

## Оценка безопасности и токсикокинетики препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях

В.М. Косман<sup>1</sup>, А.Ю. Романенко<sup>1</sup>, М.В. Карлина<sup>1</sup>, Н.М. Фаустова<sup>1</sup>, Е.В. Мазукина<sup>1</sup>,  
А.Н. Кузовлев<sup>2</sup>, А.В. Гречко<sup>2</sup>, Р.А. Черпаков<sup>2,3</sup>, М.Н. Макарова<sup>1</sup>, В.Г. Макаров<sup>1</sup>

Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»

188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г. п. Кузьмоловский, ул. Заводская, 3, к. 245

<sup>2</sup> Федеральний Научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии

141534, Московская обл., г. о. Солнечногорск, д. Лыткино, 777

<sup>3</sup> НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента Здравоохранения г. Москвы  
129090, г. Москва, Большая Сухаревская пл., 3

### Резюме

Соли лития давно применяют при лечении биполярного расстройства. Их высокий потенциал в качестве нейропротекторных средств при ишемиях головного мозга обуславливает актуальность доклинических исследований для регистрации новых лекарственных препаратов на их основе. Цель исследования – изучение токсических свойств и местной переносимости с оценкой токсикокинетики разрабатываемого препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях при многократном внутривенном введении. **Материал и методы.** Лития хлорид (раствор для внутривенного введения 4,2 %) вводили карликовым свиньям (контрольная и три экспериментальные группы животных по 3 самца и 3 самки) в течение 28 суток в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг. Оценивали общетоксические свойства, местнораздражающее действие и основные фармакокинетические параметры ( $C_{max}$ ,  $AUC_{0-24}$ ,  $MRT$ ,  $T_{1/2}$ ,  $V_{ss}$  и  $Cl$ ). Содержание ионов лития в сыворотке крови определяли колориметрическим методом с применением хинизарина. **Результаты и их обсуждение.** Выявлены токсические свойства препарата, выраженные в изменении клинического состояния (рвота после введения, угнетение поведения и отказ от корма), отрицательной динамике массы тела, клинико-лабораторных изменениях, укорочении интервала «QT», сопровождавшиеся отклонениями по результатам патоморфологического исследования (очаговая инфильтрация, с единичными очагами некроза почечных канальцев, очаги фиброза в почках, замещение ткани щитовидной железы жировой тканью). Признаков местнораздражающего действия тестируемого препарата не обнаружено. Для оценки параметров токсикокинетики разработана и валидирована биоаналитическая методика (калибровочный диапазон – от 0,17 до 5,45 мкг/мл), не уступающая по своим характеристикам коммерческим наборам реагентов. По результатам анализа биоматериала установлено отсутствие кумуляции лития в организме карликовых свиней при многократном применении тестируемого препарата. Выявлены дозы препарата, обеспечивающие токсические концентрации (выше 3 мкг/мл) в сыворотке крови карликовых свиней. Установлена доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL), составившая 12,6 мг/кг, и наименьшая доза, оказывающая нежелательный эффект (LOAEL) – 29,4 мг/кг. **Заключение.** Отмечена целесообразность комплексного подхода к рассмотрению токсических проявлений и токсикокинетики, включая аналитическую составляющую исследований такого рода. Полученные результаты необходимо принимать во внимание для оценки соотношения польза/риск при клиническом применении инъекционного препарата лития хлорида.

**Ключевые слова:** лития хлорид, многократное внутривенное введение, токсические свойства, местная переносимость, биоаналитическая методика, сыворотка крови, колориметрический метод с хинизарином.

**Конфликт интересов.** Существует потенциальный конфликт интересов в силу финансирования данной научной работы компанией ООО «ЭЮЦ Клиник». Однако при написании статьи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «ЭЮЦ Клиник», Россия в рамках реализации научно-исследовательской работы «Полиорганный дисфункциональный и недостаточность при критических состояниях – ведущие механизмы развития, новые методы диагностики и лечения», № FGWS-2022-0001, государственное задание № 075-00784-22-03.

**Автор для переписки:** Косман В.М., e-mail: kosmanvm@mail.ru

Для цитирования: Косман В.М., Романенко А.Ю., Карлина М.В., Фаустова Н.М., Мазукина Е.В., Кузовлев А.Н., Гречко А.В., Черпаков Р.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Оценка безопасности и токсикокинетики препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):114–127. doi: 10.18699/SSMJ20240611

## Evaluation of lithium chloride safety and toxicokinetics for injection in minipigs

V.M. Kosman<sup>1</sup>, A.Yu. Romanenko<sup>1</sup>, M.V. Karlina<sup>1</sup>, N.M. Faustova<sup>1</sup>, E.V. Mazukina<sup>1</sup>, A.N. Kuzovlev<sup>2</sup>, A.V. Grechko<sup>2</sup>, R.A. Cherpakov<sup>2,3</sup>, M.N. Makarova<sup>1</sup>, V.G. Makarov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research-and-manufacturing company “HOME OF PHARMACY”

188663, Leningrad region, Vsevolozhsky district, Kuzmolovsky urban-type settlement, Zavodskaya st., 3/245

<sup>2</sup> Federal Scientific and Clinical Center for Resuscitation and Rehabilitation

141534, Moscow region, Solnechnogorsk, Lytkino vlg., 777

<sup>3</sup> N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine

129090, Moscow, Bolshaya Sukharevskaya sq., 3

### Abstract

Lithium salts are known to treat bipolar disorder. Their high potential as neuroprotective agents in cerebral ischemia determines relevance for preclinical studies for the registration of new drugs based on them. Aim of the study was to investigate the toxic properties and local tolerability with an assessment of the toxicokinetics of the developed lithium chloride preparation for injection in dwarf pigs with repeated intravenous administration. **Material and methods.** Lithium chloride (solution, for intravenous administration 4.2 %) has been administered to minipigs (control and 3 experimental groups of animals of 3 males and 3 females) for 28 days at doses of 12.6; 29.4 and 63 mg/kg. General toxicity, local irritation, and basic pharmacokinetic parameters ( $C_{max}$ ,  $AUC_{0-24}$ , MRT,  $T_{1/2}$ ,  $V_{ss}$ , and Cl) were evaluated. Serum lithium ion concentration was estimated colorimetrically using quinizarin. **Results and discussion.** Toxic properties of the test drug were revealed, expressed in a change in the clinical state (vomiting after administration, inhibition of behavior and feed refusal), body weight negative dynamics, clinical and laboratory changes, shortening of the “QT” interval, accompanied by abnormalities according to the pathomorphological study results (focal infiltration with single renal tubular necrosis areas, kidneys fibrosis, replacement of thyroid tissue with adipose tissue). There were no signs of locally irritating effects of the test product. To evaluate toxicokinetic parameters, a bioanalytical assay (calibration range – from 0.17 to 5.45  $\mu\text{g/mL}$ ) was developed and validated, which is not inferior by its characteristics to the commercial reagent kits. According to the results of biomaterial analysis no lithium accumulation in the pig’s body was found with repeated use of the test drug. Doses of the drug that provide toxic concentrations of lithium (above 3  $\mu\text{g/ml}$ ) in the minipig’s serum were identified. The NOAEL was 12.6 mg/kg and the LOAEL was 29.4 mg/kg. **Conclusions.** The comprehensive approach to the consideration of toxic manifestations and toxicokinetics, including its analytical component of studies of this kind, was noted. The obtained results should be taken into account to assess the benefit/risk ratio in the clinical use of lithium chloride injection.

**Key words:** lithium chloride, repeated intravenous injection, toxicity, local tolerability, bioanalytical assay, serum, colorimetric method with quinizarin.

**Conflict of interest.** There is a potential conflict of interest due to the financial support of this study by JSC “EYTS Clinic”, Russia. However, when writing the article, the authors were guided by considerations of the scientific value of the material obtained; the authors declare their impartiality in its assessment.

**Financing.** The work was supported by JSC “EYTS Clinic”, Russia as part of the implementation of the research work “Multiple organ dysfunction and insufficiency in critical conditions – leading mechanisms of development, new methods of diagnosis and treatment”, № FGWS-2022-0001, state assignment № 075-00784-22-03.

**Correspondence author:** Kosman V.M., e-mail: kosmanvm@mail.ru

**Citation:** Kosman V.M., Romanenko A.Yu., Karlina M.V., Faustova N.M., Mazukina E.V., Kuzovlev A.N., Grechko A.V., Cherpakov R.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Evaluation of lithium chloride safety and toxicokinetics for injection in minipigs. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(6):114–127. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240611

## Введение

Соли лития являются одним из наиболее изученных препаратов для лечения биполярного расстройства. Уже более 50 лет в клинической практике используют лития хлорид, лития карбонат, лития оксидбутират и лития цитрат в качестве нормотимиков при различных аффективных расстройствах [1–2]. Отмечены и иные аспекты психотропной активности, в частности, ноотропные свойства ряда литийсодержащих соединений [3]. Вместе с тем литий, возможно, является потенциальным функциональным антагонистом ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ , обладает нейропротекторными свойствами при дисбалансе стресс-лимитирующих и стресс-реализующих систем, эксайтотоксичности и нейродегенеративных состояниях [4–6], перспективен для профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний (в первую очередь болезни Альцгеймера), поиска безопасных и эффективных его солей с использованием хемо-реактного анализа [7].

Отмечен высокий потенциал солей лития как нейропротекторов при ишемиях головного мозга [8–10]. Применение гипертонического раствора хлорида лития (4,2 %) при развитии отеков головного и спинного мозга на фоне инсульта, перенесенной травмы или в результате токсического повреждения приводило к значимому снижению отека нервной ткани и объему очага инфаркта, что способствовало дальнейшему благоприятному течению заболеваний [11]. Защитное действие 4,2%-го раствора лития хлорида в дозе 30 мг/кг в отношении кардиомиоцитов на модели инфаркта миокарда у крыс заключалось в уменьшении зоны инфаркта в сравнении с контрольными животными и, вероятно, было опосредовано практически двукратным ростом содержания фосфорилированной формы киназы гликогенсинтазы-3 $\beta$  в миокарде [12]. Применение хлорида лития в дозе 63 мг/кг на фоне моделирования ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга [13] снижало летальность, выраженность неврологического дефицита в остром периоде ишемического инсульта и может быть связано с влиянием на данную киназу. В случае COVID-19 отмечены пульмонопротекторные (цитопротекторные) эффекты применения карбоната лития, приводившие к значимому уменьшению вовлеченности легочной ткани в воспалительный процесс [14].

Установлена иммуномодулирующая роль хлорида лития в контексте воспалительных заболеваний [15]. Фосфорилирование GSK-3 $\beta$ , вероятно, является основным механизмом защиты эндотелия, благоприятные эффекты *in vitro* от-

мечены уже при использовании достаточно небольших концентраций (от 0,01 ммоль/л), способствовавших лучшей сохранности монослоя эндотелиоцитов [16–20]. Также применение раствора хлорида лития с концентрацией 3 мМ позволило сохранить уровень спонтанного апоптоза нейтрофилов, снижение которого на фоне системной воспалительной реакции является одним из основных факторов тканевого воспаления [21, 22].

В РФ и других странах ЕАЭС гипертонический раствор хлорида лития не зарегистрирован как лекарственный препарат. Одним из необходимых этапов для регистрации лекарственного препарата является доклиническая оценка его безопасности, фармако- и токсикокинетики, что особенно актуально с учетом узкого терапевтического окна, характерного для препаратов лития [2]. Целью данного исследования являлось изучение токсических свойств и местной переносимости с оценкой токсикокинетики разрабатываемого препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях при многократном внутривенном введении.

## Материал и методы

Все исследования выполнены в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, одобрены на заседании биоэтической комиссии НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (протокол № 1.23/22 от 01.06.2022).

## Животные

В эксперименте использованы карликовые свиньи обоих полов (питомник АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») в возрасте около 1,5–3,5 года. Животных содержали в стандартных условиях согласно регуляторным документам (директиве 2010/63/EU, санитарно-эпидемиологическим правилам СП 2.2.1.3218-14). Животные получали корм (по ГОСТ Р 52255-2004) с добавлением воды (влажный тип кормления) и докорм; были лишены утренней порции корма перед проведением наркотизации для ЭКГ и эвтаназией.

## Тестируемый препарат, способ введения и выбор доз

В работе тестировался лития хлорид, раствор для внутривенного введения 4,2 % (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Россия, стадия фармацевтической разработки). Согласно патенту [11], максимальная доза гипертонического раствора соли лития – 4 мл/кг 4,2 % раствора (168 мг/кг соли лития). Максимальный объем однократного

струйного внутривенного введения карликовым свиньям составил 2,5 мл/кг (105 мг/кг, доза была принята за максимальную). По результатам плотного исследования для основного эксперимента выбраны дозы 63 мг/кг (1,5 мл/кг), 29,4 мг/кг (0,7 мл/кг) и 12,6 мг/кг (0,3 мл/кг).

#### Дизайн исследования по оценке безопасности

В основу положены актуальные биоэтические нормы и ключевые принципы «3R», направленные на минимизацию количества животных, что определило комплексный характер эксперимента, по ряду элементов аналогичный исследованиям со схожими целями и задачами (например, [23–25]).

В исследовании участвовали четыре группы животных (по три самца и три самки в каждой группе), которые получали тестируемый препарат в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг соответственно (группы 2, 3 и 4) 1 раз/сут в течение 28 сут ежедневно. Два животных из экспериментальной группы, получавших тестируемый препарат в максимальной дозе (группа 4), были на отсроченном наблюдении (28 сут). Контрольные животные (группа 1) получали внутривенно носитель (натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9 %, ООО «Мосфарм», Россия) в объеме, соответствующем объему введения максимальной дозы тестируемого препарата.

Клиническое наблюдение за животными, направленное на регистрацию развития сроков интоксикации, проводили ежедневно в течение часа с момента введения исследуемого объекта, клинический осмотр и взвешивание (весы платформенные, электронные ВПА-100-1, ЗАО «ВИК «Тензо-М», Россия) – еженедельно. До начала эксперимента (–1 день), на 28-е и 55-е сутки у животных забирали кровь для выполнения клинического анализа (гематологический анализатор Mythic 18 Vet (Orphee SA, Швейцария), измерения параметров гемостаза (коагулометр АПГ4-02-П, ООО «ЭМКО», Россия, определяли протромбиновое время и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)) и биохимических показателей (биохимический анализатор Random Access A-25, BioSystems, Испания, реагенты фирмы BioSystems) [22–24]. Качественный физико-химический состав мочи, отобранной с помощью пункции мочевого пузыря при эвтаназии на 29-е и 56-е сутки, исследовали по содержанию крови, белка, глюкозы, билирубина, относительной плотности (рефрактометр АМТАСТ VUR3T, АМТАСТ, США) и pH (диагностические тест-полоски, DF, Китай). Параметры ЭКГ, частоту сердечных сокращений определяли до введения, на 27-е и на 54-е сутки (по окончании периода отсроченного наблюдения). Животных предвари-

тельно наркотизировали и регистрировали ЭКГ (компьютерный электрокардиограф для ветеринарии «Поли-спектр-8В», ООО «Нейрософт», Россия) в течение одной минуты (анализировали в отведении II). Оценивали частоту сердечных сокращений, RR, P, PQ, QRS, QT.

Всех животных групп 1–3, а также трех самцов и три самки из группы 4 выводили из эксперимента на 29-е сутки, оставшихся (двух самцов из группы 4) – на 56-е сутки, эвтаназию осуществляли оглушением электрическим разрядом с последующим перерезанием основных магистральных сосудов. Патоморфологическое исследование всех экспериментальных животных включало некропсию – оценку внешних патологических признаков, состояние грудной и брюшной полости, макро- и микроскопическое исследование внутренних органов. Для оценки местной переносимости (местнораздражающего действия) исследуемого объекта в ходе клинического осмотра и некропсии визуально оценивали состояние кожных покровов (покраснение, отечность, изменение цвета) в месте введения и тканей, непосредственно контактировавших с ним (краевой вены уха) при гистологическом исследовании.

#### Токсикокинетическое исследование

Фармакокинетические параметры оценивали в крови у всех животных. Образцы крови забирали в первый и последний дни введения исследуемого объекта (с помощью катетера, предварительно установленного в яремную вену) в объеме 1,0 мл на точку экспозиции в 10 временных точках (0 мин или до введения, через 5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч и 24 ч после введения) в пробирки с активатором свертывания и разделительным гелем, образцы центрифугировали (15 мин при 3000 об/мин, 1480 g, «Дастан», Киргизия) для получения сыворотки.

Определение содержания лития в сыворотке крови карликовых свиней выполнено колориметрическим методом по специально разработанной и валидированной биоаналитической методике. Для выполнения анализа готовили калибровочные растворы с концентрацией ионов лития 5,45, 2,73, 1,56, 0,68, 0,34, 0,17 и 0 мкг/мл ионов лития. Для оценки валидационных параметров использовали образцы для контроля качества (КК) (модельные смеси, полученные на основе сыворотки крови интактных животных) четырех уровней концентраций ионов лития, которые готовили независимо от калибровочных образцов, используя предварительно приготовленные сток-растворы ионов лития.

При измерении содержания лития в лунки глубоколоночного планшета (Aligmed Techno, Бе-

лоруссия) вносили предварительно приготовленную реакционную смесь (содержащую раствор гидроксида натрия, раствор карбоната натрия и воду очищенную), каждый из калибровочных растворов, образцов для КК или анализируемых образцов (экспериментальные пробы сыворотки крови предварительно разводили водой очищенной) и раствор диметилсульфоксида. Содержимое планшетов перемешивали на термостагируемом шейкере ST-3L (ELMI, Латвия) 2 мин при 600 об/мин, вносили во все лунки раствор хинизарина и инкубировали 30 мин при температуре 25 °С и перемешивании 600 об/мин на шейкере ST-3L. Затем содержимое каждой лунки в дублях переносили в планшет для детекции (Aptasa, Италия) и измеряли оптическую плотность при длине волны 601 нм (многофункциональный микропланшетный анализатор CLARIOstar, BMG Labtech, ФРГ). Для расчета использовали программное обеспечение Microsoft Office Excel с построением зависимостей оптических плотностей растворов от концентрации ионов лития в сыворотке крови, линеаризованных с применением десятичного логарифма концентрации

#### Анализ данных

Для всех данных применена описательная статистика: рассчитаны среднее значение (M), стандартная ошибка среднего (SEM), стандартное отклонение (SD). В связи с малой выборкой животных оценку экспериментальных данных при оценке токсичности проводили без статистического анализа, полученные показатели сравнивали с группой контроля, референсными показателями или исходными данными (фоновые значения, при их наличии).

Поскольку анализ является биогенным элементом, значения концентраций, полученные в «нулевой» точке (базовый уровень), вычитали из значений на всех остальных временных точках. Параметры фармакокинетики ( $C_{max}$ , AUC, MRT,  $T_{1/2}$ , Cl, Vss) рассчитаны внемодельным методом статистических моментов [26] с использованием валидированного приложения PKSolver для Microsoft Office Excel. Межгрупповые различия анализировали параметрическими (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, критерий Тьюки) или непараметрическими (критерий Краскела – Уоллиса) методами в зависимости от типа распределения данных. Для статистической оценки различий между фармакокинетическими параметрами в первый и последний дни введения в одной дозе для каждой из исследованных доз применены параметрические (двухвыборочный t-тест для средних) и непараметрические (тест Манна – Уитни) методы в зависимости от типа распределения дан-

ных. Различия определены при уровне значимости  $p < 0,05$ . Статистический анализ выполнен с помощью лицензированного программного обеспечения (GraphPad Prism 9, GraphPad Software, США).

## Результаты

### Токсические свойства

По результатам клинических наблюдений и осмотров признаки интоксикации у свиней зарегистрированы преимущественно при введении максимальной (63 мг/кг) дозы тестируемого препарата, наблюдали рвоту (после введения), угнетение поведения и отказ от корма. Встречаемость угнетения поведения выросла к концу периода введения и зарегистрирована почти у всех животных. На 15-й и 21-й день пало по одной самке из группы, получавшей максимальную дозу исследуемого препарата, непосредственной причиной смерти стала острая сердечная недостаточность. В период отсроченного наблюдения у самцов, получавших тестируемый препарат в максимальной дозе, клинически значимых отклонений в поведении и состоянии здоровья не зарегистрировано. На протяжении всего периода введения масса тела животных всех групп снижалась, наиболее выражено – в группе 4 (в группах 1–3 – на 4–6 %, в группе 4 – на 10–13 %). В период отсроченного наблюдения у животных продолжали регистрировать отрицательную динамику массы тела.

Изменения гематологических показателей для всех животных не выходили за пределы значений референсных интервалов [27], их не рассматривали как клинически значимые и связанные с токсическим действием тестируемого препарата. Протромбиновое время находилось в пределах физиологической нормы (10,6–18,1 с); величина АЧТВ по окончании введений в группах 3 и 4 составляла 114–142 % относительно исходных данных и незначительно выходила за пределы физиологической нормы (9,0–17,8 с). По окончании периода отсроченного наблюдения изменений не выявлено, показатели находились в рамках физиологической нормы. На 28-й день отмечено изменение активности щелочной фосфатазы во всех группах относительно исходного уровня. Поскольку аналогичные изменения отмечены в группе контроля, показатели не выходили за пределы референсных значений [27], их не рассматривали как клинически значимые и связанные с токсическим действием тестируемого препарата. В период отсроченного наблюдения изменений не выявлено, показатели не выходили за рамки физиологической нормы. По окончании периода введения у самцов групп 3 и 4 белок в

моче встречался чаще (по результатам качественных реакций) и его содержание было больше (табл. 1), чем в группе 1 (для самок отличий по белку не выявлено). Остальные показатели не отличались от данных контрольной группы и физиологической нормы [27].

Тестируемый препарат не оказал клинически значимого влияния на показатели ЭКГ по окончании как периода введения, так и периода отсроченного наблюдения, за исключением укорочения интервала QT у самок группы 4 на 21 % по отношению к исходным данным. Влияния тестируемого препарата на массовые коэффициенты органов (сердце, легкие с трахеей, тимус, печень, селезенка, почки, надпочечники, головной мозг, семенники, яичники) не зарегистрировано. По результатам патоморфологического исследования выявлены очаговая инфильтрация с единичными очагами некроза почечных канальцев, очаги фиброза в почках, замещение ткани щитовидной железы жировой тканью. По данным патолого-анатомического и гистологического исследования установлено отсутствие местнораздражающего действия тестируемого препарата. По совокупности данных установлена доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL), которая составила 12,6 мг/кг (0,3 мл/кг), и наименьшая доза, оказывающая нежелательный эффект (LOAEL), – 29,4 мг/кг (0,7 мл/кг).

### Разработка и валидация методики количественного определения лития в сыворотке крови

Для количественного определения ионов лития в различных объектах могут быть использованы атомно-эмиссионная спектроскопия (пламенно-эмиссионная фотометрия) ([1], ПНДФ 14.1:2:4.138-9), масс-спектрометрия с индуктивно-связанной аргонной плазмой (ИСП-МС), атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС), спектрофотометрия, колориметрия, флуориметрия, капиллярный электрофорез [28]. Литий является объектом лекарственного мониторинга, необходимого для обеспечения эффективности и безопасности фармакотерапии [6, 29]. В клинических лабораториях для этого используют методы ИСП-МС или ААС, предусматривающие наличие специального оборудования и имеющие ряд недостатков [28]. Альтернативным вариантом является применение специальных наборов реагентов, основанных преимущественно на колориметрических реакциях (например, патент [30], наборы (Lithium Assay Kit (Colorimetric), ab235613, Abcam, Великобритания; Lithium Assay Kit, Merck, США), работы [28, 31, 32]). В связи со сложностями поставки в РФ и высокой стоимостью коммерческих наборов реагентов нами использован колориметрический метод определения содержания ионов лития с хинизарином в щелочной среде в присутствии диметилсульфоксида [31, 33], для

**Таблица 1.** Показатели общего анализа мочи самцов карликовых свиней по окончании периода введения тестируемого препарата

**Table 1.** Male minipig's urinalysis parameters values at the end of the test drug administration period

Доза, мг/кг	Номер животного	Исследуемые показатели			
		Относительная плотность, г/мл	pH	Наличие белка	Содержание белка, мг/дл
0	1.1	1,060	6,75	– <sup>1</sup>	17,39
	1.2	1,020	6,5	++	86,07
	1.3	1,024	6,75	–	77,22
	M ± SEM	1,035 ± 0,013	6,67 ± 0,08		60,22 ± 21,57
12,6	2.1	1,082	6,75	–	17,56
	2.2	1,042	6,25	+++	361,69
	2.3	1,048	7,0	–	39,96
	M ± SEM	1,057 ± 0,012	6,67 ± 0,22		139,74 ± 111,17
29,4	3.1	1,080	6,5	+++	500,00
	3.2	1,054	6,5	+++	413,29
	3.3	1,038	6,75	–	72,277
	M ± SEM	1,057 ± 0,012	6,58 ± 0,08		328,52 ± 130,55
63	4.1	1,048	6,75	++	195,54
	4.2	1,038	5,75	++	142,55
	4.3	1,044	6,75	+++	500,00
	M ± SEM	1,043 ± 0,003	6,42 ± 0,33		279,36 ± 111,37

**Примечание.** Знаком «–» обозначен отрицательный результат, знаком «+» – положительный.

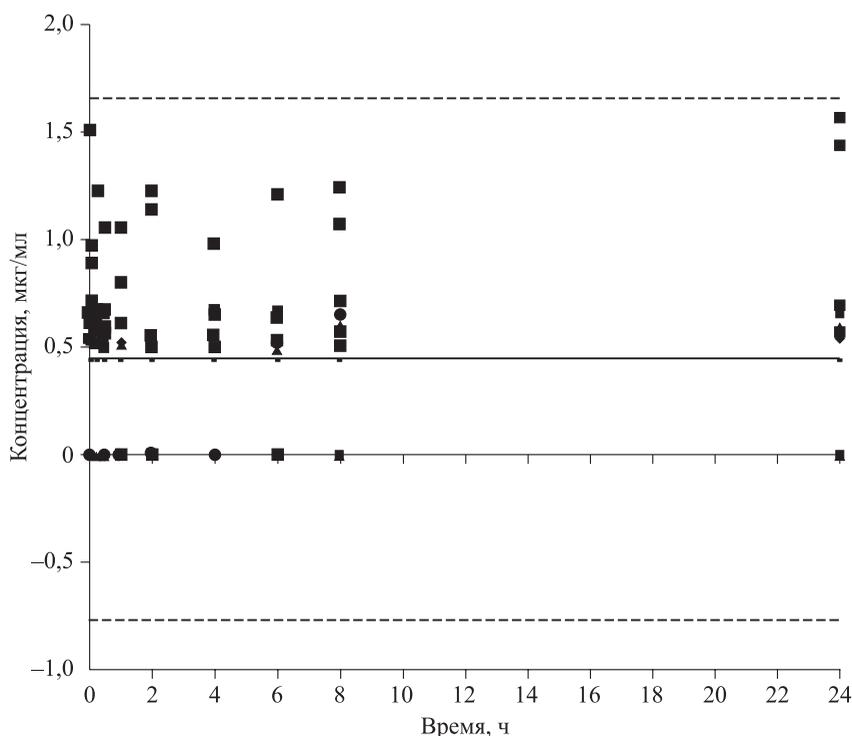
которого нижний предел количественного определения (НПКО) аналита (0,17 мкг/мл) и калибровочный диапазон (от 0,17 до 5,45 мкг/мл, соответствует диапазону 0,51–16,35 мкг/мл с учетом экспериментально установленного минимально необходимого разведения [34] в 3 раза) не уступали характеристикам коммерческих наборов реагентов (линейный диапазон от 0,1 до 2 ммоль/л лития в сыворотке крови человека (Lithium Assay Kit (Colorimetric), ab235613) соответствует диапазону 0,69–13,8 мкг/мл).

Методика определения лития в сыворотке крови карликовых свиней валидирована в соответствии с рекомендациями [35–37]. По результатам валидационных испытаний сделано заключение о селективности валидируемой методики, установлен ее калибровочный диапазон и НПКО, правильность (точность) и прецизионность внутри цикла и между циклами соответствовали требованиям регуляторных документов [35–37]. Ионы лития стабильны в сыворотке крови карликовых свиней при температуре 2–8 °С в течение не менее 48 ч и в условиях заморозки ниже –18 °С (не менее 14 дней), показана возможность разбавления проб перед анализом в 3–10 раз.

### Оценка токсикокинетики

Литий был обнаружен в пробах, полученных до введения исследуемого препарата, а также на всех временных точках для животных группы 1, поскольку он является биогенным элементом. Среднее содержание лития в различных органах человека может составлять: в лимфоузлах – 200 мкг/г, в легких – 60 мкг/г, в печени – 7 мкг/г, в цельной крови – 6 мкг/г, в головном мозге – 4 мкг/г [38], в малых количествах обнаружен также в щитовидной железе, сердце, кишечнике, мышцах; выводится из организма преимущественно с мочой (до 95 %). Эндогенный уровень лития в сыворотке крови карликовых свиней составил 0,35–0,70 мкг/мл в первый день эксперимента и 0,18–0,50 мкг/мл в день последнего введения тестируемого препарата.

Для группы 1 результаты объединены для однократного и многократного введения и представлены в форме контрольной карты [39], свидетельствующей, что изменения полученных значений концентрации лития носили характер колебаний вокруг одного уровня (рисунок), что подтверждало отсутствие контаминации проб в проведенном исследовании. Для тестируемого



Контрольная карта содержания лития в плазме крови карликовых свиней после однократного и многократного введения контрольного вещества ( $n = 6+6$ , средняя линия соответствует среднему значению, верхняя и нижняя пунктирные линии – верхней и нижней контрольной границе, определяемой как  $\pm 3SD$ )

Control card of Lithium mini-pig's plasma content after single and repeated control substance administration ( $n = 6+6$ , the middle line corresponds to the middle value, the upper and lower dashed lines correspond to the upper and lower reference boundaries defined as  $\pm 3SD$ )

препарата в исследованных дозах после однократного и многократного внутривенного введения наблюдали схожую форму фармакокинетической кривой, характерную для лекарственных препаратов, вводимых внутривенно.

После однократного введения препарата в трех дозах (табл. 2) обнаружены статистически значимые отличия параметра  $AUC_{0-24}$  (для доз 29,4 и 63 мг/кг), параметра  $C_{max}$  (для доз 12,6 и 29,4 мг/кг от дозы 63 мг/кг), параметров  $V_{ss}$  и  $Cl$  (для дозы 12,6 мг/кг от доз 29,4 и 63 мг/кг); параметры  $MRT$  и  $T_{1/2}$  не имели статистически значимых отличий в зависимости от введенной дозы. Выявленные отличия могут быть связаны с индивидуальными особенностями животных и, вероятно, не будут иметь клинической значимости. Основные фармакокинетические данные лития после многократного введения препарата в трех дозах (см. табл. 2) не имели статистически значимых отличий в зависимости от введенной дозы. При сопоставлении фармакокинетических данных, полученных после однократного и многократного введения тестируемого препарата в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг, не выявлено статистически значимых отличий ни для одного из оцениваемых параметров (кроме параметра  $C_{max}$  для дозы 29,4 мг/кг). Учитывая отсутствие значимых отличий по другим параметрам, этот факт, вероятно, не будет иметь клинической значимости.

В целом при многократном введении исследованного препарата в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг средние максимальные концентрации лития в сыворотке крови карликовых свиней составили около 2,6–14,7 мкг/мл. При сопоставлении данных по содержанию ионов лития в сыворотке крови и отмеченным признакам токсического действия препарата у каждого животного сделан вывод, что в концентрации более 3 мкг/мл они могут оказывать токсическое действие на организм. По дан-

ным [6, 40], токсичным для организма человека является уровень лития в крови выше 1,2 ммоль/л (8,26 мкг/мл), наступление смерти возможно при его содержании более 2 ммоль/л (13,8 мкг/мл); при многолетней литиевой терапии биполярного расстройства в дозах, обеспечивающих концентрацию лития 0,5–0,8 ммоль/л (3,45–5,52 мкг/мл), появляются хронические проблемы с функцией почек, щитовидной и паращитовидной железы. Поскольку побочные эффекты терапии литием у человека можно наблюдать уже при терапевтической концентрации, до начала лечения и после шести месяцев терапии рекомендована оценка функции почек, щитовидной железы, уровня кальция в крови, массы тела и ЭКГ [6] из-за того, что литий способен снижать реабсорбцию натрия (влечет снижение почечной функции и повышение содержания лития в организме) и повышать реабсорбцию кальция (гиперакальциемия активирует синтез паратиреоидного гормона); частым побочным эффектом терапии литием является увеличение уровня тиреоидных аутоантител с развитием как тиреотоксикоза, так и гипотиреоза [41].

Эти направления возможного токсического действия были в фокусе нашего исследования и их проявления (например, повышение белка в моче, свидетельствующее о потенциальном нарушении функции почек, изменение интервала QT, которое может быть индикатором работы сердца, сопровождаемые увеличением уровня лития в крови по сравнению с нативным) были зафиксированы при оценке токсических свойств, местной переносимости и токсикокинетики разрабатываемого препарата. В предыдущих исследованиях фармакокинетики лития [42, 43] изучены преимущественно лекарственные формы для перорального применения и терапии биполярных расстройств. Отметим, что в период активных исследований препаратов лития (примерно во второй половине

**Таблица 2.** Показатели фармакокинетики лития в сыворотке крови карликовых свиней после однократного и многократного (28 дней) внутривенного введения тестируемого препарата в различных дозах ( $n = 6, M \pm SD$ )

**Table 2.** Mini-pig serum lithium pharmacokinetics after single and repeated (28 days) intravenous test drug application in various doses ( $n = 6, M \pm SD$ )

Доза, мг/кг	$C_{max}$ , мкг/мл	$AUC_{0-24}$ , ч×мкг/мл	$V_{ss}$ , мл/кг	$MRT$ , ч	$T_{1/2}$ , ч	$Cl$ , мл/кг×ч
1-е введение						
12,6	2,6 ± 0,4	9,1 ± 5,6	12,8 ± 10,3	15,2 ± 16,4	11,1 ± 13,0	1,2 ± 0,7
29,4	2,9 ± 0,5	6,3 ± 3,1	20,8 ± 6,0	4,8 ± 2,9	3,6 ± 1,9	5,3 ± 2,9
63,0	7,5 ± 4,3	15,5 ± 6,9	38,1 ± 14,8	11,2 ± 4,9	8,5 ± 2,6	4,1 ± 2,8
28-е введение						
12,6	11,7 ± 21,7	9,5 ± 8,1	9,7 ± 6,6	9,4 ± 12,3	7,0 ± 9,1	1,8 ± 1,6
29,4	11,5 ± 9,2	9,0 ± 3,4	11,7 ± 1,9	0,7 ± 1,5	2,0 ± 1,7	3,5 ± 2,7
63,0	14,7 ± 20,5	15,5 ± 9,4	23,2 ± 9,9	5,6 ± 3,6	5,3 ± 3,3	5,2 ± 3,8

XX в.) свиньи были в числе лабораторных моделей изучения токсичности и фармакокинетики, что позволило получить данные, близкие результатам у человека [44, 45]. Это является дополнительным свидетельством релевантности тест-системы, выбранной в данном исследовании.

По результатам проведенного исследования выявлены токсические свойства тестируемого препарата хлорида лития, выраженные в изменении клинического состояния (рвота после введения, угнетение поведения и отказ от корма), отрицательной динамике массы тела, клинико-лабораторных изменениях (удлинение АЧТВ, повышение содержания белка в моче самцов), укорочении интервала QT. При патоморфологическом исследовании по окончании периода введения обнаружены очаговая инфильтрация с единичными очагами некроза почечных канальцев, очаги фиброза в почках, замещение ткани щитовидной железы жировой тканью. Признаков местнораздражающего действия тестируемого препарата не установлено.

Оценены параметры токсикокинетики действующего вещества после однократного и многократного введения карликовым свиньям инъекционного препарата лития хлорида. Не выявлено контаминации проб, полученных от животных контрольной группы; не установлено кумуляции лития в организме карликовых свиней при многократном применении тестируемого препарата. Средние максимальные концентрации лития в сыворотке крови карликовых свиней при многократном введении исследованного препарата составили около 2,6–14,7 мкг/мл; концентрация лития более 3 мкг/мл может быть отнесена к токсической, поскольку у животных в ходе эксперимента наблюдали токсические проявления. По совокупности данных установлена доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL), – 12,6 мг/кг (0,3 мл/кг), и наименьшая доза, оказывающая нежелательный эффект (LOAEL), – 29,4 мг/кг (0,7 мл/кг).

### Заключение

Данная работа иллюстрирует целесообразность комплексного подхода к исследованиям токсичности и безопасности разрабатываемых лекарственных средств, поскольку изучение токсикокинетики, включая ее аналитическую составляющую (биоаналитическую методику), является составной частью исследований такого рода. Полученные результаты целесообразно принимать во внимание для оценки соотношения польза/риск при клиническом применении инъекционного препарата лития хлорида.

### Список литературы

1. Королев М.А., Коненков В.И., Рачковская Л.Н., Ершов К.И., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Бахарева К.И., Мадонов П.Г. Изучение фармакокинетических параметров нового нормотимического лекарственного средства на основе комплекса цитрата лития, оксида алюминия и полиметилсилоксана. *Сиб. науч. мед. ж.* 2019;39(6):14–21. doi: 10.15372/SSMJ20190602
2. Королев М.А., Рачковская Л.Н., Мадонов П.Г., Шурлыгина А.В., Рачковский Э.Э., Летягин А.Ю., Коненков В.И., Чурин А.А., Дубская Т.Ю., Ветошкина Т.В., Сандрикина Л.А., Фомина Т.И., Федорова Е.П. Оценка острой токсичности лекарственного средства на основе комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана, оксида алюминия. *Сиб. науч. мед. ж.* 2020;40(5):46–52. doi: 10.15372/SSMJ20200505
3. Шилов Г.Н., Шабанов П.Д., Шадыро О.И. Когнитивный и противогипоксический компоненты в ноотропном эффекте Li-солей основных тормозных аминокислот в сравнении с антигипоксантами с пирокатехиновой структурой. *Мед. новости.* 2017;(3):58–61.
4. Архипов В.И., Капралова М.В., Першина Е.В. Эксайтотоксичность и экспериментальные подходы к нейропротекции. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2013;(5):486.
5. Беленичев И.Ф., Черний В.И., Нагорная Е.А., Павлов С.В., Черний Т.В., Горчакова Н.А., Бухтиярова Н.В., Андропова И.А., Кучеренко Л.И. Нейропротекция и нейропластичность. Киев: Полиграф плюс, 2014. 512 с.
6. Лосенков И.С., Плотников Е.В., Епимахова Е.В., Бохан Н.А. Литий в психофармакологии аффективных расстройств и механизмы его эффектов на клеточную физиологию. *Ж. неврол. и психиатрии.* 2020;120(11):108–115. doi: 10.17116/jnevro202012011108
7. Гоголева И.В., Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р., Пронин А.В. Нейробиологическая роль солей лития. *Ж. неврол. и психиатрии.* 2022; 122(11):17–23. doi: 10.17116/jnevro20221221117
8. Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В. Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общ. реаниматол.* 2013;9(1):63. doi: 10.15360/1813-9779-2013-1-63
9. Пронин А.В., Громова О.А., Торшин И.Ю., Стельмашук Е.В., Александрова О.П., Генрихс Е.Е., Хаспеков Л.Г. О нейропротективных свойствах солей лития в условиях глутаматного стресса. *Неврол., нейропсихиатрия, психосоматика.* 2017;

9(3):111–119. doi:10.14412/2074-2711-2017-3-111-119

10. Черпаков Р.А., Гребенчиков О.А. Влияние концентрации хлорида лития на его нейротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс. *Общ. реаниматол.* 2021;17(5):101–110. doi: 10.15360/1813-9779-2021-5-101-110

11. Плотников Е.Ю., Зоров Д.Б., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В., Силачев Д.Н., Мороз В.В. Лечение отеков головного и спинного мозга ишемического, травматического токсического и инфекционного генеза с помощью гипертонического раствора солей лития. Пат. 021560В1 ЕА. Опубл. 30.07.2015.

12. Гребенчиков О.А., Лобанов А.В., Шайхутдинова Э.Р., Кузовлев А.Н., Ершов А.В., Лихванцев В.В. Кардиопротекторные свойства хлорида лития на модели инфаркта миокарда у крыс. *Патол. кровообращения и кардиохирургия.* 2019;23(2):43–49. [In Russian]. doi: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49

13. Гребенчиков О.А., Черпаков Р.А., Евсеев А.К., Ершов А.В., Кузовлев А.Н., Лончинский П.А., Петриков С.С., Шабанов А.К. Влияние хлорида лития на летальность и неврологический дефицит при ишемическом инсульте у крыс. *Неотлож. мед. помощь.* 2021;10(4):676–686. doi: 10.23934/2223-9022-2021-10-4-676-686

14. Гребенчиков О.А., Кузовлев А.Н., Баева А.А. О перспективах применения лития хлорида при новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Анестезиол. и реаниматол.* 2020;6(2):40–44. doi: 10.17116/anaesthesiology202006240

15. Raghavendra P.B., Lee E., Parameswaran N. Regulation of macrophage biology by lithium: a new look at an old drug. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2014;9(3):277–284. doi: 10.1007/s11481-013-9516-y

16. Doeppner T.R., Kaltwasser B., Sanchez-Mendoza E.H., Caglayan A.B., Bähr M., Hermann D.M. Lithium-induced neuroprotection in stroke involves increased miR-124 expression, reduced RE1-silencing transcription factor abundance and decreased protein deubiquitination by GSK3 $\beta$  inhibition-independent pathways. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2017;37(3):914–926. doi: 10.1177/0271678X16647738

17. Taliyan R., Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemia reperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3 $\beta$ . *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 2016;36(4):402–410. doi: 10.3109/10799893.2015.1108338

18. Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Мешков М.А., Долгих В.Т., Прокофьев М.Д., Шпичко Н.П., Ершов А.В. Влияние хлорида лития на эндотелиоциты при синдроме системной воспалительной реакции у пациентов с тяжелой сочетанной травмой. *Вестн. интенсив. терапии.* 2020;(3):115–121. doi: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121

19. Гребенчиков О.А., Долгих В.Т., Прокофьев М.Д., Касаткина И.С., Ершов А.В. Протективный эффект лития хлорида на эндотелиоциты при септическом шоке. *Общ. реаниматол.* 2020;16(3):94–105. doi: 10.15360/1813-9779-2020-3-94-105

20. Черпаков Р.А., Кузовлев А.Н., Макаревич Д.Г., Лобанов А.В., Ершов А.В., Гребенчиков О.А. Влияние различных концентраций хлорида лития на уровень p-GSK-3 $\beta$  в модели ишемического инсульта. *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* 2021;65(4):26–33. doi: 10.25557/0031-2991.2021.04.26-33

21. Гребенчиков О.А., Касаткина И.С., Каданцева К.К., Мешков М.А., Баева А.А. Влияние лития хлорида на активацию нейтрофилов под действием сыворотки пациентов с септическим шоком (экспериментальное исследование). *Общ. реаниматол.* 2020;16(5):45–55. doi: 10.15360/1813-9779-2020-5-45-55

22. Гребенчиков О.А., Касаткина И.С., Кузовлев А.Н., Лобанов А.В., Ершов А.В. Влияние хлорида лития на активацию нейтрофилов при развитии синдрома системного воспалительного ответа у пациентов после операций на сердце с использованием аппарата искусственного кровообращения. *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* 2020;64(4):47–53. doi: 10.25557/0031-2991.2020.04.47-53

23. Мазукина Е.В., Шекунова Е.В., Косман В.М., Уракова И.Н., Котельникова И.Г., Фонарев М.Ю., Ежова Е.А., Закалюкина Е.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Изучение эффективности и безопасности препарата Хондроитин сульфат в доклинических исследованиях. *Безопасность и риск фармакотерапии.* 2021;9(1):43–57. doi: 10.30895/2312-7821-2021-9-1-43-57

24. Вавилова В.А., Шекунова Е.В., Джайн Е.А., Балабаньян В.Ю., Озеров А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Экспериментальное изучение токсических свойств препарата VMU-2012-05 – оригинального нуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы ВИЧ-1. *Фармация и фармакол.* 2021;9(3):205–221. doi:10.19163/2307-9266-2021-9-3-205-221

25. Косман В.М., Карлина М.В., Мазукина Е.В., Глобенко А.А., Джайн Е.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Изучение безопасности и токсикокинетики препарата эзомепразол в доклинических исследованиях. *Безопасность и риск фармакотерапии.* 2023;11(2):176–190. doi:10.30895/2312-7821-2023-11-2-342

26. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2010;99(3):306–314. doi: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007

27. Swine in the laboratory: surgery, anesthesia, imaging, and experimental techniques. Eds.: M.M. Swindle, A.C. Smith. Boca Raton: CRC press, 2007. 496 p.
28. Sheikh M., Qassem M., Triantis I.F., Kyriacou P.A. Advances in therapeutic monitoring of lithium in the management of bipolar disorder. *Sensors (Basel)*. 2022;22(3):736. doi: 10.3390/s22030736
29. Nederlof M., Heerdink E.R., Egberts A.C.G., Wilting I., Stoker L.J., Hoekstra R., Kupka R.W. Monitoring of patients treated with lithium for bipolar disorder: an international survey. *Int. J. Bipolar Disord.* 2018;6(1):12. doi: 10.1186/s40345-018-0120-1
30. Ивабути Е., Одасима Ц. Композиции реактивов для определения лития и способ и устройство для определения количества ионов лития с ее использованием. Пат. JP2012087928A/RU2014144680. Оpubл. 20.12.2015.
31. Qassem M., Hickey M., Kyriacou P.A. Colorimetric determinations of lithium levels in drop-volumes of human plasma for monitoring patients with bipolar mood disorder. *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2016;2016:5160–5163. doi: 10.1109/EMBC.2016.7591889
32. Kim J.H., Diamond D., Lau K.T. Development of portable device for monitoring the lithium level from bipolar disorder patients. *2011 5th International Conference on Pervasive Computing Technologies for Healthcare (PervasiveHealth) and Workshops: proc. conf.*, 23–26 May 2011. Dublin. 2011. P. 230–233.
33. Gracia L.G., Rodríguez L.C., Ceba M.R. Spectrophotometric determination of lithium with quinizarin in drugs and serum. *Talanta*. 1997;44(1):75–83. doi: 10.1016/s0039-9140(96)02018-8
34. Карлина М.В., Косман В.М., Абрамович Р.А., Арчакова О.А., Барыбина Т.Н., Власенко Ю.В., Гузевых Л.С., Ковалева Е.Л., Корель А.В., Кошиц Д.В., ... Тулегенова А.У. Риск-ориентированный подход к созданию лекарственного препарата. В кн.: *Консультант GLP-Planet 2023. Мнение фармацевтической отрасли*. СПб.: Дом Фармации, 2023. С. 47–74.
35. Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine 2018:41.
36. Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London: Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2011. P. 22.
37. Решение Совета ЕЭК № 85 от 03.11.16 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Приложение № 6 «Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов». 2016. Режим доступа: <https://www.alt.ru/tamdoc/16sr0085/>
38. Бочкарева И.И., Дьякова И.Н. Роль биогенных элементов в организме человека и применение их в медицине и фармации: учебное пособие для студентов фармацевтического факультета. Майкоп: Качество, 2016. 127 с.
39. ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015. Статистические методы. Контрольные карты. Контрольные карты Шухарта. 2015. 46 с.
40. Jakobsson E., Argüello-Miranda O., Chiu S.W., Fazal Z., Kruczek J., Nunez-Corrales S., Pandit S., Pritchett L. Towards a unified understanding of lithium action in basic biology and its significance for applied biology. *J. Membr. Biol.* 2017;250(6):587–604. doi: 10.1007/s00232-017-9998-2
41. Fairbrother F., Petzl N., Scott J., Kisely S. Lithium can cause hyperthyroidism as well as hypothyroidism: A systematic review of an under-recognised association. *Aust. N. Z. J. Psychiatry*. 2019;53(5):384–402. doi: 10.1177/0004867419833171
42. Wen J., Sawmiller D., Wheeldon B., Tan J. A review for lithium: pharmacokinetics, drug design, and toxicity. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2019;18(10):769–778. doi: 10.2174/1871527318666191114095249
43. Couffignal C., Chevillard L., El Balkhi S., Cisternino S., Declèves X. The pharmacokinetics of lithium. In book: *The Science and Practice of Lithium Therapy*. Springer: Cham, 2017. P. 25–53. doi: 10.1007/978-3-319-45923-3\_2
44. McGlone J.J., Kelley K.W., Gaskins C.T. Lithium and porcine aggression. *J. Anim. Sci.* 1980;51(2):447–455. doi: 10.2527/jas1980.512447x
45. Mormede P., Dantzer R. Pharmacokinetics of lithium in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1978;1:309–312. doi: 10.1111/j.1365-2885.1978.tb00344.x

## References

1. Korolev M.A., Konenkov V.I., Rachkovskaya L.N., Ershov K.I., Baykalov G.I., Baykalova N.E., Bakhareva K.I., Madonov P.G. Studying the pharmacokinetic parameters of new normothymic drug based on the complex of lithium citrate, aluminum oxide and polymethylsiloxane. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(6):14–21. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190602
2. Korolev M.A., Rachkovskaya L.N., Madonov P.G., Shurlygina A.V., Rachkovsky E.E., Letyagin A.Yu., Konenkov V.I., Churin A.A., Dubskaya T.Yu., Vetoshkina T.V., Sandrikina L.A., Fomina T.I., Fedorova E.P. Estimation of acute toxicity of a drug based on the complex of lithium citrate, polymethylsiloxane, aluminum oxide. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020;40(5):46–52. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200505

3. Shilov G.N., Shabanov P.D., Shadyro O.I. Cognitive and antihypoxic components in the nootropic effect of the li-salts of the main inhibitor amino acids in comparing with antihypoxants with pyrocatechol structure. *Meditsinskie novosti = Medical News*. 2017;(3):58–61. [In Russian].
4. Arkhipov V.I., Kapralova M.V., Pershina E.V. Excitotoxicity and experimental approaches to neuroprotection. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2013;(5):486. [In Russian].
5. Belenichev I.F., Cherniy V.I., Nagornaya E.A., Pavlov S.V., Cherniy T.V., Gorchakova N.A., Bukhtiyarova N.V., Andronova I.A., Kucherenko L.I. Neuroprotection and neuroplasticity. Kiev: Polygraph Plus, 2014. 512 p. [In Russian].
6. Losenkov I.S., Plotnikov E.V., Epimakhova E.V., Bokhan N.A. Lithium in the psychopharmacology of affective disorders and mechanisms of its effects on cellular physiology. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni Sergeya Sergeevicha Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2020;120(11):108–115. [In Russian]. doi: 10.17116/jnevro2020120111108
7. Gogoleva I.V., Gromova O.A., Torshin I.Yu., Grishina T.R., Pronin A.V. A systematic analysis of neurobiological roles of lithium. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni Sergeya Sergeevicha Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2022;122(11):17–23. [In Russian]. doi: 10.17116/jnevro202212211117
8. Moroz V.V., Silachev D.N., Plotnikov E.Yu., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A., Likhvantsev V.V. Mechanisms of cell damage and protection in ischemia/reperfusion and experimental rationale for the use of lithium-based preparations in anesthesiology. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013;9(1):63. [In Russian]. doi: 10.15360/1813-9779-2013-1-63
9. Pronin A.V., Gromova O.A., Torshin I.Yu., Stelmashuk E.V., Aleksandrova O.P., Genrikhs E.E., Khaspekov L.G. Neuroprotective properties of lithium salts during glutamate-induced stress. *Nevrologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017;9(3):111–119. [In Russian]. doi:10.14412/2074-2711-2017-3-111-119
10. Cherpakov R.A., Grebenchikov O.A. Effect of lithium chloride concentration on its neuroprotective properties in ischemic stroke in rats. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021;17(5):101–110. [In Russian]. doi: 10.15360/1813-9779-2021-5-101-110
11. Plotnikov E.Yu., Zorov D.B., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A., Likhvantsev V.V., Silachev D.N., Moroz V.V. Treatment of cerebral edema of ischemic, traumatic, toxic and infectious genesis using hypertonic solution of lithium salts. Pat. 021560B1 EA. Publ. 30.07.2015.
12. Grebenchikov O.A., Lobanov A.V., Shayhutdinova E.R., Kuzovlev A.N., Ershov A.V., Likhvantsev V.V. Cardioprotective effect of lithium chloride on a rat model of myocardial infarction. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2019;23(2):43–49. [In Russian]. doi: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49
13. Grebenchikov O.A., Cherpakov R.A., Evseev A.K., Ershov A.V., Kuzovlev A.N., Lonchinsky P.A., Petrikov S.S., Shabanov A.K. Lithium chloride effect on mortality and neurological deficits in the model of ischemic stroke in rats. *Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch' = Emergency Medical Care*. 2021;10(4):676–686. [In Russian]. doi:10.23934/2223-9022-2021-10-4-676-686
14. Grebenchikov O.A., Kuzovlev A.N., Baeva A.A. Lithium chloride for the novel coronavirus infection COVID-19. *Anesteziologiya i reanimatologiya = Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2020;(6-2):40–44. [In Russian]. doi: 10.17116/anaesthesiology202006240
15. Raghavendra P.B., Lee E., Parameswaran N. Regulation of macrophage biology by lithium: a new look at an old drug. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2014;9(3):277–284. doi: 10.1007/s11481-013-9516-y
16. Doeppner T.R., Kaltwasser B., Sanchez-Mendoza E.H., Caglayan A.B., Bähr M., Hermann D.M. Lithium-induced neuroprotection in stroke involves increased miR-124 expression, reduced RE1-silencing transcription factor abundance and decreased protein deubiquitination by GSK3 $\beta$  inhibition-independent pathways. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2017;37(3):914–926. doi: 10.1177/0271678X16647738
17. Taliyan R., Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemia reperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3 $\beta$ . *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 2016;36(4):402–410. doi: 10.3109/10799893.2015.1108338
18. Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A., Meshkov M.A., Dolgikh V.T., Prokofiev M.D., Shpichko N.P., Ershov A.V. Influence of lithium chloride on the apoptosis of endothelial cells in systemic inflammatory response syndrome in patients with severe multiple injury. A retrospective study. *Vestnik intensivnoy terapii = Bulletin of Intensive Care*. 2020;(3):115–121. [In Russian]. doi: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121
19. Grebenchikov O.A., Dolgikh V.T., Prokofiev M.D., Kasatkina I.S., Ershov A.V. Protective effect of lithium chloride on endothelial cells in septic shock. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020;16(3):94–105. [In Russian and English]. doi: 10.15360/1813-9779-2020-3-94-105
20. Cherpakov R.A., Kuzovlev A.N., Makarevich D.G., Lobanov A.V., Ershov A.V., Grebenchikov O.A. Effect of different concentrations of lithium chloride on p-GSK-3 $\beta$  content in a model of ischemic stroke. *Patologicheskaya fiziologiya i*

eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy. 2021;65(4):26–33. [In Russian]. doi: 10.25557/0031-2991.2021.04.26-33

21. Grebenchikov O.A., Kasatkina I.S., Kadantseva K.K., Meshkov M.A., Baeva A.A. The effect of lithium chloride on neutrophil activation on exposure to serum of patients with septic shock. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020;16(5):45–55. [In Russian and English]. doi: 10.15360/1813-9779-2020-5-45-55

22. Grebenchikov O.A., Kasatkina I.S., Kuzovlev A.N., Lobanov A.V., Ershov A.V. Influence of lithium chloride on neutrophil activation in the development of systemic inflammatory response syndrome in patients after on-pump cardiac surgery. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2020;64(4):47–53. [In Russian]. doi: 10.25557/0031-2991.2020.04.47-53

23. Mazukina E.V., Shekunova E.V., Kosman V.M., Urakova I.N., Kotelnikova I.G., Fonarev M.Yu., Ezhova E.A., Zakalyukina E.V., Makarova M.N., Makarov V.G. Preclinical study of the efficacy and safety of chondroitin sulfate. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Drug Therapy*. 2021;9(1):43–57. [In Russian]. doi:10.30895/2312-7821-2021-9-1-43-57

24. Vavilova V.A., Shekunova E.V., Jain E.A., Balabanyan V.Yu., Ozerov A.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Experimental study of toxic properties of VMU-2012-05 drug – original non-nucleoside inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy and Pharmacology*. 2021;9(3):205-221. [In Russian]. doi:10.19163/2307-9266-2021-9-3-205-221

25. Kosman V.M., Karlina M.V., Mazukina E.V., Globenko A.A., Jain E.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Preclinical evaluation of esomeprazole safety and toxicokinetics. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Drug Therapy*. 2023;11(2):176–190. [In Russian]. doi:10.30895/2312-7821-2023-11-2-342

26. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput. Methods Programs Biomed*. 2010;99(3):306–314. doi: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007

27. Swine in the laboratory: surgery, anesthesia, imaging, and experimental techniques. Eds.: M.M. Swindle, A.C. Smith. Boca Raton: CRC press, 2007. 496 p.

28. Sheikh M., Qassem M., Triantis I.F., Kyriacou P.A. Advances in therapeutic monitoring of lithium in the management of bipolar disorder. *Sensors (Basel)*. 2022;22(3):736. doi: 10.3390/s22030736

29. Nederlof M., Heerdink E.R., Egberts A.C.G., Wilting I., Stoker L.J., Hoekstra R., Kupka R.W. Monitoring of patients treated with lithium for bipolar dis-

order: an international survey. *Int. J. Bipolar Disord*. 2018;6(1):12. doi: 10.1186/s40345-018-0120-1

30. Iwabuchi E., Odashima Ts. Lithium reagent composition, and method and device for determining lithium ion amount using same. Pat. JP2012087928A/RU2014144680. Publ. 20.12.2015.

31. Qassem M., Hickey M., Kyriacou P.A. Colorimetric determinations of lithium levels in drop-volumes of human plasma for monitoring patients with bipolar mood disorder. *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2016;2016:5160–5163. doi: 10.1109/EMBC.2016.7591889

32. Kim J.H., Diamond D., Lau K.T. Development of portable device for monitoring the lithium level from bipolar disorder patients. *2011 5th International Conference on Pervasive Computing Technologies for Healthcare (PervasiveHealth) and Workshops: proc. conf.*, 23–26 May 2011. Dublin, 2011. P. 230–233.

33. Gracia L.G., Rodríguez L.C., Ceba M.R. Spectrophotometric determination of lithium with quinizarin in drugs and serum. *Talanta*. 1997;44(1):75–83. doi: 10.1016/s0039-9140(96)02018-8

34. Karlina M.V., Kosman V.M., Abramovich R.A., Archakova O.A., Barybina T.N., Vlasenko Yu.V., Guzevatykh L.S., Kovaleva E.L., Korel A.V., Koshchits D.V., ... Tulegenova A.U. Risk-oriented approach to drug development. In: *GLP-Planet Consultant 2023. Opinion of the pharmaceutical industry*. Saint-Petersburg: Dom Farmacii, 2023; 47–74 [In Russian].

35. Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine 2018:41.

36. Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London: Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2011. P. 22.

37. Decision of the EEU Council No. 85 of November 3, 2016 “On approval of the Rules for conducting bioequivalence studies of medicinal products within the framework of the Eurasian Economic Union”. Appendix No. 6 “Requirements for the validation of bioanalytical test methods and analysis of biological samples under study”. 2016. Available at: <https://www.alt.ru/tamdoc/16sr0085/> [In Russian].

38. Bochkareva I.I., Dyakova I.N. The role of biogenic elements in the human body and their use in medicine and pharmacy. Textbook for students of the pharmaceutical faculty. Maykop: Kachestvo, 2016. 127 p. [In Russian].

39. GOST R ISO 7870-2-2015. Statistical methods. Control cards. Shewhart control charts. 2015. 46 p. [In Russian].

40. Jakobsson E., Argüello-Miranda O., Chiu S.W., Fazal Z., Kruczek J., Nunez-Corrales S., Pandit S., Pritchett L. Towards a unified understanding of lithium action in basic biology and its significance for applied

biology. *J. Membr. Biol.* 2017;250(6):587–604. doi: 10.1007/s00232-017-9998-2

41. Fairbrother F., Petzl N., Scott J., Kisely S. Lithium can cause hyperthyroidism as well as hypothyroidism: A systematic review of an under-recognised association. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2019;53(5):384–402. doi: 10.1177/0004867419833171

42. Wen J., Sawmiller D., Wheeldon B., Tan J. A review for lithium: pharmacokinetics, drug design, and toxicity. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2019;18(10):769–778. doi: 10.2174/1871527318666191114095249

43. Couffignal C., Chevillard L., El Balkhi S., Cisternino S., Declèves X. The pharmacokinetics of lithium. *In book: The Science and Practice of Lithium Therapy.* Springer, Cham, 2017; 25–53. doi: 10.1007/978-3-319-45923-3\_2

44. McGlone J.J., Kelley K.W., Gaskins C.T. Lithium and porcine aggression. *J. Anim. Sci.* 1980;51(2):447–455. doi: 10.2527/jas1980.512447x

45. Mormede P., Dantzer R. Pharmacokinetics of lithium in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* 1978;1:309–312. doi: 10.1111/j.1365-2885.1978.tb00344.x

### Сведения об авторах:

**Косман Вера Михайловна**, к.фарм.н., ORCID: 0000-0001-9690-1935, e-mail: kosman.vm@doclinika.ru

**Романенко Анна Юрьевна**, ORCID: 0009-0005-7026-9245, e-mail: romanenko.au@doclinika.ru

**Карлина Марина Валерьевна**, к.б.н., ORCID: 0000-0002-6292-8934, e-mail: karlina.mv@doclinika.ru

**Фаустова Наталья Михайловна**, к.х.н., ORCID: 0000-0002-6866-5741, e-mail: faustova.nm@doclinika.ru

**Мазукина Елизавета Владимировна**, ORCID: 0000-0002-1448-921X, e-mail: mazukina.ev@doclinika.ru

**Кузовлев Артем Николаевич**, д.м.н., ORCID: 0000-0002-5930-0118, e-mail: artem\_kuzovlev@fnkrr.ru

**Гречко Андрей Вячеславович**, д.м.н., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0003-3318-796X, e-mail: avgrechko@fnkrr.ru

**Черпаков Ростислав Александрович**, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0514-2177, e-mail: Zealot333@mail.ru

**Макарова Марина Николаевна**, д.м.н., ORCID: 0000-0003-3176-6386, e-mail: makarova.mn@doclinika.ru

**Макаров Валерий Геннадиевич**, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-2447-7888, e-mail: makarov.vg@doclinika.ru

### Information about the authors:

**Vera M. Kosman**, candidate of pharmacological sciences, ORCID: 0000-0001-9690-1935, e-mail: kosman.vm@doclinika.ru

**Anna Yu. Romanenko**, ORCID: 0009-0005-7026-9245, e-mail: romanenko.au@doclinika.ru

**Marina V. Karlina**, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-6292-8934, e-mail: karlina.mv@doclinika.ru

**Natalya M. Faustova**, candidate of chemical sciences, ORCID: 0000-0002-6866-5741, e-mail: faustova.nm@doclinika.ru

**Elizaveta V. Mazukina**, ORCID: 0000-0002-1448-921X, e-mail: mazukina.ev@doclinika.ru

**Artem N. Kuzovlev**, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-5930-0118, e-mail: artem\_kuzovlev@fnkrr.ru

**Andrey V. Grechko**, doctor of medical sciences, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0003-3318-796X, e-mail: avgrechko@fnkrr.ru

**Rostislav A. Cherpakov**, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0514-2177, e-mail: Zealot333@mail.ru

**Marina N. Makarova**, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-3176-6386, e-mail: makarova.mn@doclinika.ru

**Valery G. Makarov**, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-2447-7888, e-mail: makarov.vg@doclinika.ru

Поступила в редакцию 14.05.2024

После доработки 03.07.2024

После повторной доработки 04.10.2024

Принята к публикации 08.10.2024

Received 14.05.2024

Revision received 03.07.2024

Second revision received 04.10.2024

Accepted 08.10.2024