

МАТЕРИАЛЫ НАУЧНОГО СОВЕТА НИИ ФАРМАЦИИ «ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ НИИ ФАРМАЦИИ»

THE MATERIALS OF SCIENCE COUNCIL OF THE RESEARCH INSTITUTE OF PHARMACY «ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS OF YOUNG SCIENTISTS OF THE RESEARCH INSTITUTE OF PHARMACY»

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Адрес: 117418, г. Москва, Нахимовский проспект, д. 45

Телефон: 8 (499) 128–58–00

E-mail: teryoshinan@mail.ru

Материалы поступили в редакцию: 27.03.2014

Материалы приняты к печати: 17.04.2014

CONTACT INFORMATION:

Address: 45 Nakhimovsky Ave., Moscow, 117418

Tel.: 8 (499) 128–58–00

E-mail: teryoshinan@mail.ru

The materials received: 27.03.2014

The materials approved for publication: 17.04.2014

18 марта 2014 г. в НИИ фармации состоялось традиционное заседание Научного совета «Достижения и перспективы молодых ученых НИИ ФАРМАЦИИ», приуроченное к апрельской аттестации аспирантов и соискателей Университета. В мероприятии приняли участие аспиранты и соискатели лаборатории фармакогнозии, лаборатории биологически активных соединений, лаборатории фармакоэкономических исследований, лаборатории анализа и технологии и лаборатории фармакокинетики отдела разработки лекарственных средств, отдела внедрения новых лекарственных средств. По форме заседание Научного совета соответствовало конференции молодых ученых Института. Тематика докладов была посвящена фрагментам исследовательской работы молодых ученых, выполненной за отчетный год, отчитывались аспиранты и соискатели 1, 2 и 3 года обучения. Наряду с молодыми учеными НИИ фармации на данном научном мероприятии свои доклады сделали аспиранты кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета. Исследования молодых ученых Института носят как прикладной, так и фундаментальный характер. Среди прозвучавших научных докладов были сообщения по всем направлениям исследований в области фармации: фармацевтическая химия и фармакогнозия, технология получения лекарств, организация фармацевтического дела, фармакология/клиническая фармакология. Заслушанные доклады вызвали многочисленные вопросы не только членов Научного совета Института, но и молодых ученых к работе друг друга, было высказано много конструктивных замечаний и предложений. Как показал опыт Института, аттестация молодых ученых в форме научных докладов, дополненных отчетной информацией о публикациях и докладах за отчетный год, позволяет молодым ученым подойти к аттестации творчески, а членам Научного совета более объективно оценить результаты исследований молодежи. Для молодых ученых такая форма — дополнительная возможность получения навыков изложения результатов в форме доклада, подготовки презентаций, ответов на вопросы, сравнение своих исследований с работами других аспирантов и соискателей, их коллегиальное обсуждение в доброжелательной профессиональной атмосфере. Научное мероприятие Института показала большую перспективность многих исследований, выполняемых в рамках аспирантской работы. Все участники научного мероприятия были рекомендованы к аттестации за отчетный год обучения, а доклады рекомендованы к публикации в форме тезисов в журнале «Сеченовский вестник».

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПОЧКАХ И ЛИСТЬЯХ СМОРОДИНЫ ЧЕРНОЙ.

Попова Т.С., Терещина Н.С.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ фармации
Лаборатория фармакогнозии

Одним из широко используемых в медицине растений является черная смородина (*Ribes nigrum* L.) семейства Крыжовниковые (Grossulariaceae), которая произрастает в Европе, Азии, Северной Аме-

рике. В России дикорастущая черная смородина широко распространена в Европейской части России, на Кавказе, в Сибири. В качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) в аллопатии ис-

пользуются ягоды. Листья и почки, проявляющие противовоспалительное и диуретическое действие, применяются в основном в народной медицине и гомеопатической практике. В народной медицине листья применяются при лечении почечнокаменной болезни, подагры, цистита, уретрита, остеохондроза, при ревматизме, мышечных и суставных болях, экссудативном диатезе, экземе и фурункулезе. В гомеопатии препараты из почек черной смородины применяют при заболеваниях надпочечников, они усиливают сопротивляемость стрессу, проявляют иммуностимулирующее действие и способствуют дренированию лимфы.

По литературным данным листья содержат эфирное масло, катехины и флавоноиды, производные изорамнетина, мирицетина, кемпферола и кверцетина. В качестве лекарственного растительного сырья для получения препаратов наряду с листьями используются почки, в связи с этим представляет интерес сравнительное изучение химического состава биологически активных соединений в данных видах сырья.

В связи с этим целью данного исследования являлось сравнительное изучение флавоноидов листьев и почек черной смородины методом ВЭЖХ.

Из почек было выделено и установлено 4 флавоноида, из них 2 производных кверцетина и 2 производных мирицетина: кверцетин-3-О-[6-О-малонил-β-D-глюкопиранозид] (I), кверцетин-3-О-D-галактопиранозид (гиперозид) (II), мирицетин-3-О-[6-О-малоноил-β-D-глюкопиранозид] (III), мирицетин-3-О-β-D-глюкуронид (IV).

В листьях черной смородины идентифицированы: 2 производных кверцетина и 2 производных кемпферола: кверцетин-3-О-[6-О-малонил-β-D-глюкопиранозид] (I), кверцетин-3-О-D-галактопиранозид (гиперозид) (II), кемферол-3-О-[6-О-малоноил-β-D-глюкопиранозид] (V), кемферол-3-О-D-галактопиранозид (VI).

Таким образом, установлено, что почки и листья черной смородины имеют различный качественный состав флавоноидов, что должно учитываться при получении лекарственных препаратов из данных видов сырья.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ ОСНОВ РЕГУЛИРОВАНИЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Тулина М.А., Пятигорская Н.В.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ фармации
Лаборатория анализа и технологии отдела разработки лекарственных средств*

Введение: в настоящий момент клеточные технологии проходят стадию бурного развития, поэтому деятельность в области клеточных технологий должна соответствовать определенным требованиям, которые обеспечили бы эффективность и безопасность их применения в клинических исследованиях и в медицинской практике.

Цель: разработка теоретических и научно-практических аспектов регулирования качества клеточных продуктов.

Материалы и методы: анализ директив и руководств США, Канады, Европы, Австралии, Японии и Южной Кореи по Надлежащей Тканевой Практике, анализ информационных данных о разработке ЛП клеточной терапии в мире.

Результаты: в рамках литературного обзора по данному инновационному направлению был проведен анализ ряда международных руководств и директив с целью выявления основных международных подходов и направлений нормативного регулирования препаратов клеточной терапии и основных требований в регулировании их качества. Эти требования касаются пригодности доноров, производства, контроля качества, упаковки, маркировки, дистрибуции, хранения и применения клеточных продуктов, и направлены на предотвраще-

ние возникновения инфекционных заболеваний у реципиентов; программа по обеспечению качества включает валидацию, мониторинг отклонений по качеству, квалификацию и обучение персонала, корректирующие и предупреждающие действия (САРА), четкое документирование всех процессов и аудиты. Установлен статус разработки ЛП клеточной терапии в мире путем анализа одобренных к использованию ЛП и ЛП в стадии клинических исследований.

Выводы: изготовление клеточных продуктов является многоэтапным технологическим циклом производства с осуществлением контроля качества и безопасности на разных стадиях их создания и с обеспечением условий хранения и транспортировки; каждый этап жизненного цикла тканевых и клеточных препаратов в отечественной фармацевтической промышленности требует четких методологических основ и нормативов системы обеспечения качества. В мире только три препарата на основе человеческих клеток получили одобрение регуляторных органов для целевого использования. Правила в отношении эффективности, безопасности и качества препаратов для клеточной и тканевой терапии в разных странах находятся на разных стадиях готовности и детализации, и международные

подходы к регулированию этих препаратов пока еще развиваются. Основные методы и подходы по обеспечению качества, безопасности и эффектив-

ности в имеющихся руководствах по продуктам для клеточной терапии рассмотренных стран похожи и основаны на методологии управления рисками.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВПЧ — АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Кухаренко А.Е.^{1,2}, Гаврилова Н.А.¹, Гравель И.В.², Хамитов Р.А.¹

¹ ГНЦ РФ ФГУП Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва

² ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Лаборатория анализа и технологии отдела разработки лекарственных средств

Инфекции, вызываемые вирусом папилломы человека (ВПЧ), приобретают все большее распространение в мире и относятся к числу наиболее значимых инфекций, передающихся половым путем. Ставшие доступными профилактические ВПЧ вакцины направлены на продукцию нейтрализующих антител против позднего структурного белка L1 вируса и не способны редуцировать уже имеющиеся повреждения.

Применение для лечения больных различных медикаментозных средств и хирургических технологий не обеспечивают элиминацию возбудителя и излечение заболевших.

Этот факт определяет необходимость разработки терапевтических вакцин против ВПЧ, направленных на индукцию Т-клеточных иммунных ответов против ранних вирусных онкобелков в пораженном вирусом организме.

В ФГУП ГосНИИгенетика разработана терапевтическая вакцина на основе рекомбинантных белков Е7 ВПЧ различных типов, конъюгированных с полноразмерным белком теплового шока HSP 70 *Mycobacterium tuberculosis*.

Гибридные рекомбинантные белки Е7(6)-HSP70 и Е7(11)-HSP70, относящиеся к разным типам ВПЧ, получены путем раздельного культивирования

штаммов-продуцентов *Saccharomyces cerevisiae*. Уровень биосинтеза рекомбинантных белков не менее 550 мг/л в течение 60–65 ч. Очистка гибридных белков осуществлялась с использованием металло-хелатной аффинной, анионной и гель-фильтрующей хроматографии. Чистота белка составляла не менее 95 %. Разработанная лекарственная форма терапевтической вакцины представляет собой суспензию для инъекций. В качестве адьюванта использовали алюминия гидроокись.

В рамках фармацевтической разработки обоснованы критические параметры и разработаны методы контроля качества кандидатной вакцины для подготовки проекта фармакопейной статьи предприятия.

Отработан метод идентификации целевых рекомбинантных белков, входящих в состав вакцины, *in vivo*. Проведены исследования гуморального и клеточного иммунитета при однократном внутримышечном введении вакцины. Установлено, что разработанный вакцинный препарат способен стимулировать реакции клеток специфического иммунного ответа — Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов, которые направлены на элиминацию вируса из организма и уничтожение инфицированных клеток.

ПРОБЛЕМА ТУБЕРКУЛЕЗА. ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КАК ОДИН ИЗ ОСНОВНЫХ ЭТАПОВ ПРИ СОЗДАНИИ ИННОВАЦИОННЫХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ.

Меньшикова Л.А.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ Фармации
Лаборатория фармакокинетики отдела разработки лекарственных средств

На сегодняшний день все проблемы, касающиеся как профилактики, так и лечения туберкулеза принято считать весьма актуальными. Туберкулез остается ведущей причиной смерти среди излечимых инфекционных заболеваний, в особенности это касается слаборазвитых стран с ограниченными

экономическими возможностями (страны Африки, Латинская Америка, Филиппины).

В России, как и во всем мире, поликомпонентная противотуберкулезная химиотерапия занимает основное место в лечении больных туберкулезом.

Одной из главных проблем в борьбе с туберкулезом является множественная лекарственная устойчивость штаммов *Mycobacterium tuberculosis*. В ходе неэффективности препаратов I ряда (изонизид, рифампицин, пипразинамид, этамбутол и стрептомицин) возникает необходимость в применении резервных противотуберкулезных препаратов (такие как фторхинолоны, этионамид, канамицин (амикацин), капреомицин, циклосерин, парааминосалициловая кислота (ПАСК)), имеющих ряд серьезных побочных эффектов. В результате уменьшается функциональная активность защитных систем организма, что ведет к затяжному течению и/или хронизации процессов заболевания. Все вышесказанное делает необходимым разработку и внедрение более эффективных и безопасных инновационных противотуберкулезных лекарственных средств.

Разработка лекарственных средств — это поэтапный процесс, включающий оценку данных по их эффективности и безопасности, как у животных, так и у человека.

В соответствии с проводимой в Российской Федерации политикой в сфере обращения лекарственных средств «Стратегия развития фармацевтической промышленности на период до 2020 г.», одним из ключевых направлений которой является разработка и производство инновационных лекарственных препаратов, обладающих максимальной фармакотерапевтической эффективностью и минимумом нежелательных лекарственных реакций, было разработано «Руководство по экспертизе ЛС» 2013 г., под редакцией А.Н. Миронова.

Изучение фармакокинетики лекарственных веществ и учет их фармакокинетических параметров на сегодняшний день является необходимым этапом в комплексе работ, как при создании новых оригинальных лекарственных средств, так и при применении известных, так называемых, генерических препаратов, и связано это, прежде всего, с получением объективных характеристик всех процессов, которые

происходят в организме животного (человека) с препаратом, начиная с всасывания из места введения, и заканчивая его выведением из организма.

Любое ФК исследование состоит из двух главных этапов: биоаналитического метода и собственно расчетов ФК параметров. В свою очередь биоаналитический метод включает в себя два компонента: а) подготовку образца — экстракция лекарственного вещества и/или его метаболита (ов) из биологической матрицы и б) детектирование соединения обычно после хроматографического отделения от других компонентов, присутствующих в биологическом экстракте.

Подготовка образца к анализу преследует три основные цели: растворение анализируемого вещества в соответствующем растворителе, удаление максимально возможного количества мешающих определению веществ и концентрирование анализируемого соединения. Пробоподготовку проводят с использованием таких процедур, как осаждение белков, экстракция «жидкость-жидкость», твердофазная экстракция.

Для выполнения поставленных задач может использоваться любое аналитическое оборудование, позволяющее проводить адекватное детектирование анализируемого соединения, и с помощью которого можно получить достоверные и воспроизводимые данные.

Широкое распространение в биоанализе лекарственных веществ как наиболее универсальный метод получила высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с различными способами детектирования.

Изучение фармакокинетики инновационных лекарственных средств — важный процесс. Полученные при этом данные составляют основу схемы рациональной терапии, позволив правильно рассчитать диапазон эффективных концентраций препарата, кратность приема, добиться максимального терапевтического эффекта с минимальным риском возникновения нежелательных лекарственных реакций.

ПОИСК НОВЫХ ЭФФЕКТИВНЫХ БЛОКАТОРОВ РЕЦЕПТОРА NR₃C₄

Брылев М.И.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ Фармации, лаборатория биологически активных соединений

Рак предстательной железы относится к наиболее часто выявляемым опухолям среди онкологических заболеваний мужчин. Одним из методов лечения рака простаты является проведение гормональной терапии препаратами-антагонистами рецептора NR₃C₄. Современные методы компьютерного моделирования позволяют провести расчеты, направленные на получение структур соединений — потенциальных блокаторов рецептора NR₃C₄.

Проведено молекулярное моделирование при помощи программного комплекса «Алгокомб». Вследствие малого размера активного сайта рецептора NR₃C₄ к построению молекулярной модели были предложены ацилированные по N-концу ди- и трипептиды, ацилированные амиды и сложные эфиры L- и D-аминокислот. Молекулярное моделирование проведено среди 28000 соединений. Для соединений, обладающих наилучшими расчетными

характеристиками, проведен дополнительный расчет ADME/Т-свойств.

Синтезирован 31 образец наиболее перспективных (по расчетным оценкам) соединений. Структуры синтезированных образцов подтверждены методами масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии ¹H и ¹³C.

Исследование биологической активности потенциальных антагонистов рецептора NR3C4 заключалось в определении аффинности синтезированных образцов к рецептору NR3C4 методом поляризационной спектрофлуориметрии с помощью тест-системы PolarScreen Green (Invitrogen P3018), исследовании цитотоксичности исследуемых соединений на клетках AR-UAS-bla GripTite™ 293 методом флуоресцентной микроскопии, исследовании их анта-

гонистической активности к рецептору NR3C4 по их способности вызывать специфические клеточные сигналы при связывании с рецептором NR3C4 внутри клеток AR-UAS-bla GripTite™ 293 с регистрацией сигнала методом конфокальной микроскопии.

В результате проведенной работы методами молекулярного моделирования рассчитаны структуры и синтезированы образцы новых потенциальных блокаторов рецептора NR3C4. Определены аффинность и цитотоксичность синтезированных соединений. Выявлена антагонистическая активность у 2-(1-нафтил) этиловый эфир 1-[(3-фторфенил)ацетил]-L-пролина, 2-(1-нафтил) этиловый эфир 1-[(4-хлорфенил)ацетил]-L-пролина, 2-(1-нафтил) этиловый эфир 1-[(4-метилфенил)ацетил]-L-пролина.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЭЛЕУТЕРОКОККА НА ФИЗИЧЕСКУЮ ВЫНОСЛИВОСТЬ МЫШЕЙ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ CCL₄.

Печенкина И.Г., Козин С.В.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России НИИ Фармации
лаборатория биологически активных соединений.*

В последнее время в связи с ростом потребления алкоголя, лекарственных препаратов, загрязнением окружающей среды резко увеличилось кол-во патологий, связанных с поражениями печени, носящих, преимущественно хронический характер. Помимо токсических поражений отрицательное влияние на печень оказывают также другие неблагоприятные факторы, в частности, повышенная физическая нагрузка.

В связи с этим, в рамках исследования защитного действия различных фитоадаптогенов при хроническом поражении печени на фоне повышенной физической нагрузки было проведено исследование влияния экстракта элеутерококка на физическую выносливость мышей на фоне хронической интоксикации четыреххлористым углеродом.

Для оценки общего состояния здоровья экспериментальных животных при хронической интоксикации CCL₄ был выбран интегральный показатель — физическая выносливость, который измерялся как продолжительность плавания мышей до полного утомления с грузом 7% от массы тела животного.

Эксперименты были проведены на белых беспородных мышках-самцах массой 28-30 г. Гепатотоксин (в виде 10% раствора CCL₄ на оливковом масле) вводили животным внутривенно в дозе 30 мл/кг 2 раза в неделю в течение трех недель (6 введений). Экспериментальные животные опытной группы внутривенно получали деалкоголизированный экстракт элеутерококка в виде водной взвеси в дозе 2,5 мл/кг ежедневно в течение двух недель перед началом интоксикации, а также в течение последую-

щих трех недель на фоне введения CCL₄. Интактная группа животных получала внутривенно эквивалентные объемы воды и оливкового масла вместо исследуемого препарата и токсина соответственно, контрольная группа — воду и раствор CCL₄. В качестве интегрального показателя для оценки общего состояния экспериментальных животных использовалась физическая нагрузка в виде еженедельного плавания до полного утомления с грузом 7% от массы тела животного. В ходе эксперимента фиксировалась продолжительность плавания в минутах. В дальнейшем рассчитывалось отношение продолжительности плавания за каждую неделю к продолжительности плавания животных перед началом эксперимента.

Уже с первой недели внутривенного введения CCL₄ в дозе 30 мл/кг привело к резкому снижению продолжительности плавания во всех экспериментальных группах животных — интакт — до 66,75%, контроль — до 23,72% и в опытной группе — до 67,32% (в процентах от первичного плавания). В дальнейшем наблюдалось повышение показателей, у животных, получавших экстракт элеутерококка (до 95,77%), однако оно оставалось достаточно выраженным на протяжении всего эксперимента в особенности у групп, не получавших исследуемый препарат (до 50,38% и 67,46%).

Таким образом, лечебно-профилактическое введение экстракта элеутерококка в значительной мере предупреждало CCL₄ — индуцированное снижение работоспособности мышей на модели плавания с грузом.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА РАСТЕНИЯ *SARAGANA JUBATA* И ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЕГО В МЕДИЦИНЕ

Е.Д. Рыбакова, Л.А. Павлова, Ю.В. Цуканов

*ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ фармации
лаборатория биологически активных соединений*

Аннотация. Отвары из сырья караганы гривастой в этномедицине Тувы применяются как противомикробные, противовоспалительные и гиполипидемические средства. В этой связи представляется актуальным исследование химического состава лекарственного растения на предмет использования растительного сырья в официальной медицине. Выявленные особенности могут служить диагностическими показателями подлинности сырья трава караганы гривастой и быть использованы при составлении фармакопейной статьи (ФС).

Ключевые слова. Химический состав, карагана гривастая, *Saragana jubata* (Lam.), отвар.

Введение. Среди большого разнообразия лекарственных растений отечественной флоры несомненный интерес представляет растение вида *Saragana jubata*, благодаря разнообразному применению в народной медицине, широкому распространению в природе и ограниченным сведениям по его химическому составу. Однако, несмотря на широкое применение этого вида, состав биологически активных веществ (БАВ) их мало изучен.

Цель работы. На основании результатов химических исследований обосновать возможность использования растения вида *Saragana jubata* в медицине. Для достижения указанной цели необходимо было решить ряд задач:

Провести сравнительный качественный и количественный анализ основных групп БАВ в надземной части вида *Saragana jubata*;

Проанализировать полученные данные.

Материал и методы. Объект исследования. В качестве растительного сырья использовали надземную часть вида *Saragana jubata*. Заготавливали

сырье в Республике Тува, в Кунгуртутском районе в 2010 году, весной в местах естественного произрастания. Собранное сырье проходило обработку: сушили в проветриваемых теплых помещениях и под навесами, связывая в небольшие пучки и развешивая на растянутые веревки, в условиях интенсивного проветривания.

Методы исследования. Водное и водно-этанольное извлечение получали методом мацерации при нагревании. Для изучения состава БАВ в надземной части растений использовали современные приемы фитохимического анализа: хроматографические, спектральные методы (УФ-, ИК-спектроскопию), ВЭЖХ-МС [1, 2].

Результаты и обсуждение. В результате фитохимического анализа были установлены основные группы БАВ: флавоноиды, дубильные вещества, кумарины, органические кислоты.

Количественное определение суммарного содержания флавоноидов в надземной части караганы гривастой в пересчете на кверцетин составил $1,5 \pm 0,02\%$.

Заключение. Установлены основные группы БАВ в надземной части растения карагана гривастая. Полученные результаты могут быть использованы при разработке проекта ФС на сырье трава караганы гривастой.

Список литературы:

- [1] Государственная фармакопея российской федерации/ «Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008.-704 с.:ил.
- [2] Государственная Фармакопея СССР: Вып.1. Общие методы анализа/МЗ СССР.-11-е изд., доп.-М.: Медицина, 1987.-336 с., ил.

ГЕТЕРОМЕРНЫЕ ПЕПТИДЫ — ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ

Алексеев А.А.

*ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ фармации
лаборатория биологически активных соединений*

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности населения в России. Основное место в этой группе заболеваний имеет артериальная недостаточность сердца и мозга, причиной которой является тромбоз сосудов.

Известно, что агрегация тромбоцитов происходит за счет связывания фибриногена с GPIIb/IIIa

(интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$) рецепторами. Ингибиторы GPIIb/IIIa-рецепторов тромбоцитов являются мощными антиагрегаторными препаратами, так как они блокируют образование мостиков между соседними активированными тромбоцитами. Антагонисты GPIIb/IIIa рецепторов тромбоцитов представлены разными классами химических соединений, одна-

ко, существенный интерес среди антиагрегантов представляют антагонисты GPIIb/IIIa рецепторов, имеющие пептидную природу. Известно также, что в результате взаимодействия оксида азота (NO) с тромбоцитами и лейкоцитами снижается их агрегация и адгезия на стенках кровеносных сосудов, что приводит к ингибированию процессов тромбообразования. Один из классов гетероциклических соединений, производные которых являются донорами оксида азота — это фуроксаны. Фуроксаны рассматриваются как пролекарства, реализующие свою биологическую активность через рГЦ — цГМФ — путь.

Таким образом, разработка новых классов лекарственных препаратов с антиагрегационной активностью является актуальной.

С помощью программы «Алгокомб» было выполнено компьютерное моделирование для сгенерированных гетеромерных пентопептидов с имидазо[4,5-е]бензо[1,2-с;3,4-с']дифуроксановым фрагментом на N-конце, вида Fur-A-B-C-Asp-D, где «Fur» — один из трех возможных изомеров имидазо[4,5-е]бензо[1,2-с;3,4-с']дифуроксана (напряженный четвертый изомер с двумя близко расположенными кислородами не использовался при генерировании); «А», «В», «С», «D» —

L-аминокислотные остатки, структура которых варьировалась в процессе моделирования; в качестве аминокислоты «С» рассматривались глицин или аланин. Всего сгенерировано 48000 молекул. Для сгенерированных молекул проведены расчеты докинга в белок идентификатор 2vdp базы PDB. Замечено, что гетеромерные пептиды удачно размещаются в полость на белке, то есть можно сделать вывод, что имидазо[4,5-е]бензо[1,2-с;3,4-с']дифуроксановый фрагмент, несмотря на большой размер, не мешает связыванию пентапептидов с белком.

Наилучшие расчетные соединения были получены с использованием Fmoc-стратегии на пептидном синтезаторе Applied Biosystems 433A. Оценку специфической активности антиагрегационного действия соединений проводили *in vitro* с использованием метода Борна (Born, 1962) с использованием аденозиндифосфата (АДФ) в качестве индуктора агрегации тромбоцитов.

Выявлено, что наиболее активным ингибитором среди гетеромерных соединений оказалось соединение Fur-Lys-His-Ala-Asp-Asp, что хорошо соответствует результатам прогноза выполненного математического моделирования. Полумаксимальное ингибирование (IC_{50}) достигалось при концентрации соединения равной 1,52 мкМ.

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДЕСИНХРОНОЗА

Бобок М. Н.

ГБОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ фармации
лаборатория биологически активных соединений, аспирант

Изучение биологических ритмов организма человека представляет интерес для различных областей медицины: диагностики, организации скорой помощи, гигиены труда, профессионального отбора, оценки адаптационных возможностей человека и т.д., а также позволит научно обосновать применение лекарственных препаратов при лечении больных.

Целью данной работы являлось разработать и исследовать комбинацию лекарственных средств для неспецифического воздействия на организм при использовании модели светового десинхроноза.

Были поставлены следующие задачи: разработать комбинированный препарат для перорального применения обладающий адаптогенным действием; исследовать данный препарат при моделировании светового десинхроноза; выявить влияние лекарственного препарата на антиоксидантную активность организма и стресс компетентных органов.

Нами был проведен анализ литературных данных, средств коррекции специфического и неспецифического воздействия, технологии получения перорального препарата.

Нами было получено лекарственное средство состоящее из смеси жирорастворимых витаминов групп А и Е, которое оказывало неспецифическое действие на последствия десинхроноза.

Экспериментальное исследование было проведено на лабораторных животных (крысы), которое представляло собой моделирование светового десинхроноза, а именно нарушение светового режима дня методом 24-х часового освещения животных в течение двух недель. В конце исследования все животные выводились из эксперимента.

По итогам изучения антиоксидантной активности и влияния на стресс компетентных органов можно сделать вывод о положительном действии лекарственного средства и дальнейшем использовании его как средства коррекции десинхроноза.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ОРГАНОПРЕПАРАТА СПЛЕНАКТИВ

Заико М.В.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва.
Лаборатория биологически активных соединений НИИ Фармации*

Одной из актуальных задач современной медицины является разработка эффективных и безопасных средств фармакокоррекции иммунных процессов. В качестве одного из таких средств был предложен новый, приготовленный по оригинальной технологии, препарат Спленактив. Он представляет собой комплекс природных низкомолекулярных пептидов, выделенных из селезенки крупного рогатого скота.

Нами было проведено изучение иммуностропной активности препарата Спленактив. Так, в условиях *in vitro* было оценено его влияние на активность гранулоцитарно-макрофагальных клеток фагоцитарной системы, играющей ведущую роль в развитии инфекционно-воспалительных реакций. Также было изучено влияние препарата на течение экспериментального сепсиса у мышей.

С помощью комплекса методов в модельной системе *in vitro*, были исследованы:

- влияние Спленактива на поглотительную функцию гранулоцитарно-макрофагальных клеток. Оценку фагоцитарной активности нейтрофилов проводили микрометодом. Поглотительную способность фагоцитов оценивали по фагоцитарному числу, проценту фагоцитоза и абсолютному фагоцитарному показателю.

- окислительно-восстановительная активность гранулоцитарно-макрофагальных клеток с помощью НСТ-теста, основанного на восстановлении нитросинего тетразолия (НСТ) супероксидным анионом, образующимся при кислородном взрыве в лейкоцитах микропланшетным методом.

- кислороднезависимая оксидазная активность гранулоцитарно-макрофагальных клеток методом люминолзависимой хемилюминесценции.

- влияние препарата на продукцию цитокинов клетками крови при их культивировании методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Оценку воздействия Спленактива на инфекционный процесс проводили на модели эксперименталь-

ного сепсиса. При этом изучали влияние препарата на выживаемость мышей при введении однодневной живой культуры *Staphylococcus aureus*.

В эксперименте *in vitro* было выявлено, что поглотительная функция нейтрофилов в условиях инкубации крови в присутствии Спленактива в дозе 20 мкл статистически значимых различий фагоцитирующих клеток с контролем не имела, при увеличении дозы препарата до 100 мкл отмечалось статистически достоверное снижение процента фагоцитирующих клеток. В то же время отмечается повышение фагоцитарного числа по отношению к контролю, этот процесс носит дозозависимый характер. В тесте восстановления нитросинего тетразолия органолепрат Спленактив способствовал выработке активных форм кислорода, обладающих сильным микробоцидным действием. Результаты сравнительной оценки оксидазной активности гранулоцитарно-макрофагальных клеток при воздействии Спленактива в тесте люминолзависимой хемилюминесценции показали статистически достоверную дозозависимую его способность повышать люминолзависимую оксидазную активность, которая обеспечивает бактерицидность фагоцитов. Данные иммуноферментного анализа свидетельствуют о том, что Спленактив повышает продукцию цитокинов клетками крови при их совместном культивировании.

В опытах на модельном сепсисе выживаемость зараженных мышей составила 34,3%, введение им Спленактива повышало этот показатель до 74,3%.

Таким образом, полученные в экспериментах данные свидетельствуют о наличии у Спленактива иммуностропной активности. По-видимому, в основе иммуномодулирующего действия препарата лежит выявленная в опытах способность влиять на синтез эндогенных биологически активных веществ, регулирующих иммунные и воспалительные процессы — цитокинов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ СБОРА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Чехани Н. Р.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России НИИ Фармации
Лаборатория биологически активных соединений*

В настоящее время большое внимание уделяется поиску новых профилактических и лечебных средств природного происхождения, в частности, на основе

растительного сырья, основными преимуществами которых, перед синтетическими, является многостороннее и щадящее воздействие на организм че-

ловека, они эффективны, безопасны и не проявляют отрицательных побочных эффектов даже при длительном систематическом применении.

Цель настоящего исследования — изучение антиоксидантного, гепатопротекторного и актопротекторного действия комплексного водного извлечения из сбора растительного сырья, содержащего в своем составе листья смородины черной (*Ribes nigrum* L.), листья малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.), траву кипрея узколистного (*Chamaenerium angustifolium* L.), траву лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* L.) на экспериментальных животных моделях.

Исследована антиоксидантная активность (АОА) комплексного водного извлечения из сбора растительного сырья на модели острого токсического тетрахлорметанового (CCl_4) гепатита у крыс. АОА определяли по торможению окисления люминола, индуцированного водорастворимыми пероксильными радикалами, образующимися при термическом разложении 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП), в сравнении со стандартным антиоксидантом тролоксом. Также определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ткани печени крыс. В ходе проведенного исследования было обнаружено, что комплексное водное извлечение из сбора тормозит развитие оксидативного стресса, вызванного интоксикацией CCl_4 .

Гепатопротекторное действие комплексного водного извлечения из сбора растительного сырья изучено на модели острого токсического гепатита у крыс, вызванного CCl_4 . Гепатопротекторный эффект

был доказан с помощью тиопенталового теста, а также биохимического и энзимологического исследования сыворотки крови крыс. По влиянию на продолжительность тиопенталового наркоза, активность печеночных ферментов и некоторые гепатозависимые биохимические показатели сыворотки крови заявляемый сбор практически не отличался от препарата сравнения карсила. Предполагается, что гепатопротекторное действие сбора обусловлено наличием в составе растительного сырья фенольных и полифенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью.

Изучение влияния комплексного водного извлечения из сбора на физическую выносливость и процессы восстановления у мышей — актопротекторное действие препарата, исследовано в эксперименте повторного плавания у животных (беспородные мыши-самцы) с грузом, равным 7% от массы тела. В ходе эксперимента фиксировали время первичного и повторного плавания, а также рассчитывали показатель восстановления работоспособности. Установлено, что курсовое применение водного извлечения из сбора не влияет на продолжительность первичного плавания, но увеличивает в 1,7 раза продолжительность повторного плавания у мышей опытной группы по отношению к аналогичному показателю у животных контрольной группы ($p < 0,001$).

Актопротекторное действие сбора проявляется только на измененном функциональном фоне (утомление). Это свидетельствует о том, что данный препарат обладает адаптогенноподобными свойствами.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ СУХОГО ЭКСТРАКТА РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ

Грецкий С. В.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России НИИ Фармации
Лаборатория биологически активных соединений

Цель исследования. Изучение острой токсичности, сухого экстракта родиолы розовой, полученного на базе лаборатории технологии, расчет LD_{50} и определение класса токсичности для изучаемого препарата.

Материалы и методы. Испытания проводили на белых нелинейных мышах-самцах массой 20-25 г согласно требованиям, изложенным в официальном руководстве. В эксперименте использовались клинически здоровые животные, находившиеся в одинаковых условиях содержания и кормления. Было отобрано 13 групп животных, по 6 животных в каждой. Диапазон исследуемых доз, взятый на основе литературных данных, составлял от 3 г/кг до 15 г/кг массы тела. Препарат вводили внутрижелудочно. Наблюдение за животными вели в течение 12 суток. Для регистрации картины интоксикации

учитывали общее состояние животных, поведенческие реакции, время возникновения и характер интоксикации, ее тяжесть, обратимость, сроки гибели животных. На основе полученных данных, выбирали дозу, при которой наблюдалась смертность половины животных. Обсчет результатов проводились по методу Кербера.

Полученные результаты. LD_{50} , полученного сухого экстракта родиолы розовой, составила $6,65 \pm 1,17$ г/кг.

Выводы. При анализе острой токсичности сухого экстракта родиолы розовой, полученного лаборатории биологически активных соединений, было установлено, что, согласно классификации в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76, лекарственное средство является малотоксичным и по степени токсичности относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные).

ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ ОКАЗАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПОМОЩИ БОЛЬНЫМ, СТРАДАЮЩИМ БИПОЛЯРНЫМ АФФЕКТИВНЫМ РАССТРОЙСТВОМ

Комаров И.А.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ Фармации,
Лаборатория фармакоэкономических исследований*

В ходе проведения анализа затрат было установлено, что использование кветиапина или рисперидона приводит к наименьшим затратам на лечение пациентов, находящихся в состоянии ремиссии в структуре БАР, на протяжении года по сравнению с другими рассматриваемыми альтернативами. При этом только затраты на оказание медицинской помощи на стационарном этапе в группе кветиапина оказались меньше по сравнению с аналогичными затратами в группе рисперидона. Это объясняется тем, что использование кветиапина позволяет достичь большей эффективности, выраженной таким показателем, как предотвращение госпитализаций, по сравнению с использованием рисперидона, что приводит к меньшим затратам на этапе пребывания пациента в стационаре. При этом аналогично другим рассмотренным выше состояниям, наибольшие затраты отмечены при применении аripипразола, что объясняется прежде всего самой высокой стоимостью основной фармакотерапии, а также максимально высокими затратами на амбулаторно-поликлиническом этапе среди всех сравниваемых технологий здравоохранения.

Далее в ходе исследования анализ «влияния на бюджет» был выполнен с учетом имеющихся трех моделей пациентов для каждого из рассматрива-

емых состояний (умеренные и тяжелые маниакальные эпизоды, тяжелые эпизоды депрессии и профилактика рецидивов) в структуре БАР с использованием ЛС кветиапин, аripипразол и оланзапин, поскольку только эти ЛС среди рассматриваемых альтернатив имеют показания к применению во всех данных состояниях при БАР. Временной горизонт анализа «влияния на бюджет» составил один год. В каждом состоянии (модели пациента) на протяжении данного временного интервала находился один пациент, следовательно, каждое из рассматриваемых ЛС применялось для лечения трех пациентов на протяжении года.

Результаты выполненного анализа «влияния на бюджет» при лечении на протяжении года трех пациентов (по одному пациенту в каждом рассматриваемом состоянии при БАР: умеренные и тяжелые маниакальные эпизоды, тяжелые эпизоды депрессии и профилактика) с БАР на основании имеющихся моделей пациентов свидетельствуют, что экономия от использования кветиапина по сравнению с использованием аripипразола составляет 561 144 руб., а по сравнению с использованием оланзапина — 167 337 руб. Показатели «упущенных возможностей» для данных результатов составили 0,29 и 0,09 соответственно.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ: ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ОЦЕНКИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДИАЛИЗА И ГЕМОДИАЛИЗА

Ягудина Р.И., Абдрашитова Г.Т.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
Лаборатория фармакоэкономических исследований*

Цели: проанализировать публикации, описывающие результаты фармакоэкономических исследований диализных методов, выявить структуру методологических подходов, используемых в экономической оценке перитонеального диализа и гемодиализа.

Методы исследования: информационный поиск с использованием: баз данных PubMed, The Cochrane Library, eLIBRARY, опубликованных аналитических отчетов и систематических обзоров литературы.

Результаты: нами был проведен систематический поиск литературы рецензируемых экономи-

ческих оценок диализных методов. Результаты нашего обзора показывают, что гемодиализ (ГД), как правило, является более дорогостоящим и менее рентабельным, чем перитонеальный диализ (ПД) в большинстве исследований, в которых предлагается большее использование ПД или использование ПД в качестве первого метода лечения больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (тХПН). Существуют исключения, где ПД, был дороже, чем ГД. Причины таких исключений множество, но главная среди них может быть методологические различия между исследования-

ми, а также вариации в структуре практики, оценки стоимости и включения/исключения конкретных элементов затрат.

Большинство исследований в нашем обзоре рассматривают только прямые медицинские и немедицинские затраты в своих исследованиях. Важно иметь в виду, что ПД и ГД рассчитываются по разным компонентам прямых затрат. Прямые затраты на ГД зависят главным образом от стоимости персонала, зданий, инфраструктуры и гемодиализного аппарата (т.е., постоянные затраты), в то время как прямые затраты ПД зависят прежде всего от расходов на поставку диализных растворов, системы для внутривенных инфузий и других расходных материалов (т.е. переменные затраты).

Косвенные затраты, такие как потеря внутреннего валового продукта по причине ранней нетрудоспособности, выплаты по инвалидности были редко включены в исследования. Включение косвенных затрат существенно увеличит стоимость любого вида диализа, но эти затраты окажут особое влияние на стоимость ГД, который требует регулярного, длительного диализного лечения за пределами домов пациентов. Тогда как ПД не предполагает использование дорогостоящей аппаратуры и позволяет больному производить его в домашних условиях при соответствующей подготовке.

Сравнение затрат ПД и ГД должно быть основа-

но на общей стоимости терапии, так как поскольку у одних только прямых медицинских затрат нет той же самой актуальности со всех экономических точек зрения. Например, в развивающихся странах, где рабочая сила стоит относительно недорого, а стоимость импортируемых диализных растворов и расходных материалов высока, то легко воспринимать ПД, как более дорогим, чем ГД. Наоборот может быть верным в странах с развитой экономикой, где рабочая сила относительно дороже, чем одноразовые расходные материалы.

Различия между странами в экономическом развитии, системном финансировании здравоохранения и социальных нормах часто мешают интерпретировать результаты из одной страны в контексте другой страны.

Заключение: обзор литературы показал, что в РФ не было проведено экономической оценки диализных методов, детально описывающей и сравнивающей их стоимость при лечении тХПН, включающие и прямые, и непрямые затраты на диагностику, лечение и адаптацию пациентов данным заболеванием. Таким образом, учитывая высокую стоимость лечения тХПН, необходимо проведение фармакоэкономического исследования для нашей страны, чтобы решить такие вопросы, как рациональное финансирование, в том числе распределение имеющихся бюджетных средств.

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ ВНЕДРЕНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ В ОНКОЛОГИИ

Ягудина Р.И., Сороковиков И.В.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
Лаборатория фармакоэкономических исследований*

Цели:

Анализировать рынок онкологических молекулярно-генетических тестов и возможности их применения в условиях Российской Федерации;

Разработать методологические подходы к клинико-экономической оценке диагностических тестов в онкологии.

Методы исследования:

Информационный поиск с использованием: баз данных PubMed, The Cochrane Library, опубликованных аналитических отчетов и систематических обзоров литературы.

Результаты:

В периоде с 2007 по 2012 год по оценкам специалистов мировой рынок *in vitro* диагностики (IVD) растет, за счет развития сегментов молекулярных диагностических тестов, увеличения ряда иммунологических тестов и экспресс тест-систем. Сегмент молекулярно-генетических тестов растет ежегодно в среднем на 10-20% (по прогнозам до 2014 г.). На

данный момент стоимость одной процедуры тестирования на молекулярно-генетические маркеры постепенно снижается и колеблется от 40 до 4000\$, что значительно выше стоимости других лабораторных методов тестирования (иммуно-химических и микробиологических).

В активную клиническую практику в РФ на данный момент входят KRAS- и EGFR-тестирование при колоректальном раке и немелкоклеточном раке легкого. Однако, на данный момент имеются возможности к расширению практики использования предиктивных тестов: тестирование на EML4-ALK мутацию при назначении кризотиниба при немелкоклеточном раке легкого; BRAF V600E-тестирование для вемурафениба при меланоме; HER2/neu-тестирование для трастузумаба при раке молочной железы.

Анализ публикаций показывает, что на данный момент существуют зарубежные и отечественные компаративные исследования, включающие оцен-

ку применения молекулярно-генетических тестов в онкологии, проведенные методами «затраты-эффективность» и «затраты-полезность». Большинство авторов указывают на необходимость оценки применения молекулярно-генетических тестов одновременно вместе с оценкой ассоциированной с ними таргетной терапии. Было установлено, что экономическая оценка применения прогностических молекулярных тестов, позволяющих проводить скрининг и стратифицировать пациентов в популяции, в значительной степени зависит от свойств специфичности и чувствительности самих тестов, а также от распространенности заболевания в популяции. Экономическая эффективность применения таких тестов значительно различается для популяций с крайними (наиболее высокими и наиболее низкими) значениями распространенности заболевания.

Применение предиктивных тестов вместе с последующим назначением таргетной терапии в значительной степени позволяет повысить эффективность лечения и увеличить годы добавленной качественной жизни для пациента (QALY) или предотвратить наступление нежелательных явлений и неэффективность терапии. Однако, в сравнении разных групп онкологических больных (анализ маркеров HER2+2, EGFR и KRAS) ответ на таргетную терапию существенно различается. В связи с этим, необходимо проведение анализа с позиции фармакоэкономики для каждого генетического маркера вместе с анализом последующей таргетной терапии и учетом отдаленных последствий.

Открытым вопросом остается выработка подходов к проведению фармакоэкономических ис-

следований, сравнивающих альтернативы с применением различных технологий тестирования на один онкологический генетический маркер (FISH, CISH, ПЦР и др. технологии), так как различные технологии обеспечивают разную специфичность и чувствительность, а так же могут отличаться по стоимости на одну процедуру. В ходе обзора литературы было найдено одно фармакоэкономическое исследование, учитывающее как распространенность заболевания в разных популяциях, так и особенности различных технологий тестирования для одного генетического маркера: EML4-ALK-тестирование (методами FISH, иммунохимическим и RT-PCR) при назначении кризотиниба при немелкоклеточном раке легкого.

Заключение

Рынок молекулярно-генетических онкологических тестов в РФ является развивающимся и быстрорастущим. Внедрение таких методов тестирования может в значительной степени повысить показатели эффективности противоопухолевой терапии. Обзор литературы показал, что в экономической оценке молекулярно-генетических тестов существует множество аспектов, которые значительно влияют на показатели «затраты-эффективность» и «затраты-полезность» альтернатив с применением онкологических тестов. В целом, применение молекулярно-генетических тестов может являться затратно-эффективным и выгодным для определенных групп онкологических больных. Также необходимо проведение фармакоэкономических исследований в отношении разных технологий тестирования.

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ И ФАРМАКОДИНАМИКИ ПОДОБНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ ИНТЕРФЕРОНА БЕТА — 1А

Митрофанова Е.С.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ Фармации
отдел внедрения новых лекарственных средств*

Введение: Цель данного исследования сравнить показатели фармакокинетики и фармакодинамики препарата Ребиф и его аналога Интерферон бета-1а, с учетом исследования биоактивности препарата.

Методы: В исследовании были включены тридцать шесть здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 45 лет. Исследование было проведено с учетом требований ФЗ №61 «Об обращении лекарственных средств» и ГОСТ Р52379-2005 «Надлежащая клиническая практика». Каждый доброволец подписал информированное согласие перед включением в исследование. Препарат вводился однократно подкожно в дозе 44 мкг. Период на-

блюдения за добровольцами составлял 7 суток. Сравнение фармакокинетики препаратов проводилось за счет основных показателей: значения площади под фармакокинетическими кривыми (AUC), максимальная концентрация препарата (C_{max}), и период полувыведения (T_{1/2}). Для изучения показателей фармакодинамики интерферона бета-1а, использовался стандартный иммуноферментный метод (ELISA).

Результат: Во время исследования не было зарегистрировано серьезных и жизнеугрожающих нежелательных явлений. Все показатели жизненно-важных функций и лабораторных показателей к окончанию исследования были в пределах нор-

ма. Основные показатели фармакокинетики имеют сходные показатели, за исключением среднего времени достижения максимальной концентрации, что связано с наличием в препарате интерферон бета-1а альбумина. Оценка показателей фармакодинамики показала, что концентрация неоптерина, бета2-микроглобулина и белка МхА повышаются как после введения исследуемого препарата, так и после введения препарата сравнения. Концентра-

ция ИЛ-10 и ФНО-лиганда в сыворотке крови добровольцев практически не изменяется как после введения исследуемого препарата, так и после введения препарата сравнения.

Выводы: Оба препарата обладают сходными фармакодинамическими и фармакокинетическими показателями. Также подобный биопрепарат интерферона бета-1а безопасен для использования в медицинской практике.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ ПЕРОРАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПЛАСТОХИНОНИЛДЕЦИЛТРИФЕНИЛФОСФОНИЯ БРОМИДА

Жучкова Е.Д.¹, Петрыкина Е.А.², Терешкина О.И.²

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ Фармации*

Проведены исследования по стандартизации новой лекарственной формы на основе пластохинонил-децил-трифенилфосфония бромид (ПДТФ) — раствор для перорального применения, предназначенной для использования как нейропротекторное и антиоксидантное средство в качестве сопутствующей терапии при травмах мозга и воспалительных заболеваниях почек. Исследования по разработке фармакопейной статьи предприятия (ФСП) на лекарственное средство включали в себя выбор показателей качества, их нормирование в соответствии с требованиями действующего издания Государственной фармакопеей XII издания России (ГФ XII), ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» и на основании экспериментальных исследований лекарственной формы ЛФ, а также исследований физико-химических свойств, входящих в ее состав активной фармацевтической субстанции и вспомогательных веществ. В результате проведенных исследований подготовлен проект ФСП, в который включены следующие разделы: описание, подлинность, pH, плотность, относительная вязкость, посторонние примеси (родственные соединения), извлекаемый объем, молочная кислота, микробиологическая чистота, количественное определение, упаковка, маркировка, хранение, срок годности. Требования к внешнему виду ЛФ (раздел «Описание») установлены на основании визуальной оценки опытных образцов препарата, определение подлинности активного вещества предусмотрено проводить с помощью двух мето-

дов — УФ-спектрофотометрически и с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии с МС-детекцией. Определение pH, плотности, относительной вязкости, микробиологической чистоты препарата предусмотрено проводить в соответствии с общими фармакопейными статьями (ОФС) ГФ XII, ч.1. Для количественного определения посторонних примесей в ЛФ применяется метод ВЭЖХ с УФ-детекцией. Требования к ЛФ по показателю «Посторонние примеси (родственные соединения)» установлены такие же, какие предусмотрены на субстанцию ПДТФ, в том числе проводится определение восстановленной формы ПДТФ. Молочная кислота введена в состав ЛФ в качестве вспомогательного вещества, выполняет функцию консерванта и подкислителя. Содержание молочной кислоты предложено определять методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе с УФ-детектором (210 нм) по сравнению со стандартным образцом молочной кислоты (USP RS). Количественное определение активного вещества ПДТФ предложено проводить с помощью УФ-спектрофотометрии одновременно с подтверждением подлинности. Расчет содержания активного вещества в препарате в мг/мл проводится по его удельному показателю поглощения. В разделе «Упаковка» учтена известная чувствительность ПДТФ (как и любых других хинон-содержащих молекул) к солнечному свету. Первоначальный срок годности установлен на основании результатов изучения стабильности препарата, условия хранения препарата учитывают особенности физико-химических свойств ПДТФ.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПИНОЛИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ ИЗОФЕРМЕНТА CYP2D6 ЦИТОХРОМА P450 МЕТОДОМ ВЭЖХ

Абдрашитов Р.Х.

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета*

Цель: разработать чувствительную и воспроизводимую методику количественного определения пинолина для последующей оценки активности изофермента CYP2D6 цитохрома P450.

Материалы и методы: для количественного определения нами было выбрано эндогенное вещество пинолин. Первая фаза метаболизма данного вещества происходит под действием изофермента CYP2D6. Для исследования проводился отбор мочи у пациентов. Пробы отбирали перед началом лечения и через трое суток после начала лечения. Подбор условий экстракции пинолина из мочи, и последующее хроматографическое исследование этого соединения выполнялся на основании анализа данных зарубежных источников, посвященных данной теме, и по его физико-химическим свойствам. Пробоподготовка образцов заключалась в осаждение белков ацетонитрилом и жидко-жидкостной экстракции органическими растворителями. Для разработки методики количественного определения пинолина и 6-гидрокси-тетрагидрокарболина был выбран метод

высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-детектированием (LC/MS/MS).

Результаты: в результате была разработана чувствительная и селективная методика, позволяющая количественно определить пинолин, с последующей оценкой активности одного из основных изоферментов CYP2D6 без использования экзогенных маркеров.

Выводы: изофермент CYP2D6 участвует в метаболизме 20% лекарственных препаратов. Его субстратами являются антидепрессанты, антипсихотики и антиаритмические препараты. Учитывая тяжесть и частоту развития нежелательных лекарственных реакций при применении данных групп препаратов, следует производить корректировку доз исходя из индивидуальных особенностей метаболизма пациентов. Разработанную методику можно использовать для анализа активности метаболизма субстратов изофермента CYP2D6, с последующим прикладным применением к персонализированной терапии для корректировки доз препаратов.

РАЗРАБОТКА УСОВЕРШЕНСТВОВАННОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ИЗОФЕРМЕНТА CYP2C9 С ПРИМЕНЕНИЕМ ЛОЗАРТАНА

Е.А. Егоренков

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета*

Важнейшей биохимической системой, участвующей в метаболизме лекарственных веществ и различных ксенобиотиков, является система ферментов цитохрома P-450. Изучение активности этих и других ферментов, регулирующих метаболизм лекарственных веществ, является важнейшей задачей для современной клинической фармакологии, так как определение активности ферментов позволяет оптимизировать лекарственную терапию у каждого отдельного пациента, максимально снизив риск возникновения нежелательных лекарственных реакций. Одной из значимых изоформ цитохрома P-450 является CYP2C9, за счет которой происходит метаболизм нестероидных противовоспалительных средств, пероральных гипогликемических ЛС, непрямых антикоагулянтов и некоторых других лекарственных средств. Изофермент CYP2C9 обладает генетическим полиморфизмом. Известно по крайней мере 3 формы

CYP2C9, которые обладают разной активностью. Наблюдалось, что у пациентов с менее активными формами CYP2C9 за счет сниженного клиренса препаратов чаще развиваются нежелательные лекарственные реакции, такие как гипогликемия при приеме пероральных гипогликемических ЛС, геморрагические проявления при применении варфарина и т.д. Для определения активности CYP2C9 методом фенотипирования используется «лозартановый» тест, основанный на метаболизме лозартана до активного метаболита E-3174 под влиянием изофермента CYP2C9. Имеющиеся на сегодняшний день различные методики определения активности CYP2C9 с помощью лозартана не учитывают тот факт, что лозартан также частично метаболизируется изоферментом CYP3A4, поэтому без определения активности CYP3A4 судить точно об активности CYP2C9 по результатам «лозартанового» теста невозможно.

Целью нашей работы была разработка чувствительной и селективной методики одновременного определения активности CYP2C9 с использованием лозартана и CYP3A4 в одной пробе мочи с использованием незначительной пробоподготовки. В качестве субстрата-маркера CYP3A4 был выбран кортизол и его метаболит, 6-β-гидрокортизол, так как они являются эндогенными веществами, что не требует дополнительного приема других препаратов пациентами, и также определяются в моче. В качестве пробоподготовки использовали осаждение белков мочи ацетонитрилом в силу простоты и надлежащей эффективности данной методики. Анализ проводили методом LC-MS на приборе «Agilent 1200» (США) с масс-спектрометрическим детектором.

В качестве подвижной фазы использовали смесь 0,1% раствора муравьиной кислоты с ацетонитрилом (55:45). Колонка: AgilentXDB-C18 4,6x50 мм; 1,8 мкм, температура колонки 30 °C. Объем вкола составлял 50 мкл, скорость потока подвижной фазы — 1,0 мл/мин. Условия MS — SCAN режим в позитивной полярности при значении $m/z=435$ –

427 (лозартан и его метаболит), SIM режим в позитивной полярности при значении $m/z=362,0$ (кортизол), SIM режим в позитивной полярности при значении $m/z=378,4$ (6-β-гидрокортизол). Тип ионизации: API-ES (ионизация электронным ударом при атмосферном давлении).

Для количественного определения использовался метод абсолютной калибровки. Была проведена валидация методики по показателям селективность, прецизионность, точность, линейность, предел обнаружения и предел определения. Разработанная методика является высокочувствительной и селективной, и может быть использована для индивидуального подбора терапевтической дозы антикоагулянтов, пероральных гипогликемических и других препаратов с узким терапевтическим окном, метаболизирующихся CYP2C9 для снижения риска возникновения нежелательных лекарственных реакций. В дальнейшем планируется увеличение количества анализируемых изоферментов в одной пробе с целью создания «коктейльного» метода для быстрого и точного определения их активности.