<sub>фс</sub>, а ДКВ<sub>с</sub> и ДКВ<sub>в</sub> представляют собой различные аморфные формы ДКВ (Рисунок 10).



Рисунок 10 – Концепция системного подхода к исследованию фазовых модификаций ДКВ



Общая характеристика фазовых модификаций ДКВ с улучшенной растворимостью в воде представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Общая характеристика фазовых модификаций ДКВ

Название	Фазовое состояние <sup>1</sup>	Морфология		Растворимость <sup>4</sup>	Температура плавления, °С
		Форма <sup>2</sup>	Размер <sup>3</sup> , мкм		
ДКВ <sub>фс</sub>	кристаллическое	агломераты	0,94 – 49,00	очень мало растворим	234,9 ± 0,3
ДКВ <sub>т</sub>		трубчатая	4,12 – 220,00	мало растворим	228,8 ± 0,3
ДКВ <sub>с</sub>	аморфное	сферическая	0,70 – 202,00	мало растворим	227,1 ± 0,3
ДКВ <sub>в</sub>		волокнистая	7,87 – 232,41	растворим	226,0 ± 0,3

<sup>1</sup> – определено методом РПД; <sup>2</sup> – определено микроскопически; <sup>3</sup> – определено методом лазерной дифракции; <sup>4</sup> – в соответствии с ГФ РФ XIV.

### Фрактальный анализ

В ходе микроскопического анализа на малых увеличениях установлено, что структура ДКВ<sub>в</sub> обладает самоподобием, то есть лиофилизат является фрактальным объектом, который можно охарактеризовать количественно с помощью фрактальной размерности. Используя серию лиофилизатов ДКВ с различными коформерами, установлена взаимосвязь между фрактальной размерностью и их растворимостью (Рисунок 10).

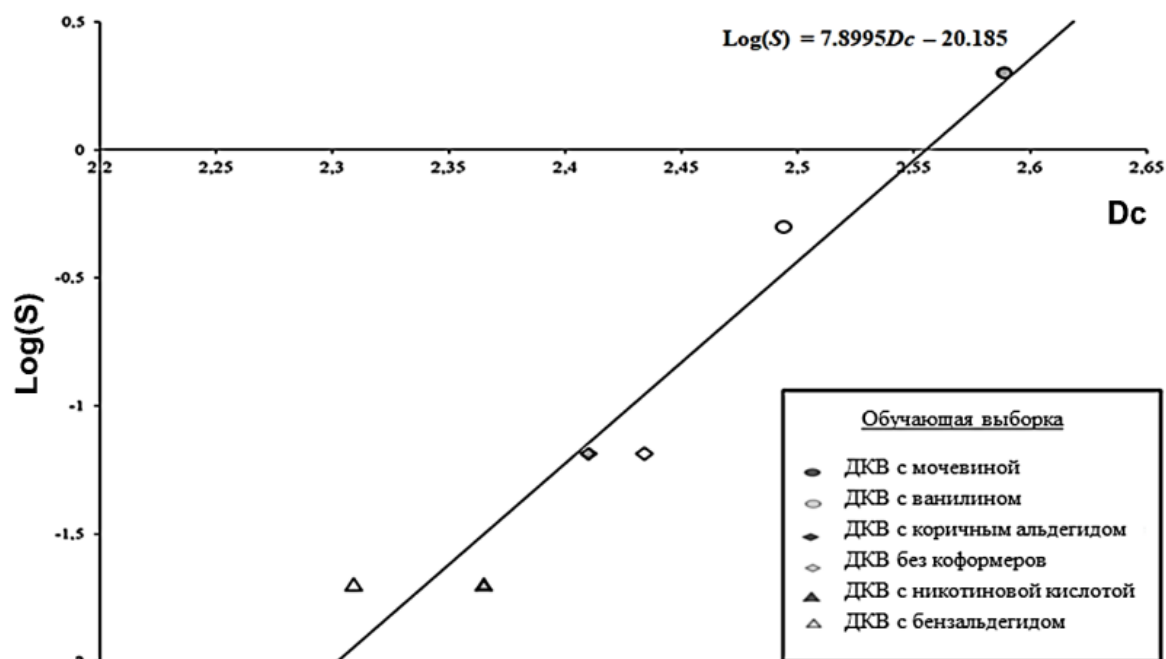


Рисунок 10 – Логарифмическая зависимость растворимости лиофилизатов ДКВ от фрактальной размерности их морфологических элементов

Эта особенность легла в основу идеи автоматизированного неразрушающего метода контроля качества лиофилизированных субстанций, сочетающего оптическую микроскопию с фрактальной геометрией. Валидационные характеристики данного метода анализа представлены в таблице 3.

Таблица 3. Валидационные характеристики метода фрактального анализа

Валидационная характеристика		Фрактальный анализ	Нормы по ГФ РФ XIV
Специфичность		+	+/-
Предел обнаружения		0,3927	Должна быть оценена
Правильность		0,0384	<0.0500
Сходимость		0,0400	<0.0500
Устойчивость	на увеличение в $\times 10$ раз	$\pm 0,0200$	Должна быть оценена
	на изменение размера области анализа на 100 пикс <sup>2</sup>	$\pm 0,0002$	
	на смещение положения области анализа на 1 пикс	$\pm 0,0007$	

Поскольку фракталы тесно сопряжены с хаотическими процессами, в которых небольшое изменение условий приводит к существенным переменам в результате, была проведена оценка устойчивости методики. В целом, валидационные характеристики фрактального анализа соответствуют требованиям ГФ РФ XIV. Однако, ввиду высокой чувствительности результата к таким параметрам, как степень увеличения объекта, положение и размер анализируемой области, данный метод может реализовываться исключительно с применением интеллектуальных технологий.

### **Влияния фазового состояния на биофармацевтические свойства ДКВ**

Для оценки влияния фазового состояния ДКВ на его биофармацевтические свойства был проведен эксперимент *ex vivo* на модели клеток MDCK. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты оценки кажущейся проницаемости и выживаемости клеток

Исследуемый образец	Измеренные параметры		
	$dC/dT$	$P_{app}$ , см/с $\cdot 10^6$	Выживаемость, %
ДКВ <sub>фс</sub>	$0,00225 \pm 0,00002$	$14,8 \pm 0,3$	$70,75 \pm 9,86$
ДКВ <sub>т</sub>	$0,00295 \pm 0,00001$	$19,4 \pm 0,2$	$71,33 \pm 4,31$
ДКВ <sub>с</sub>	$0,00162 \pm 0,00002$	$10,7 \pm 0,3$	$86,82 \pm 5,55$

При концентрации от 1 мг/мл и выше установлена выживаемость клеток на уровне около 70%, что демонстрирует высокий профиль безопасности модификаций ДКВ. Выявлены статистически значимые различия в значениях кажущейся проницаемости для всех изученных фазовых модификаций ДКВ. Трубочатая форма характеризовалась самым высоким значением  $Rapp$ , в то время как у аморфной модификации наблюдали более пролонгированный режим высвобождения. Учитывая показатели растворимости и проницаемости исследуемых объектов, их можно отнести I классу по Биофармацевтической классификации соединений.

### Влияния фазового состояния на функциональные свойства ДКВ

Для проведения сопоставительного анализа фармацевтико-технологических характеристик фазовых модификаций ДКВ использовали ДКВ<sub>фс</sub> и ДКВ<sub>с</sub>. Таблетуемая масса на базе ДКВ<sub>с</sub> обладала хорошей сыпучестью (индекс Hausner – 1,235) и умеренной сжимаемостью (индекс Carr – 42,10%). Смесь с ДКВ<sub>фс</sub> характеризовалась плохой сыпучестью и выраженной сжимаемостью (индекс Hausner и индекс Carr составили 1,420 и 23,46%, соответственно). Основные показатели таблеток для рассасывания, полученные из фазовых модификаций ДКВ, представлены в таблице 5. Таблетки на базе ДКВ<sub>с</sub> обладали более выраженными прочностными показателями и пролонгированным режимом высвобождения, что предпочтительнее для данной лекарственной формы.

Таблица 5 – Сравнение технологических характеристик таблеток для рассасывания на основе двух фазовых модификаций ДКВ

Показатель качества	Значение для таблеток на базе ДКВ	
	ДКВ <sub>фс</sub>	ДКВ <sub>с</sub>
Распадаемость, мин	7,1 ± 1,8	36,4 ± 2,3
Прочность на раздавливание, Н	74,9 ± 33,6	81,0 ± 23,4
Прочность на истирание, %	0,3	1,3
Константа скорости высвобождения действующего вещества, мин <sup>-1</sup>	0,048 ± 0,002	0,034 ± 0,002
Период полураспада таблетки, мин	14,56 ± 0,48	20,63 ± 1,13

Влияния фазового состояния ДКВ на его биологическую активность оценивали по скорости ранозаживления, рассчитанной по графику, на модели ожога ША (Таблица 6). Согласно результатам бесконтактного метода оценки,

средние скорости заживления раны на фоне суспензии ДКВ<sub>фс</sub> и облепихового масла были сопоставимы:  $4,2 \pm 0,1\%$  и  $4,3 \pm 0,1\%$ , соответственно. При этом в группе плацебо скорость выздоровления была ниже ( $4,1 \pm 0,1\%$ ). Однако наиболее выраженный фармакологический эффект наблюдали в группе, получавшей лечение суспензией ДКВ<sub>т</sub> скорость ранозаживления составляла  $4,8 \pm 0,1\%$ . В этой группе выздоровление, в среднем, наступило на 2 дня раньше, чем в остальных.

Таблица 6 – Ранозаживление на фоне различных методов терапии

Группа	Площадь раны, см <sup>2</sup> (уровень ранозаживления, %)							
	Контактный метод				Бесконтактный метод			
	День 1	День 8	День 14	День 24	День 1	День 8	День 14	День 24
I	7,8±1,0	6,3±0,6 (19,2%)	3,2±0,5 (59,0%)	0,6±0,8 (92,3%)	8,7±1,3	5,8±1,3 (33,4%)	3,1±0,9 (64,1%)	0,7±0,8 (92,3%)
II	8,7±0,5	5,7±0,3 (34,5%)	2,9±0,5 (66,7%)	0,6±0,7 (93,1%)	8,4±1,2	5,5±1,6 (34,4%)	2,5±0,8 (70,0%)	0,7±0,6 (92,0%)
III	9,0±0,5	5,1±0,5 (43,3%)	2,5±0,5 (72,2%)	0,2±0,2 (97,8%)	8,9±1,4	7,0±1,2 (21,0%)	2,7±1,0 (70,2%)	0,6±0,3 (93,4%)
IV	8,4±0,7	5,7±0,2 (36,0%)	3,0±0,6 (66,3%)	0,6±0,6 (93,3%)	8,9±1,3	7,5±1,7 (15,3%)	3,2±1,1 (64,1%)	0,6±0,7 (92,7%)

Таким образом, наблюдается корреляция между повышенной терапевтической эффективностью фазовой модификации ДКВ и ее улучшенной растворимостью и кажущейся проницаемостью.

## ВЫВОДЫ

1. Описана успешная мировая практика улучшения физико-химических и биофармацевтических параметров флавоноидов посредством оптимизации их фазового состояния.

2. Сформулированы следующие принципы направленного синтеза фазовых модификаций ДКВ:

– наличие кислотных и основных центров в структуре ДКВ способствует образованию межмолекулярных синтонов;

– участие молекул воды при формировании твердой фазы ДКВ приводит к увеличению степени его кристалличности и пористости;

– изменение условий синтеза твердой фазы ДКВ (температура, давление, степень ионизации молекул) способствует получению новых фазовых модификаций.

3. Синтезированы новые фазовые модификации ДКВ: микротрубчатая, микросфероидная и микроволокнистая.

4. Разработан системный подход к анализу фазовых модификаций ДКВ, сочетающий рентгенографические, термические, спектральные и микроскопические методы анализа:

– подтверждено отсутствие образования новых ковалентных связей в молекуле ДКВ в составе фазовых модификаций;

– выявлено, что ДКВ<sub>с</sub> и ДКВ<sub>в</sub> представляют различные аморфные формы, а ДКВ<sub>фс</sub> и ДКВ<sub>т</sub> – кристаллические;

– установлено, что ДКВ<sub>т</sub> является псевдополиморфной модификацией ДКВ<sub>фс</sub>;

– обнаружена взаимосвязь между морфологией лиофилизатов ДКВ и их физико-химическими свойствами, которая послужила основой для разработки и валидации аналитической методики фрактального анализа на базе интеллектуальных технологий.

5. Установлено, что новые формы ДКВ характеризуются улучшенной растворимостью и модифицированной проницаемостью и относятся к I классу БКС.

6. Установлено влияние фазового состояния на показатели качества таблеток для рассасывания и таблетлируемых масс на базе ДКВ. Таблетки на основе ДКВ<sub>с</sub> характеризуются улучшенными прочностными характеристиками и пролонгированным профилем высвобождения действующего вещества в сравнении с ДКВ<sub>фс</sub>.

7. Выявлено наличие корреляционных связей между улучшением биофармацевтических показателей фазовой модификации ДКВ и повышением ранозаживляющего эффекта ДКВ<sub>т</sub> в сравнении с ДКВ<sub>фс</sub>. По показателю средней скорости заживления раны новая модификация ДКВ значительно превосходила препарат сравнения на 11,6%.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Полученные результаты могут быть использованы в разработке фитопрепаратов с улучшенными биофармацевтическими и

фармакологическими параметрами и для развития нормативной документации в сфере контроля качества фармацевтических субстанций.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В качестве актуального направления развития данной работы можно рассматривать проведение доклинических и клинических испытаний с целью трансляции результатов фундаментальных исследований в реальную клиническую практику.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи в журналах Перечня рецензируемых изданий:*

1. **Терехов, Р. П.** Фрактальный анализ лиофилизированных форм дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов, И. А. Селиванова** // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** - 2018. - N 3 (21). - С. 17-21.
2. Селиванова, И. А. Инженерия кристаллов дигидрокверцетина / И. А. Селиванова, **Р. П. Терехов** // **Химико-фармацевтический журнал.** - 2019. - Т. 53 - N 11. - С. 53-57.
3. Селиванова, И. А. Инженерия кристаллов как научная основа модификации физико-химических свойств биофлавоноидов / И. А. Селиванова, **Р. П. Терехов** // **Известия Академии наук. Серия химическая.** - 2019. - N 12. - С. 2155-2162.
4. **Терехов, Р. П.** Влияние фазового состояния дигидрокверцетина на фармако-технологические свойства таблеток для рассасывания / **Р. П. Терехов, М. Н. Анурова, И. А. Селиванова** // **Фармация.** - 2020. - N 2(69). - С. 44-49.
5. **Терехов, Р. П.** Сравнительное изучение ранозаживляющих свойств псевдополиморфных модификаций дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов, И. А. Селиванова, М. Н. Анурова** [и др.] // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.** - 2020. - N 10. - С. 452-456.

*Статьи в журналах, индексируемых в международных базах данных:*

1. **Terekhov, R.** Fractal Aggregation of Dihydroquercetin After Lyophilization / **R. Terekhov, I. Selivanova** // **Journal of Pharmaceutical Innovation.** - 2018. - N 4 (13). - P. 313-320 (Scopus, Web of Science).
2. **Terekhov, R. P.** Taxifolin tubes: crystal engineering and characteristics / **R. P. Terekhov, I. A. Selivanova, N. A. Tyukavkina** [et al.] // **Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials.** - 2019. - P. 175-182 (Scopus, Web of Science).
3. **Терехов, Р. П.** Анализ физических модификаций дигидрокверцетина *in vitro* и *in silico* / **Р. П. Терехов, И. А. Селиванова, А. К. Жевлакова** [и др.] // **Биомедицинская химия.** - 2019. - N 2 (65). - С. 152-158 (Scopus).
4. Selivanova, I. A. Crystal engineering as a scientific basis for modification of physicochemical properties of bioflavonoids / I. A. Selivanova, **R. P. Terekhov** // **Russian Chemical Bulletin.** - 2019. - N 12(68). - P. 2155-2162 (Scopus).
5. Selivanova, I. A. Engineering of Dihydroquercetin Crystals / I. A. Selivanova, **R. P. Terekhov** // **Pharmaceutical Chemistry Journal.** - 2020. - Vol. 53, N 11. - P. 1081-1085 (Scopus, Web of Science).
6. **Терехов, Р. П.** Фрактальный анализ лиофилизированных биологически активных субстанций / **Р. П. Терехов, И. А. Селиванова** // **Биотехнология.** - 2020. - N 5. - С. 98-103 (Scopus).
7. **Terekhov, R. P.** Assembling the Puzzle of Taxifolin Polymorphism / **R. P. Terekhov, I. A. Selivanova, N. A. Tyukavkina** [et al.] // **Molecules.** - 2020. - Vol. 25, N 5437. - URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/22/5437> (Scopus, Web of Science).

*Патенты:*

1. Способ получения микротрубок дигидрокверцетина : пат. 2640413 Рос. Федерация: МПК С1 С07D 311/32, А61К 31/351, А61Р 43/00 / И. А. Селиванова, **Р. П. Терехов**, Н. А. Тюкавкина; заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) - N 2017123364; заявл. 03.07.17; опубл. 09.01.2018, Бюл. N 1.

*Тезисы:*

1. Тюкавкина, Н.А. Зависимость физико-химических параметров дигидрокверцетина от фазового состояния / Н. А. Тюкавкина, И. А. Селиванова, **Р. П. Терехов**, Ф. В. Горкавенко // IX Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты», г. Москва, 20-25 апреля 2015 года. Сборник материалов. - С. 670-674.

2. Теселкин, Ю.О. Исследование антирадикальной активности водорастворимых форм дигидрокверцетина / Ю. О. Теселкин, А. К. Бочаров, Д. К. Смотрин, Н. А. Тюкавкина, И. А. Селиванова, **Р. П. Терехов** // IX Международная конференция «Биоантиоксидант», г. Москва, 29 сентября – 2 октября 2015 года. Тезисы докладов. - С. 180.

3. **Терехов, Р. П.** Спектральный анализ субстанций дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова // III Всероссийский научный медицинский форум студентов и молодых ученых с международным участием «Белые цветы», г. Казань, 11-13 апреля 2016 года. Сборник тезисов. – С. 372.

4. **Терехов, Р. П.** Исследование аморфной модификации дигидрокверцетина методом хромато-масс-спектрометрии / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова, Н. А. Тюкавкина // Научно-практическая конференция, посвященная 70-летию Ботанического сада Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова «Лекарственные растения Ботанического сада», г. Москва, 21-22 сентября 2016 года. Сборник тезисов. - С. 131-133.

5. Селиванова, И. А. Стереоизомерия дигидрокверцетина в формате молекулярного дизайна / И. А. Селиванова, Н. А. Тюкавкина, **Р. П. Терехов**, А. А. Фенин // IV Всероссийская научно-практической конференция с международным участием "Инновации в здоровье нации", г. Санкт-Петербург, 09-10 ноября 2016 года. Сборник материалов. – С. 567-571.

7. **Terekhov, R.** Co-crystallization of dihydroquercetin / **R. Terekhov**, M. Buchholz, D. Ramsbeck, I. Selivanova // 11<sup>th</sup> World Congress on Polyphenols Applications, Vienna, 20-21 June 2017. Abstracts Book. - P. 154.

8. **Терехов, Р. П.** Анализ полиморфных модификаций дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова, М. Н. Анурова // VIII Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», г. Санкт-Петербург, 23-24 апреля 2018 года. Сборник материалов. - С. 660-663.

9. **Терехов, Р. П.** Разработка компонентного состава таблеток для рассасывания на базе дигидрокверцетина / Р. П. Терехов // Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Медицинская весна – 2018», г. Москва, 27-28 апреля 2018 года. Сборник тезисов. - С. 524.

10. Тюкавкина, Н. А. Получение нано- и микроструктурированных форм дигидрокверцетина / Н. А. Тюкавкина, **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова // X Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты», г. Москва, 14-19 мая 2018 года. Сборник материалов. - С. 532-536.

11. **Терехов, Р. П.** Анализ физических модификаций дигидрокверцетина *in vitro* и *in silico* / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова, А. К. Жевлакова, Ю. Б. Порозов, А. В. Дзубан // XXVI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», г. Москва, 8-11 апреля 2019 года. Сборник докладов. - С. 88.

12. **Терехов, Р. П.** Исследование морфологии физических модификаций дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова // VI Международный молодежный

научный медицинский форум «Белые цветы», г. Казань, 10-12 апреля 2019 года. Материалы конференции. – С. 1017-1018.

13. **Терехов, Р. П.** Полиморфизм флавоноидов: обзор / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова // IX Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», г. Санкт-Петербург, 22-23 апреля 2019 года. Сборник материалов. - С. 564-566.

14. **Terekhov, R. P.** Fractal analysis of lyophilized drugs / **R. P. Terekhov**, I. A. Selivanova // XI International Conference on Chemistry for Young Scientists, Saint Petersburg, 09-13 September 2019. Book of abstracts. - P. 490.

15. **Терехов, Р. П.** Твердые монофазные системы дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов**, И.А. Селиванова // XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, г. Санкт-Петербург, 09-13 сентября 2019 года. Сборник тезисов. - С. 245.

16. **Терехов, Р. П.** Исследование цитотоксичности полиморфных модификаций дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова // XIX Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука XXI века», г. Витебск, 23-24 октября 2019 года. Материалы. - С. 934-937.

17. **Терехов, Р. П.** Фрактальная размерность твердой фазы как дескриптор в QSPR / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова // XXVII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», г. Москва, 06-09 апреля 2020 года. Тезисы докладов. - С. 73.

18. **Терехов, Р. П.** Влияние фазового состояния на биофармацевтические параметры дигидрокверцетина / **Р. П. Терехов**, И. А. Селиванова // X Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», г. Санкт-Петербург, 2020 год. Сборник материалов. - С. 605-608.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВУ	– время удерживания
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ГФ РФ XIV	– Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания
ДКВ	– дигидрокверцетин
ДКВ <sub>в</sub>	– волокнистая форма дигидрокверцетина
ДКВ <sub>с</sub>	– сфероидная форма дигидрокверцетина
ДКВ <sub>т</sub>	– трубчатая форма дигидрокверцетина
ДКВ <sub>фс</sub>	– фармацевтическая субстанция дигидрокверцетина
ДМСО	– диметилсульфоксид
ДСК	– дифференциальная сканирующая калориметрия
ИК	– инфракрасная спектроскопия
МС	– масс-спектрометрия
РПД	– рентгеновская порошковая дифракция
РСА	– рентгеноструктурный анализ
СТА-МС	– синхронный термический анализ с масс-спектрометрией
СЭМ	– сканирующая электронная микроскопия
ТГА	– термогравиметрический анализ
УФ	– ультрафиолетовая спектроскопия
ЯМР- <sup>1</sup> H	– спектроскопия ядерного магнитного резонанса
MDCK	– Madin-Darby Canine Kidney
<i>Papp</i>	– коэффициент кажущейся проницаемости