

# МАТЕРИАЛЫ V-Й НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»

## MATERIALS OF THE V-TH SCIENTIFIC CONFERENCE «ACTUAL PROBLEMS OF ASSESSING THE SAFETY OF MEDICINES»

### 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

В соответствии с Планом научно-практических мероприятий ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России на 2014 год состоялось традиционное мартовское научное мероприятие НИИ фармации — V научно-практическая конференция «Актуальные проблемы оценки безопасности лекарственных средств». Организаторами конференции выступили: Научно-исследовательский институт фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России и секция лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов. В работе конференции приняли участие 10 членов секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, в том числе заслуженный деятель науки РФ, Председатель секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, член совета по этике Минздрава РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор **Гуськова Татьяна Анатольевна**. Особенностью данной конференции является ее проведение после состоявшегося в ноябре 2013 г. IV съезда токсикологов России. В рамках съезда на симпозиуме, организованном секцией лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, была подчеркнута важность проведения ежегодных научно-практических мероприятий, посвященных актуальным проблемам оценки безопасности лекарственных средств в период между очередными токсикологическими съездами.

Целью проведения конференции являлось рассмотрение вопросов, связанных с современными проблемами доклинической и клинической оценки безопасности лекарственных препаратов в нашей стране. В рамках работы конференции в соответствии с ее целью были представлены на обсуждение следующие вопросы:

1. Актуальные проблемы изучения общетоксического действия и специфической токсичности лекарственных средств

2. Особенности методологических подходов к доклинической оценке безопасности лекарственных средств различного происхождения.

3. Новые критерии оценки безопасности лекарственных средств

4. Проблемы гармонизации оценки безопасности лекарственных средств с международными рекомендациями (OECD, EMA, FDA, ICH, WHO).

5. Разные аспекты экспертизы оценки безопасности лекарственных средств.

В настоящее время по-прежнему актуальными остаются многие вопросы, связанные с безопасностью применения лекарственных средств, в том числе с особенностями доклинических и клинических исследований безопасности лекарственных препаратов различного происхождения, проблема гармонизации требований к проведению исследований безопасности. В связи с этим на конференции были заслушаны и обсуждены доклады, посвященные, в первую очередь, современным проблемам лекарственной токсикологии: влиянию хронобиологического фактора при оценке токсичности лекарственных средств, методологии оценки мутагенности и токсикокинетических исследований, доклиническому изучению воспроизведенных препаратов, оценке аномальной токсичности, системе надлежащей лабораторной практики в РФ. Прозвучали доклады, посвященные современному взгляду на оценку анализа отношения польза/риск фармакотерапии, особенностям экспертной оценки безопасности препаратов, содержащих комбинации известных лекарственных средств, оценке отдаленных последствий при доклиническом изучении безопасности. Часть докладов была посвящена особенностям доклинического изучения препаратов природного происхождения, медицинских иммунобиологических препаратов, новых лекарственных форм препаратов. По-прежнему важным современным аспектом, обеспечивающим безопасность лекарственных средств

различного происхождения, являются их качество, гармонизированные подходы к нормированию токсикологически значимых примесей, что также было отражено в докладах конференции. На конференции были освещены клинические аспекты безопасности и переносимости как инновационных, так и воспроизведенных лекарственных препаратов, критерии категоризации лекарственных средств с точки зрения безопасности. Наряду с устными докладами в данной конференции приняли участие 11 стендовых докладов, которые также вызвали живой интерес участников и заслужили высокую оценку членов Президиума конференции высоким качеством и яркой формой представленных материалов.

В работе съезда приняли участие более 150 человек, среди которых сотрудники и студенты Первого МГМУ им. И. М. Сеченова и РНИМУ им. Пирогова, научные сотрудники РГБУ НИИ фармакологии им. Закусова, ГНУ ВИЛАР, сотрудники ФГБУ «НЦ ЭСМП», ОАО ВНЦ БАВ, ГосНИИОХТ, Института иммунологии ФМБА России, сотрудники центра

коллективного пользования РУДН, представители фармацевтических компаний. Участники конференции выразили удовлетворение и признательность за организацию конференции и предложили:

— рекомендовать к публикации в ведущих рецензируемых журналах материалы по теме докладов конференций;

— рекомендовать к публикации тезисы докладов в журнале «Сеченовский вестник»;

— провести следующую ежегодную VI научно-практическую конференцию, посвященную актуальным проблемам оценки безопасности лекарственных средств с участием представителей научной общественности, ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, фармацевтических фирм-производителей, тематика многих докладов для которой была заявлена уже в рамках проходившей конференции.

Организаторы конференции выражают благодарность за помощь в проведении научного мероприятия ООО «ЭкоОнис — экологически чистые технологии».

## ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

### ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР ПРИ ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Гуськова Т.А.

*Некоммерческое партнерство содействия здравоохранению  
«Научный центр контроля качества» (НП СЗ НЦКК), Москва, Россия.*

Токсичность лекарственных средств (ЛС) зависит от многих факторов, одним из которых является функциональное состояние организма и его отдельных органов и систем, которые в свою очередь изменяются во времени, так как пространственно-временная организация живой материи обуславливает периодичность колебания интенсивности процессов, происходящих в организме. Биоритмические колебания можно наблюдать с помощью различных методов на всех уровнях: молекулярном, субклеточном, клеточном, органном и системном. Различают высокочастотные ритмы с продолжительностью периода менее 0,5 часа, среднечастотные (ультрадианные) с продолжительностью периода 0,5–20 часов, циркадианные или циркадные (околосуточные) с периодом 24–48 часов, низкочастотные — циркасептадные (7±). Необходимость учета периодических изменений (в первую очередь суточных и сезонных) физиологических, морфологических, биохимических, гематологических и других показателей гомеостаза животных, используемых при токсикологической характеристике ЛС.

Исследование изменений структуры биоритмов в качестве одного из показателей токсического действия ЛС.

Изучение влияния хронологического фактора на чувствительность организма к ЛС и разработка на основании этих данных оптимальной схемы его применения.

Наиболее значимыми для лекарственных препаратов являются суточные ритмы. Agren G. с соавторами еще в 1931 году в опытах на мышах показали, что судорожная активность инсулина при введении в вечерние часы значительно ниже, чем в дневные. В наших исследованиях показано, что противоопухолевый препарат спиробромин более токсичен при введении мышам и крысам в 10 — 12 часов, чем при введении в 18 — 20 часов. В группах животных, получавших спиробромин в утренние часы, погибло 60% животных, а в группах получавших его в вечернее время только 23 %. Зависимость токсичности от времени введения отмечена для ряда нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), в том числе диклофенака натрия, что было подтверждено в наших исследованиях. Так диклофенак натрия при введении крысам в утренние часы оказывал большее ульцерогенное действие, чем при введении в вечернее время. Большое значение в биоритмологии уделя-

ется деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у животных и человека в норме и патологии. Так у больных с кожными заболеваниями однократный прием кортикостероидного препарата триамцинолона в 8 часов утра был более эффективен и вызывал меньше побочных эффектов, чем прием препарата несколько раз в сутки в той же суточной дозе (3).

Все вышесказанное указывает на необходимость учитывать биоритмы при оценке токсичности ЛС в

эксперименте, и на основании полученных данных рекомендовать оптимальное с точки зрения безопасности его применение в клинике.

Литература:

1. Гуськова Т.А. и соавт. // Фармакология и токсикология, 1987, № 4, С.111.
2. Арушанян Э.Б. и соавт. // Высшая нервная деятельность, 1996, № 1, С. 15.
3. Юдаев Н.А. и соавт. // Биохимия гормонов и гормональной регуляции. М., 1976, С. 217.

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ МЕТОДОЛОГИИ ОЦЕНКИ МУТАГЕННОСТИ ЛЕКАРСТВ

Ревазова Ю.А.

ФГБУН ФНЦГ им. Ф.Ф.Эрисмана

Начало мутагенеза, как направления генетики, относится к 1901 году, когда Гуго де Фриз дал определение «мутации», как внезапного скачкообразного изменения наследственных свойств организма. Индуцированный мутагенез родился в 1922 году благодаря исследованиям Генриха Меллера на плодовой мушке дрозофиле, увеличив темп спонтанного мутирования под действием радиации более чем в 100 раз. Химический мутагенез долго не мог похвастаться подобной результативностью: двукратное или чуть больше превышение уровня спонтанных мутаций было получено под действием иода (Сахаров В.В., 1932 г.), аммиака (Лобашев М.Е., 1934 г.), уксуснокислого свинца (Медведев Н.Н., 1934 г.) и др. Только в середине 40-х годов найдены были химические вещества по мутагенной активности сопоставимые с действием ионизирующей радиации трудами Ш.Ауэрбах, Д.Робсона и И.А.Рапопортом (иприт, формальдегид), позже — этиленмин, нитрометиленин и др.

Начался бум открытия новых мутагенов на различных биологических объектах. К середине 70-х годов сформировалось новое научное направление — генетическая токсикология. «Охота за мутагенами» привела к необходимости стандартизации методов и объектов исследования, потому что сравнительная активность воздействий и ответа живых организмов на них без этого была невозможна. Появляются методические рекомендации и за рубежом и в нашей стране. Задача — общая: в эксперименте выявить потенциальную способность изучаемых веществ (факторов) индуцировать различные типы мутационных изменений (генных, хромосомных и геномных). Набор методов достаточно широк с позиций их взаимозаменяемости. Однако, научное сообщество продолжает поиск новых, в ряде случаев, альтернативных методов выявления потенциальной мутагенности, тем более, что краткосрочный прогноз канцерогенности

осуществляется на основе методов выявления генотоксичности.

Эти исследования, а, соответственно, и меняющиеся методология и схемы испытаний направлены на учет механизмов действия мутагенов (важно для прогноза нежелательных эффектов новых факторов, вводимых в среду обитания человека), на учет возможных модификационных ситуаций в тестировании, включая взаимодействие мутагенов и антимутагенные эффекты (в том числе, проблемы защиты генома) и, наконец, исследования генетической детерминированности индивидуальной чувствительности к действию генотоксикантов.

В поиске и изучении фармакологической активности потенциальных лекарств крайне важным представляется использование адекватных патологических моделей. В сущности, аналогичный подход используют и генетики. Так, в тест Эймса включают набор штаммов с нарушениями проницаемости бактериальной оболочки, облегчающими проникновение мутагена или его метаболитов к генетическому материалу, и разными типами регистрируемых генных мутаций (замена оснований и сдвиг считывания генетического кода), с нарушениями систем репарации генетических нарушений (работа на мышах гибридах первого поколения позволяет нивелировать различия в частоте спонтанного мутирования у низко-и высокомутабельных особей, зависящей от корректной работы и систем репарации, в том числе).

При всех попытках выявить все возможные нарушения генетического аппарата при воздействии разных факторов получаемые результаты дают только вероятностный прогноз опасности для человека. Вопрос о допустимости уровня этой опасности сейчас решается с помощью методологии оценки риска введения того или иного вещества (фактора) в среду обитания человека. Конечно, допустимые риски это тоже условная договоренность, но человеку

всегда нужно определять границы дозволенного и это имеет отношение к проблеме безопасности лекарственных средств.

Современная методология оценки потенциальной мутагенности, кроме этапности проведения исследований, вынуждена будет учитывать и особенности фармакокинетики новых веществ и материалов (наноматериалы, продукты клеточных

технологий и генно-инженерные лекарства и пр.), и, несомненно, индивидуальную, генетически обусловленную, чувствительность человека к лекарственным воздействиям. Последнее активно развивается параллельно с успехами молекулярной генетики в поиске ассоциаций аллельных генов с этиопатогенетическими характеристиками мультифакториальной патологии и ее лечением.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АЭПРИНА И ЭПРЕКСА

**И.В. Березовская, В.И. Рымарцев, Л.И. Волкова, Л.Н. Борисова, Ю.Р. Зюзя.**

*ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ (ВНЦ БАВ)»,  
Московская область, г. Старая Купавна.*

С целью представления материалов в Минздрав РФ для получения разрешения на клинические испытания Аэприна (МНН Эпоэтин альфа), раствор для внутривенного и подкожного введения 40000 МЕ (Лаборатория Тютюр С.А.С.И.Ф.И.Ф., произведено МР Фарма С.А., Аргентина) проведено сравнительное токсикологическое исследование с эталонным препаратом Эпрексом (произведено Силаг АГ, Швейцария).

Острая токсичность определена на нелинейных белых мышцах самцах массой 18-20 г. Средние смертельные дозы ( $LD_{50}$ ) сравниваемых препаратов позволяют отнести их к III классу токсичности, умеренно токсичным веществам по классификации И.В. Березовской.

Введение больших доз технически не возможно, проведенные исследования не позволили определить среднюю смертельную дозу.

Субхронический эксперимент проведен на нелинейных крысах самцах со средней массой  $278 \pm 5$  г. Аэприна и эпрекса вводили подкожно ежедневно однократно в течение 14 дней в дозах 1800 МЕ/кг, десятикратно превышающих максимальную разовую терапевтическую дозу для крыс. По результатам эксперимента местного раздражающего действия препаратов не выявлено.

Сравниваемые препараты в изученных дозах не вызывали достоверных изменений в интегральных показателях у подопытных животных (прирост массы тела, поведенческие реакции, потребление пищи, воды), но вызывали увеличение концентрации гемоглобина, эритроцитов, цветового показателя, ретикулоцитоз и тромбоцитоз в периферической крови, увеличение триглицеридов в обеих группах и снижение глюкозы в сыворотке крови во 2-ой группе. Проведенные исследования дают основание констатировать у сравниваемых препаратов кардиотоксическое действие, гепатотоксический эффект, влияние на иммунные органы. Орган-мишень - печень и селезенка, судя по изменению относительной массы органов.

Подтверждена идентичность действия эпоэтина альфа и эпрекса.

Общетоксическое действие препаратов аэприн и эпрекс в дозе 1600 МЕ/кг в/в, изучено в субхроническом токсикологическом эксперименте на кроликах. После двухнедельного введения препаратов не обнаружено местного раздражающего действия. Сравниваемые препараты не вызывали достоверных изменений в приросте массы тела, содержании глюкозы в сыворотке крови, состоянии выделительной системы, в относительной массе органов. Не обнаружен орган-мишень. Оба препарата вызывали увеличение концентрации гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов в периферической крови, содержания общего холестерина, концентрации триглицеридов в сыворотке крови подопытных животных. У отдельных животных гистологически обнаружены слабо или умеренно выраженные признаки интоксикации в виде небольшой очаговой гидропической дистрофии гепатоцитов, отека стромы органов, венозного полнокровия, микрокровоизлияний, а также небольшие реактивные изменения лимфатических узлов, селезенки, тимуса (макрофагальная реакция синусов, полнокровие, небольшая пролиферация телец Гассала). В месте введения (ухо) обнаружен мелкоочаговый фиброз, полнокровие, кровоизлияния, отек стромы, васкулит мелких сосудов у отдельных животных в обеих испытываемых группах; практически у всех животных клеточная мелкоочаговая инфильтрация (лимфоидными клетками, плазмócитами, макрофагами, нейтрофильными и эозинофильными лейкоцитами).

Морфологическая картина идентична в обеих испытываемых группах.

Проведенные исследования дают основание констатировать идентичность действия сравниваемых препаратов при внутривенном введении.

Эксперименты проведены в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (приказ МЗ РФ от 23.08.10 № 708н).

## ИЗУЧЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ — РЕАЛЬНАЯ НЕОБХОДИМОСТЬ?

**Крепкова Любовь Вениаминовна**

*Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ГНУ ВИЛАР)*

Серьезной проблемой современного здравоохранения является оценка безопасности медикаментозного лечения во время беременности, которая требует активного анализа научных данных о репродуктивной токсичности лекарственных средств, находящихся на фармацевтическом рынке. Источниками информации могут служить интернет, электронные базы данных или веб-сайтов ([www.reprotox.org](http://www.reprotox.org), [www.embryotox.de](http://www.embryotox.de) и др.), медицинские журналы, монографии, научные публикации конференций, съездов и т.д. В настоящее время безопасное использование лекарственных средств во время беременности приобретает все большую актуальность и значимость, так как ежегодно лекарственные средства, не имеющие установленного уровня безопасности, либо принимаются самостоятельно пациентами, либо назначаются врачами. Одной из причин этого является отсутствие или противоречивость информации об использовании того или иного лекарственного средства в репродуктивном периоде или во время беременности. Для предотвращения нежелательных исходов беременности врачам необходимо располагать достоверной информацией о возможных последствиях, вызываемых медикаментозным лечением и гарантировать безопасность применения лекарственных препаратов. Для этого необходимо проведение не только эпидемиологических исследований, но и изучение репродуктивной токсичности лекарственных средств на этапе их доклинического исследования. В настоящее время накоплен значительный опыт, свидетельствующий о возможности негативного влияния ряда лекарственных средств на течение беременности и плод. Это такие препараты как, талидомид, ретиноиды, витамин А, диэтилstilбэстрол, карбамазепин, андрогены, ацетилсалициловая кислота, фенобарбитал и многие другие. Широкая информированность населения о возможном негативном влиянии

на плод широкого ряда лекарственных средств являлась сдерживающим фактором для многих женщин и заставляла их отказаться от самостоятельного лечения и приема рецептурных лекарств во время беременности, или заменить их, как считается, на более безопасные фитопрепараты, в том числе биологически активные добавки в пищу (БАД), содержащие в своем составе лекарственное растительное сырье. Однако хорошо известно, что препараты растительного происхождения и БАДы не такие уж безобидные. В настоящее время имеется достаточно много данных о негативном влиянии лекарственных растений (вербена лекарственная трава, солодка голая корни, ферула вонючая корни, хмель обыкновенный соплодия, цимицифуга кистевидная коровища с корнями, шалфей лекарственный листья зверобой трава, экстракт цветков мальвывискус, шлемника корни, термопсис ланцетовидный и многие другие) и препаратов, созданных на их основе, на репродуктивную функцию (снижение фертильности, индекса сперматогенеза, нарушение менструального цикла и др.) и развитие потомства в постнатальном периоде жизни (снижение массы и размеров тела, нарушение физического развития, исследовательского поведения, обучаемости и др.) животных и человека. Следует отметить, что возникновение указанных токсических эффектов при клиническом применении фитопрепаратов и БАДов зависит от ряда причин, в том числе от качества лекарственного растительного сырья, способа получения, фитохимического состава, определения действующих доз и др. Таким образом, для гарантии безопасного назначения растительных лекарственных средств во время беременности и грудного вскармливания необходимо располагать достоверной информацией о такой возможности и, следовательно, проводить более строгие и тщательно контролируемые доклинические исследования.

## ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХ КОМБИНАЦИИ ИЗВЕСТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

**Немкова И. Н., Сюбаев Р. Д.**

*ФГБУ «НЦ ЭСМП» Минздрава России*

**Цель:** оптимизация экспертных подходов к оценке безопасности комбинированных лекарственных препаратов.

**Методы:** анализ результатов экспертизы безопас-

ности комбинированных лекарственных препаратов в ФГБУ «НЦ ЭСМП».

**Результаты:** Уникальность комбинированных лекарственных препаратов (КЛП) обусловлена

возможным изменением свойств лекарственных средств при совместном применении вследствие воздействия активных компонентов на общие мишени фармакологического действия, токсичности и биотрансформации. В связи с этим адекватная характеристика безопасности КЛП включает не только определение ожидаемого суммарного спектра фармакологических и токсических эффектов и ожидаемых взаимодействий комбинации лекарственных средств, но также оценку потенциальных эффектов их взаимодействия. Результаты экспертизы во многих случаях свидетельствуют об отсутствии достаточно аргументированного экспериментального и теоретического обоснования безопасности КЛП. Проблема оценки безопасности КЛП, содержащих известные лекарственные средства, имеет методологический и информационный аспекты. Основной методологической причиной неадекватности программы токсикологических исследований является формальный дизайн экспериментов, который не предусматривает изучения взаимодействия путем сравнения эффектов комбинации с эффектами ее компонентов. Подобный дизайн исследований можно считать приемлемым только для воспроизведенных КЛП, которые полностью соответствуют зарегистрированным аналогам по дозировке лекарственной

формы и по условиям применения, указанным в инструкции. В остальных случаях, при разработке новых комбинаций, а также при изменении количественного соотношения активных компонентов или условий применения известных лекарственных комбинаций, необходимо провести разностороннюю оценку профиля безопасности КЛП с учетом риска потенциальных взаимодействий. Другой не менее важной причиной неадекватной оценки безопасности КЛП является дефицит специальной информации о результатах исследований общетоксического действия и специфической токсичности известных лекарственных средств, необходимой для анализа риска потенциальных эффектов взаимодействия. Система прогнозирования потенциальных взаимодействий лекарственных средств, входящих в состав КЛП, основана на анализе и сопоставлении токсикологических и клинических мишеней действия и режима дозирования активных компонентов с помощью аналитических таблиц.

**Выводы:** экспертиза безопасности КЛП включает комплексный анализ адекватности экспериментального изучения и прогностической оценки ожидаемого профиля токсичности комбинации лекарственных средств и риска потенциальных эффектов лекарственного взаимодействия.

## ТОКСИКОКИНЕТИКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ: АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Степанова Елена Сергеевна, Чистяков Виктор Владимирович

Центр коллективного пользования РУДН

**Цель:** провести сравнительный анализ отечественных и зарубежных нормативных документов по вопросам доклинического изучения безопасности лекарственных средств (ЛС). Изучить опубликованные результаты токсикокинетических исследований, определить современные требования по изучению токсикокинетики.

**Материалы и методы:** проанализированы зарубежные методические руководства национального и международного статуса, публикации в профессиональной периодической литературе посвященные проведению исследований токсикокинетики.

**Результаты:** В рамках доклинического изучения токсичности лекарственных средств токсикокинетика является продолжением фармакокинетических исследований и описывает изменение экспозиции вещества при применении высоких доз, относительно терапевтических.

Официально необходимость проведения токсикокинетических исследований для стран ЕС, Японии и США была закреплена на Международной

Конференции по гармонизации (ICH) в 1994 г в принятом документе «Руководство по Токсикокинетики: оценка системного воздействия в исследованиях токсичности». В целях гармонизации национальных правовых документов с международными, в России специалистами Центра экспертизы средств медицинского применения МЗ РФ подчеркивается необходимость создания отдельного руководства по исследованию токсикокинетики лекарственных средств. Однако до настоящего времени, ни методических рекомендаций, ни регулирующих документов по проведению токсикокинетики в Российской Федерации нет.

На основании анализа зарубежных нормативных документов и опубликованных материалов алгоритм исследования токсикокинетики может быть представлен следующим образом:

Сбор и анализ доступной информации по изучаемому ЛС;

Выбор определяемых фармакокинетических параметров ( $AUC$ ,  $C_{max}$ ,  $C_t$ ).

Выбор видов и количества животных. Токсикокинетика может быть интегрирована в исследования токсичности, и проводится на двух видах животных, разделенных по полу и возрасту. Биоматериал забирают у животных из репрезентативных групп, или у животных на которых изучается токсичность, если это не вызывает у них физиологический стресс.

Для оценки зависимости экспозиции от дозы выбирают три уровня доз;

В качестве пути введения выбирают тот, что описан для клинического применения ЛС;

Выбор биоматрицы и частоты отбора проб;

Аналитом, описывающим кинетику может быть действующее вещество и/или его метаболит(ы);

Выбор и валидация аналитического метода;

Экспериментальное определение фармакокинетических параметров и интерпретация полученных результатов. Исследования должны проводиться в соответствии с правилами GLP.

Выводы: определены общие подходы к исследованию токсикокинетики, как одному из критериев доклинической оценки безопасности лекарственных средств. Составлен алгоритм токсикокинетических исследований. На основании изученной литературы установлено, что токсикокинетические исследования позволяют полнее интерпретировать результаты токсикологических исследований лекарственных средств.

## ВВЕДЕНИЕ СИСТЕМЫ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ В РФ

Скобцова Л.А., Мурашев А.Н.

*Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, Пущинский государственный естественно-научный институт*

Введение национальной системы надлежащей лабораторной практики в РФ утверждено распоряжением правительства от 28.12.2012 года №2603-р «Об утверждении Национальной программы реализации принципов надлежащей лабораторной практики Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) в деятельности российских испытательных центров (лабораторий) в области неклинических лабораторных исследований...». Национальная программа включается в себя нормативную базу, орган мониторинга с инспекторами и собственно лаборатории. В настоящее время в РФ введены 15 ГОСТ, которые являются аутентичными переводами соответствующих документов ОЭСР. Первый документ (ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики») был введен 1-го марта 2010 года. Остальные 14 документов (ГОСТ с 31879-2012 по 31891-2012 и 31900-2012) были разработаны в 2012 году. 8-го ноября 2013 года вышло распоряжение правительства №2067-р с перечнем документов (ГОСТ Р 53434-2009 и ГОСТ с 31881-2012 по 31888-2012, 31890-2012 и 31891-2012), соблюдение требований которых при проведении исследований обеспечивает соответствие лабораторий принципам надлежащей лабораторной практики (Принципам). Кроме этого, в настоящее время обсуждается проект закона «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в связи с применением принципов надлежащей лабораторной практики». Принятие этого закона может потребовать изменений в соответствующих статьях закона «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 №61-ФЗ, и соответственно отмену приказа Минздравсоцразвития от 23.08.2010 №708н «Об

утверждении Правил лабораторной практики».

В соответствии с постановлением правительства от 17.12.2013 №1172 «О признании и об оценке соответствия испытательных лабораторий (центров) принципам надлежащей лабораторной практики...» Федеральная служба по аккредитации объявлена органом РФ по мониторингу испытательных лабораторий на предмет их соответствия Принципам. Согласно Правилам, утвержденным этим постановлением, испытательная лаборатория в добровольном порядке подает заявление в орган мониторинга сначала на предварительную инспекцию с целью проведения оценки соответствия Принципам, а затем полную инспекцию с целью получения признания. Оплата за предварительную инспекцию определена в 200 тысяч рублей (пункт 107 Правил), полную — 300 тысяч рублей (пункт 108 Правил). Срок устранения выявленных в ходе проведения предварительной инспекции несоответствий испытательной лаборатории Принципам не может превышать 3-х месяцев (пункт 28 Правил). К сожалению, данными Правилами не учитываются размеры испытательных лабораторий, маленькие лаборатории (10-15 сотрудников, 4-5 комнат, 1-2 метода тестирования) должны будут платить столько же, сколько большие лаборатории, хотя инспекционные расходы на маленькие лаборатории будут существенно меньше. Кроме этого, обязательность предварительной инспекции и 3-х месячный срок устранения выявленных в ходе ее проведения несоответствий Принципам вызывают некоторые сомнения в их правильности. По-видимому, было бы разумнее оставить право выбора за лаборато-

рией подавать заявление сначала на предварительную инспекцию или же сразу на полную. Если лаборатория устранил несоответствия за 3 месяца и 7 дней, согласно Правилам она должна будет снова подавать заявление на предварительную инспекцию или же возможны варианты?

Внедрение Принципов в самих испытательных лабораториях имеет как экономические, так и политические аспекты. Одним из стимулов для внедрения Принципов в лабораториях может послужить внесение изменений в правила регистрации продуктов, исследованных в соответствии с Принципами.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ АНОМАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ АНТИБИОТИКОВ ЦЕФАЛОСПОРИНОВОГО РЯДА

*Шаройкина М.В., Ковалева Е.Л., Неугодова Н.П.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России*

Цефалоспориновые антибиотики — это класс антибактериальных препаратов, получаемых полусинтетическим путем и наиболее широко применяемых в медицине.

В настоящее время на отечественном фармацевтическом рынке зарегистрировано около 100 лекарственных препаратов (ЛП) цефалоспоринов для парентерального применения. Многие из этой группы лекарственных средств отнесены Распоряжением Правительства РФ к жизненно необходимым и важнейшим лекарственным препаратам (это такие препараты, как цефазолин, цефтриаксон, цефоперазон и др).

Фармацевтические субстанции цефалоспоринов получают с использованием микробиологического синтеза, что повышает возможность появления неконтролируемых токсических примесей, оптимальным методом выявления которых, является испытание на аномальную токсичность.

Основными параметрами, позволяющими установить наличие токсического эффекта антибиотиков являются: адекватная величина тест-дозы, вводимая животному, стандартные — путь и скорость введения препарата.

Испытание на аномальную токсичность впервые в СССР было включено в 1961 году Государственной фармакопеей СССР IX издания именно для антибиотиков. В документе были четко регламентированы основные требования для проведения испытания. На протяжении последующих 50 лет в России испытания на токсичность антибиотиков для парентерального применения проводили при внутривенном введении мышам массой 20 г тест-дозы препарата в объеме 0,5 мл/мышь со скоростью 0,1 мл в секунду.

В настоящее время испытание на аномальную токсичность предусмотрено в ведущих зарубежных фармакопеях: Фармакопеи США (ФСША) и Европейской (ЕФ). Если в ГФ XII и ФСША скорость введения препарата составляет 0,1 мл/с, то в ЕФ предусмотрено более медленное введение: 0,1 мл

за 3 или 6 с, что не позволяет получить однозначные результаты. Препарат, введенный внутривенно в одной и той же дозе, но с различной скоростью, может вызвать токсические эффекты различной интенсивности и, соответственно, привести к неоднозначным результатам испытаний.

В «Стратегии развития фармацевтической промышленности РФ на период до 2020 года» определена необходимость гармонизации ГФ с ЕФ. Различие в методических подходах ГФ XII и ЕФ к проведению испытанию усложняет сравнительную оценку ЛС по показателю «Аномальная токсичность».

Анализ базы нормативной документации, на зарегистрированные в России препараты цефазолина, цефтриаксона и цефоперазона в лекарственной форме «порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения», показал различные требования при оценке аномальной токсичности для препаратов разных производителей. Например, для 15 зарегистрированных препаратов цефазолина при испытании на токсичность диапазон тест-доз меняется от 25 мг до 50 мг на мышь, скорость введения также различается от 0,1 мл/с до 0,1 мл/6 с.

Данные доклинических исследований острой токсичности ЛП, на основании которых должны устанавливаться тест-дозы для показателя «Аномальная токсичность», представленные различными производителями, свидетельствуют, что значения  $LD_{50}$  могут значительно отличаться друг от друга и от литературных данных.

Все сказанное обуславливает необходимость гармонизации и унификации требований, предъявляемых к оценке аномальной токсичности, на все препараты антибиотиков цефалоспоринового ряда для парентерального введения. В связи с этим представляется актуальным дальнейшее проведение исследований для установления предельно переносимых доз антибиотиков при более медленном введении.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ОТСТАВЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ПРИ ДОКЛИНИЧЕСКОМ ИЗУЧЕНИИ ЦИСПЛАТИНА

Сивак К.В., Гайкова О.Н., Саватеева-Любимова Т.Н.

ФГБУН ИТ ФМБА России, Санкт-Петербург

При доклиническом изучении цисплатина и его воспроизведенных аналогов (дженериков) нефротоксичность является критическим и лимитирующим побочным эффектом. При этом препарат имеет индекс безопасности менее 1. **Целью** настоящего исследования явилась разработка методических подходов к оценке отставленных последствий курсового введения цисплатина и его дженерика с установлением морфологического диагноза поражения почек.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на 60 аутобредных крысах-самцах, полученных из питомника «Столбовая». Цисплатин (субстанция Sigma-Aldrich) и его аналог Цисплатин-ТЕВА вводили 4-хкратно внутривенно на стерильном и апирогенном физиологическом растворе натрия хлорида лабораторным животным по схеме: 0,2 и 2,0 мг/кг в 1-е, 3-и, 5-е и 7-е сутки. Наблюдали клиническую картину, на 14-е, 30-е и 90-е сутки (после первого введения) регистрировали гематологические, биохимические показатели и проводили анализ мочи. Патоморфологическое исследование проводили через 1 и 3 месяца после начала введения (окраска препаратов гематоксилин-эозином и пикро-сириусом красным). Для статистической обработки данных использовали программу Statistica 8.0.

**Результаты.** Гибель крыс наблюдалась в группах, получавших 2,0 мг/кг в течение первого месяца, которая составила для субстанции цисплатина 30%, для дженерика — 20%. В течение первого месяца (14-е и 30-е сутки) у животных, получавших 2,0 мг/кг, были выявлена лимфопения, сменявшаяся лейкоцитозом; повышение активности трансаминаз (в 2 раза) и щелочной фосфатазы (в 5 раз); умеренное повышение уровня креатинина и мочевины (в 1,2 и 1,6 раза). Через 1 месяц было установлено поражение органов-мишеней в виде дистрофических, воспалительных и некробиотических изменений. Через 3 месяца после введения цисплатина и цисплатина-ТЕВА были выявлены однотипные изменения, ранее в литературе

не описанные. А именно: изостенурия, появление в моче патологических элементов, повышение активности ферментов канальцев, уровня коллагена; в крови — сохранение повышенной активности щелочной фосфатазы (более 1000 Ед/л,  $p=0,003$ ), уровня общего холестерина (более 4 ммоль/л,  $p=0,040$ ) и триглицеридов (более 2 ммоль/л), мочевины (9-14 ммоль/л) и креатинина (124-340 мкмоль/л,  $p=0,016$ ). Для верификации диагноза было проведено исследование уровня маркера продуктов глубокого окисления белков (АОРР,  $D_{2,0\text{мг/кг}}=109$  мкмоль/л против  $D_{0\text{мг/кг}}=14$  мкмоль/л,  $p=0,022$ ) и исследование мочи с тест-полосками Aution Sticks 10PA, позволяющими рассчитывать индекс белок-креатинин мочи (Р/С). Протеинурия составила 200-500 мг/г креатинина ( $p=0,030$ ). Морфологическое исследование показало формирование тубулоинтерстициального нефрофиброза с поражением преимущественно медуллярной зоны почки. При этом установлено, что рост коллагеновых волокон был максимально выражен около почечных сосудов и распространялся в интерстиций. Кроме этого, наблюдалось появление новообразованных лимфатических сосудов в перитубулярном пространстве. Пожалуй, самым интересным фактом отставленного поражения почек служит обнаруженная кистозная трансформация и интерстициальный фиброз с локализацией в коре, а также S-зоне и медулле почек.

**Заключение.** Анализируя полученные данные, мы предлагаем следующий набор тестов и методов при доклиническом изучении безопасности цисплатина: 1) увеличить сроки наблюдения до 3 месяцев; 2) оценивать, наряду с общепринятыми, показатели анализа мочи в динамике; 3) использовать суправитальную окраску мочевых осадков для визуализации и расчет протеин-креатининового индекса мочи; 4) помимо гематоксилин-эозина использовать и окраску пикро-сириусом красным для возможности идентификации типов коллагеновых волокон в срезах почек.

## ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ИНГАЛЯЦИОННОГО ВВЕДЕНИЯ

Чепур С.В., Быков В.Н., Юдин М.А., Тюнин М.А., Иванов И.М., Анохин А.Г., Никифоров А.С.

Научно-исследовательский испытательный институт (военной медицины)  
Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург

В последние годы в результате интенсивного развития технологий ингаляционных лекарственных форм, в значительной степени, расширился спектр

их применения в клинической практике. Помимо дозированных аэрозольных ингаляторов широкое распространение получили новые лекарственные

средства в форме раствора для небулайзера и порошка для ингаляций. Использование данных видов лекарственных форм рассматривается как альтернативный вариант пероральному пути для системной доставки фармакологически активных веществ.

Особое значение при проведении доклинических исследований безопасности ингаляционных лекарственных средств отводится выбору вида лабораторных животных, методики введения и дозирования. Ингаляционное введение лекарственных средств в форме раствора или порошка у животных может быть выполнено пассивно посредством самостоятельного дыхания или путем прямого введения в легкие через трахею. Пассивное ингаляционное введение осуществляется либо путем общего ингаляционного воздействия, либо путем воздействия на область головы/носа. Основным преимуществом данной методики является возможность одновременного введения лекарственных средств в высоких дозах достаточно большому количеству животных. К недостаткам относят: большие потери вещества и плохой контроль дозирования по причине осаждения значительной доли аэрозоля в верхних дыхательных путях. При пассивном ингалировании доля аэрозоля, доставляемая в дыхательные пути животных составляет около 0,1 %, а в легкие — не более 0,01 %. Кроме того, для определения доставляемой дозы необходимо контролировать концентрацию аэрозоля, размер частиц, а также параметры внешнего дыхания, особенно если исследуемое вещество, оказывает на него угнетающее действие.

Проблему контроля дозирования, во многом, решает методика интратрахеального введения. При данном способе отсутствует необходимость контроля размера частиц аэрозоля и показателей внешнего дыхания. Данная методика проста и может быть

использована как у мелких, так и у крупных животных. На сегодняшний день доступны специальные устройства для интратрахеального введения жидких и твердых аэрозолей, причем жидкие формы можно либо распылять, либо инстиллировать. Возможность введения порошков позволяет исследовать нерастворимые в воде лекарственные средства. Несмотря на очевидные преимущества, методика имеет ряд ограничений. Во-первых, необходимо проведение общей анестезии. Во-вторых, эффективность доставки не сопоставима с реальным применением, при котором, как правило, не более 25 % вдыхаемого аэрозоля достигает легких. В-третьих, присутствуют существенные ограничения в количестве вводимого раствора и порошка, а также объема воздуха для распыления аэрозоля в трахеи и массы распыляемого порошка при однократном введении. Например, для крыс рекомендованный объем для интратрахеального введения растворов составляет 100 мкл. Также интратрахеальное введение не рекомендуется выполнять многократно из-за высокой вероятности развития инфекционных осложнений, что значительно ограничивает использование методики при исследовании подострой и хронической токсичности.

Таким образом, при планировании доклинических исследований ингаляционных лекарственных средств следует учитывать множество факторов, от которых зависит не только стоимость исследований, но и объективность получаемых данных. Очевидно, что для обеспечения однозначности трактовки результатов и построения адекватного прогноза безопасности у человека, требуется разработка отдельных общих методических рекомендаций по проведению доклинических исследований эффективности и безопасности ингаляционных лекарственных средств.

## К ВОПРОСУ О ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ТЕРАПИИ НАРУШЕНИЙ ДЫХАНИЯ

Чепур С.В., Быков В.Н., Юдин М.А., Иванов И.М., Тюнин М.А., Никифоров А.С., Венгерович Н.Г.

*Научно-исследовательский испытательный институт (военной медицины)  
Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург*

Использование препаратов на фоне хронических заболеваний дыхательной системы может сопровождаться развитием осложнений и выраженным ухудшением состояния здоровья пациентов. Доказанная причинно-следственная связь протекания заболевания с приемом препарата или нескольких фармакологических средств позволяет констатировать о развитии ятрогений. В связи с этим исследования, направленные на оценку «польза-риск» у различных категорий пациентов с заболеваниями дыхательной системы, приобретают особую актуальность.

Хронические обструктивные заболевания дыхательных путей характеризуются большой распространенностью в мире. К числу наиболее опасных состояний, при которых сохраняется риск развития побочных эффектов от приема фармакологических средств, можно отнести компенсированную дыхательную недостаточность.

При проведении доклинических исследований безопасности новых лекарственных средств представляется обоснованным применение экспериментальных моделей дыхательной недостаточности

для прогноза безопасности изучаемых препаратов у лиц с хронической парциальной недостаточностью здоровья. Для моделирования синдрома дыхательной недостаточности наиболее целесообразным представляется использовать химические модели, к преимуществам которых можно отнести простоту воспроизведения, амплитуду биологического отклика, предсказуемый показатель выживаемости, возможность варьирования тяжести дыхательных нарушений в зависимости от дозы токсиканта. Основным недостатком таких моделей можно считать низкую избирательность поражения, и как следствие наличие общетоксического действия.

Модель дыхательной недостаточности на фоне поражения паракватом в сублетальных и летальных дозах представляется оптимальной для воспроизведения состояний, характеризующихся поражением легких с прогрессирующим развитием нарушений дыхания в течение 7–10 дней. Для данной модели разработаны критерии оценки степени тяжести дыхательной недостаточности на фоне использования тестов скрининга физической работоспособности («бег на тредбане до отказа», «плавание с грузом»). В основе моделирования дыхательной недостаточности была использована классификация синдрома по тяжести состояния.

Декомпенсацию состояния определяли по изменению газового состава крови.

После внутрибрюшинного введения крысам параквата в дозе 20 мг/кг отмечали тахипноэ (180–220 в мин), потерю массы тела 10–20 %, цианоз слизистой и кожи, уменьшение времени бега на тредбане в 2–3 раза по сравнению с фоном, изменение параметров кардиореспираторной системы более чем на 20 % и замедленное (более 30 мин) восстановление после физической нагрузки, гибель крыс (до 10 % животных в течение 5 сут). Компенсированная форма дыхательной недостаточности формировалась не менее чем у 40 % животных.

В исследованиях прослежено изменение острой токсичности новокаинамида, амиодарона, бетаксолола, пропранолола, прозерина, коргликона, адреналина гидрохлорида, мезатона при однократном и курсовом введении интактным животным и животным с компенсированной формой дыхательной недостаточности. Наиболее выраженными побочными эффектами при подостром введении (в течение 5 дней) среди исследованных препаратов обладали прозерин и новокаинамид. Эти препараты при применении в максимальных терапевтических дозах на фоне компенсированной дыхательной недостаточности способствовали переходу в декомпенсированную стадию.

## ПРИМЕСИ ПОСТОРОННИХ ЖИРНЫХ МАСЕЛ КАК ФАКТОР РИСКА МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МАСЕЛ ЖИРНЫХ

*О.И.Терешкина, Н.В.Молчан, Е.А.Петрыкина, И.П.Рудакова, И.А.Самылина*

*ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России НИИ Фармации*

Определение посторонних жирных масел (ПЖМ) в маслах жирных дополняет собой перечень основных требований, предъявляемых к жирным маслам. Показатель «Посторонние жирные масла» является одним из критериев, определяющих не только качество, но и безопасность масел жирных, широко применяемых в качестве лекарственных средств и вспомогательных веществ, в том числе в качестве растворителей в парентеральных лекарственных формах. Согласно проведенным информационно-аналитическим исследованиям в зарубежные фармакопеи включены разные подходы к определению и нормированию данного вида примесей. Методом тонкослойной хроматографии подтверждают отсутствие ПЖМ, содержащих эруковую кислоту. Методом газовой хроматографии определяют качественный и количественный профиль состава ПЖМ путем предварительного метилирования жирных кислот, образующихся после гидролиза жирных масел. В монографиях на определенный вид жирного масла предусмотрено подтверждение отсутствия некоторых ПЖМ (качественные реакции) и определение нормируемого профиля состава ПЖМ.

Эруковая кислота (ЭК) — одно из токсикологически значимых биологически активных веществ, входящих в состав масел жирных. В составе некоторых растительных масел (рапсовое, горчичное, сурепное), получаемых из семян растений семейства Крестоцветных (Brassicaceae), ЭК (в виде триглицеридов) составляет около 50% (по массе). В относительно небольших количествах ЭК содержится в миндальном и арахисовом масле. ЭК имеет тенденцию накапливаться в различных тканях, что замедляет рост и наступление репродуктивной зрелости организма. Отмечена способность ЭК вызывать нарушение сердечно-сосудистой системы, инфильтрацию скелетной мускулатуры и миокарда, цирроз печени. Рапсовое масло наряду с глицеридами ЭК может содержать и тиогликозиды, продукты деструкции которых — изоцианаты также обладают репротоксическими свойствами, могут вызывать функциональные и морфологические изменения щитовидной железы, энтероколиты. С целью повышения безопасности применения масел в пищевой и фармацевтической промышленности применяют масла очищенные с нормированным содержанием токсикологически

значимых биологически активных веществ. В рапсовом и горчичном масле для пищевого применения в соответствии с требованиями ФАО ВОЗ содержание ЭК не должно превышать 5%, тиогликозидов — 3%. Содержание ЭК в арахисовом масле в соответствии с требованиями Европейской фармакопеи (ЕФ) не должно превышать 0,5%; Фармакопеи США (ФСША) и Японии данный показатель для рапсового масла не нормируют. В статью «Рапсовое масло с низким содержанием эруковой кислоты» ФСША включены нормы содержания ЭК: не более 2%. В соответствии с требованиями ЕФ в миндальном масле должны отсутствовать примеси абрикосового, персикового, кунжутного и хлопкового масел, а также приводится описание количественного профиля состава

жирных кислот; содержание ЭК не должно превышать 0,1 %. По ФСША в миндальном масле должны отсутствовать косточковые масла, кунжутное и хлопковое масло, содержание ЭК не нормируется.

На основании проведенных исследований впервые разработан гармонизированный проект ОФС «Определение посторонних жирных масел в маслах жирных», предусматривающий определение ПЖМ методами тонкослойной и газовой хроматографии, что позволит повысить уровень качества и безопасности медицинского применения масел жирных. При разработке проектов фармакопейных статей на отдельные виды масел жирных также должно быть предусмотрено определение и нормирование индивидуального профиля состава примесных ПЖМ.

## К ВОПРОСУ ОБЕСПЕЧЕНИЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АЛЛЕРГЕНОВ ИЗ ПЫЛЬЦЫ РАСТЕНИЙ

Смирнов В. В., Боков Д. О.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Таблица 1.

Методика определения Bet v 1 с помощью ВЭЖХ/МС/МС

| Параметр                                              | Условия проведения анализа                                                                                        |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Условия хроматографического разделения</b>         |                                                                                                                   |
| Колонка                                               | Фирма-производитель — Agilent Technologies (США); фаза — XDB-C18; размер — 4.6 × 150 мм; диаметр частиц — 5,0 мкм |
| Система водоподготовки                                | Millipore Milli-Q Advantage A10 (France)                                                                          |
| Температура колонки                                   | +30 °C                                                                                                            |
| Скорость потока                                       | 0,3 мл/мин                                                                                                        |
| Объем вводимой пробы                                  | 10 мкл                                                                                                            |
| <b>Масс-спектрометрические условия детектирования</b> |                                                                                                                   |
| <b>Параметры источника ионизации:</b>                 |                                                                                                                   |
| Тип ионизации                                         | Сдвоенная система ионизации (DUI): электроспрей (ESI) и химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)      |
| Режим Q1                                              | Product ion mode в положительной полярности. Q1 в SIM режиме при m/z = 876,1                                      |
| Энергия ионизации в калюзионной ячейке                | — 35 В                                                                                                            |
| Режим Q3                                              | SCAN с диапазоном m/z от 123,2 — 876,1                                                                            |

Одной из основных мер по обеспечению качества выпускаемых медицинских иммунобиологических препаратов аллергенов (МИБПА) является их стандартизация. Определение показателей — подлинности, рекомендованного ГИСК им. Л.А. Тарасевича, и содержания индивидуального (мажорного) аллергена, согласно Европейской Фармакопее, — как важнейших методов оценки качества МИБПА (производимых из пыльцы растений — *Betula pendula* Roth., *Phleum pratense* L. и др.; животного происхождения — клещей домашней пыли и др.), проводится целым рядом методов (ИФА, РАСТ, иммуноблоттинг, электрофорез и др.). Нами предложен новый аналитический ВЭЖХ/МС/МС метод количественного определения мажорного белка Bet v 1, содержащегося в МИБПА на основе пыльцы березы повислой. Более точное определение указанных выше показателей на основе пыльцы березы данным физико-химическим методом позволяет снизить потенциальные риски при диагностике и проведении аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ), обеспечивая стандартность и безопасность его применения.

Материалы и методы. Оборудование: хроматографическое разделение проводили на хроматографической системе Shimadzu UltraFastLC с tandem-масс спектрометром Shimadzu LCMS-8040 под управлением программного комплекса LabSolutio; для пробоподготовки использовали шейкер типа «Вортекс» ЕLMI (Латвия), центрифугу Eppendorf 5415D (Германия), концентратор Eppendorf Concentrator plus (Германия); взятие навесок осуществляли с помощью весов аналитических Precisa Gravimetrics AG (Швейцария). Также использова-

лись: рН-метр Mettler Toledo FE20 (Швейцария), дозаторы переменного объема Eppendorf 10 — 100 мкл и 100 — 1000 мкл (Германия), система водоподготовки Millipore Milli-Q Advantage A10 (Франция).

Растворы и реактивы: лиофильно высушенный экстракт пыльцы березы, 0,1% раствор муравьиной кислоты (ч.д.а.) в воде деионизированной/ацетонитрил (55:45). Все использованные реактивы удовлетворяют требованиям Европейской Фармакопеи. Основные параметры разработанной методики приведены в таблице 1.

Выводы. Разработана методика определения Bet v 1 в МИБПА на основе пыльцы березы повислой с использованием метода ВЭЖХ/МС/МС. Методика показала высокую точность, чувствительность и воспроизводимость. Использование данной методики в экспертизе МИБПА позволит повысить безопасность данной группы лекарственных препаратов.

## ЗНАЧЕНИЕ ОЦЕНКИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ КОМПЛЕКСНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Козин С.В., Павлова Л.А., Гусейнов М.Д., Дубовик Н.С., Грецкий С.В.  
ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова Минздрава России

Информация, об острой токсичности лекарственного препарата, способна дать материал об особенностях его биологического действия. Это особенно интересно для комплексных препаратов растительного происхождения, когда токсический эффект есть результат взаимодействия множества соединений с разнообразными, порой противоположными или неизвестными биологическими активностями. Подчас эффект комплексного препарата далек от эффекта индивидуальных веществ, признанных ответственными за его фармакологическое действие. Рассмотрим лишь три факта, выявленных в нашей лаборатории.

Была исследована острая токсичность при пероральном введении крысам сухих экстрактов падуба парагвайского (*Ilexparaguariensis*), известного как «чай» мате: промышленного образца «Andresito soluble» (РЭМ) и полученного нами по оригинальной технологии (СЭМ). Поскольку основным действующим веществом мате признан кофеин, параллельно определяли LD<sub>50</sub> чистого кофеина (4). В результате LD<sub>50</sub> РЭМ составила 7,36 г/кг, LD<sub>50</sub> кофеина — 216 мг/кг. LD<sub>50</sub> «СЭМ» выявить не удалось, поскольку даже максимально возможная доза — 10 г/кг не была летальной. LD<sub>50</sub> РЭМ в пересчете на кофеин составила 239,2 мг/кг (что достоверно не отличается от показателя чистого кофеина), а доза СЭМ 230 мг/кг (по кофеину) даже не вызывала единичных смертей. По-видимому, вещества, содержащиеся в падубе парагвайском помимо кофеина, влияют на формирование его токсического эффекта, и их содержание в экстракте зависит от технологии его получения.

При изучении острой токсичности сухого экстракта родиолы розовой (*Rhodiolarosea*) его LD<sub>50</sub> для мышей при пероральном введении составила 6,65 г/кг. Основным действующим веществом препаратов родиолы считают салидрозид и LD<sub>50</sub> испытанного экстракта соответствует 176 мг/кг в пересчете на салидрозид. Но, как известно из данных литературы,

салидрозид даже при подкожном введении в дозе 1000 мг/кг не вызывал токсических проявлений. Таким образом, очевидно, что в формировании токсического (а вероятно и фармакологического) эффекта препаратов родиолы огромную роль играют и другие БАВ. Этот вывод подтверждается многочисленными исследованиями (2).

В эксперименте на мышах нами была определена LD<sub>50</sub> липофильной фракции валерианы лекарственной (ЛФВЛ) при пероральном введении. Она составила 1,52 г/кг. По литературным данным, с учетом правил дозопереноса, LD<sub>50</sub> экстракта валерианы лекарственной для мышей составляет около 6,0–6,5 г/кг (1, 3), что соответствует 1,50–1,63 г/кг в пересчете на ЛФПН, это совпадает с нашим результатом. Таким образом, можно предположить, что основной вклад в формирование токсического эффекта экстракта валерианы вносит ЛФВЛ. Это полностью согласуется с нашими данными, что именно ЛФВЛ отвечает за формирование фармакологической активности препаратов валерианы (1).

Список литературы:

1. Гусейнов М.Д., Свистунов А.А., Козин С.В. и др. Изучение острой токсичности липофильной фракции валерианы лекарственной // IV съезд токсикологов России. Сборник трудов. — М. — 2013 — С. 163–165.
2. Крендаль Ф.П., Козин С.В., Левина Л.В. Сравнительная характеристика препаратов из группы фитадаптогенов — женьшеня, элеутерококка и родиолы розовой. — М.: ПРОФИЛЬ. — 2007. — 392 с.
3. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. — 832 с.
4. C.I. Heck, E.G. De Mejia, Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations/ Journal of Food Science, 2007, p. R138–R151.

# ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ИММУНОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА СПЛЕНАКТИВ В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ IN VIVO И IN VITRO

**Заико М.В., Козин С.В., Павлова Л.А.**

*ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова Минздрава России НИИ фармации*

Важной задачей современного здравоохранения является разработка безопасных и эффективных иммуностимулирующих лекарственных средств. В качестве одного из них предлагается новый иммунопрепарат Спленактив. Он представляет собой смесь биологически активных пептидов с молекулярной массой до 50 кДа, выделенных из селезенки крупного рогатого скота.

В проведенных нами ранее исследованиях было выявлено, что в препарате содержатся вещества белковой природы, а именно цитокины — полипептидные медиаторы, участвующие в формировании и регуляции иммунных реакций организма.

Продолжением исследования Спленактива стало изучение его фармакологической активности. Так, была обнаружена его способность индуцировать синтез цитокинов клетками крови в модельной системе *in vitro*. Количественное содержание цитокинов определяли твердофазным иммуноферментным методом с использованием тест-систем фирмы ООО «Цитокин» (СПб). Инкубирование клеток донорской крови человека в присутствии Спленактива достоверно повышало выработку ими цитокинов: интерлейкинов (IL1 $\beta$ , IL4, IL10, IL1-RA), фактора некроза опухоли (TNF $\alpha$ ), интерферона (IFN $\gamma$ ) по сравнению с контролем — спонтанными показателями культур клеток донорской крови. В максимально эффективной концентрации Спленактив повышал выработку по сравнению с контролем: IL1 $\beta$  на 241%, IL10 на 17%, IL1-RA на 58%, TNF $\alpha$  на 148%, IFN $\gamma$  на 18%.

С целью выявления способности повышать неспецифическую резистентность организма к бактериальной инфекции было изучено влияние препарата на выживаемость мышей при введении им однодневной живой культуры *Staphylococcus aureus*. Препарат был испытан в дозе 32,7 мг/кг (доза пересчитана исходя из рекомендуемой для человека по правилу дозопереноса). Гибель мышей фиксировали в течение 30 суток. В контрольной группе выживаемость мышей составила 34,3%, введение им Спленактива повышало этот показатель до 74,3%.

При изучении безопасности Спленактива по показателю острой токсичности для мышей при однократном внутримышечном введении были испытаны дозы от 1147 мг/кг до 5733 мг/кг в виде раствора с максимальным объемом 1 мл. Во всем диапазоне испытанных доз препарата не наблюдалось проявления его токсического действия. Поэтому  $DL_{50}$  Спленактива для мышей при внутримышечном введении заведомо больше 5733 мг/кг. При пересчете по правилу дозопереноса, доза для человека массой 70 кг составляет 33 г.

Таким образом, в результате проведенных исследований было показано, что Спленактив проявляет иммуностимулирующую активность на организм подопытных мышей. Одним из вероятных механизмов этого эффекта, по-видимому, является активация им цитокиногенеза. Исследования острой токсичности свидетельствуют о его чрезвычайно низкой токсичности.

## «СМИЛ» — НОВЫЙ БЕЗОПАСНЫЙ И ЭФФЕКТИВНЫЙ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЙ ПРЕПАРАТ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

**Чехани Н.Р., Павлова Л.А., Козин С.В.**

*ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова Минздрава России НИИ фармации*

Одной из актуальных проблем современного здравоохранения является профилактика и лечение заболеваний гепатобилиарной системы. С целью предотвращения повреждения клеток печени современная медицина широко использует различные гепатопротекторные средства, в том числе растительного происхождения. Такие препараты играют одну из ведущих ролей в подобного рода лечебно-профилактических мероприятиях. Тем не менее,

поиск и разработка новых гепатопротекторов на основе растительного сырья остается актуальной задачей, поскольку они, проявляя достаточно высокую эффективность, обладают низкой токсичностью и безопасны даже при длительном систематическом применении.

В наших исследованиях были изучены гепатопротекторные свойства комплексного водного извлечения из растительного сбора, состоящего из листьев

малины обыкновенной (*Rubus idaeus L.*), листьев смородины черной (*Ribes nigrum L.*), травы таволги вязолистной (*Filipendula ulmaria L.*), травы кипрея узколистного (*Chamerion Angustifolium L.*), в соотношении 1:1:1:1 (лабораторное название — «СМИЛ»).

Гепатопротекторное действие «СМИЛ» исследовано на модели токсического  $CCl_4$ -индуцированного гепатита у крыс. Животные 1-й опытной группы получали комплексное водное извлечение в условиях свободного запаивания, 2-я опытная группа получала карсил, в качестве препарата сравнения, 3-я — контрольная получала воду.  $CCl_4$  вводили внутрибрюшинно однократно в дозе 0,2 мл/кг (в пересчете на  $CCl_4$ ) в виде 25% раствора в оливковом масле. Функциональную сохранность печеночной ткани оценивали по влиянию на продолжительность тиопенталового наркоза, активность печеночных ферментов и некоторые гепатозависимые биохимические показатели сыворотки крови.

По результатам исследования установлено, что достоверных различий между значениями измеряемых показателей у крыс обеих опытных групп (заявляемый сбор и карсил) зарегистрировано не было.

С целью выявления возможного механизма обнаруженного гепатопротекторного действия нами было проведено изучение влияния СМИЛ на  $CCl_4$ -индуцированные свободнорадикальные процессы в печени экспериментальных животных. Введение СМИЛ и  $CCl_4$  проводилось в соответствии с описан-

ной выше методикой. Антиоксидантное действие СМИЛ оценивали по антиоксидантной активности (АОА) печени крыс и содержанию в ней малонового диальдегида (МДА).

В результате токсического действия  $CCl_4$  у животных контрольной группы наблюдалось снижение АОА печени почти на 40% по сравнению с интактными животными. В то время как существенных различий по этому показателю между животными опытной и интактной групп не выявлено.

$CCl_4$ -индуцированное поражение гепатоцитов приводило к повышению содержания МДА в печени контрольных животных на 20% по сравнению с интактными в то время, как применение «СМИЛ» предупреждало развитие оксидативного стресса — уровень МДА в печени животных опытной группы был на 12% ниже, чем у контрольных животных и достоверно не отличался от уровня МДА интакта.

Можно предположить, что гепатопротекторное действие сбора обусловлено наличием в составе растительного сырья фенольных и полифенольных соединений, обладающих антиоксидантной активностью.

Таким образом, в ходе проведенного экспериментального исследования было обнаружено, что «СМИЛ» проявляет гепатопротекторный эффект на модели токсического  $CCl_4$ -индуцированного гепатита, ингибируя перекисное окисление липидов ткани печени, и тормозит развитие оксидативного стресса, вызванного интоксикацией  $CCl_4$ .

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ, ПЕРЕНОСИМОСТИ И ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА VCD-023 В СРАВНЕНИИ С ПРЕПАРАТОМ ЭПРЕКС®

Бушманова А.В., Ядренцева Е.Н., Смолярчук Е.А., Лиджиева А.А., Демчинская А.В.

ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России НИИ фармации

В НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова было проведено сравнительное исследование фармакокинетики и фармакодинамики (I фаза) препарата эпоэтин альфа, раствор для внутривенного и внутримышечного введения. В рамках настоящего клинического исследования эпоэтин альфа вводился однократно, внутривенно или подкожно (в зависимости от того, в какую группу был распределен доброволец), в дозе 100 МЕ/кг массы тела добровольца.

В исследование было включено 36 здоровых добровольцев мужского пола в возрасте от 18 до 45 лет включительно, с ИМТ от 18 до 25 кг/м<sup>2</sup>, нормальными показателями гемоглобина (130-155 г/л) и уровнем ретикулоцитов (не более 3,0%). Участники исследования рандомизировались в 2 группы по 18 человек — группы внутривенного (А и В) и подкожного (С и D) введения.

При анализе безопасности было установлено, что как исследуемый препарат VCD-023, так и препарат сравнения Эпрекс® при внутривенном и подкожном введении хорошо переносились добровольцами. За время исследования не выявлено ни одного клинического нежелательного явления (НЯ). Были зарегистрированы ожидаемые для эритропоэтина альфа отклонения лабораторных показателей (гиперкалиемия и тромбоцитоз), что было интерпретировано как лабораторные НЯ.

В группе внутривенного введения у 6 добровольцев был зарегистрирован тромбоцитоз 1 степени (у 4 добровольцев на фоне введения VCD-023 и у 2 добровольцев на фоне введения Эпрекса®) и у одного добровольца — случай гиперкалиемии 3 степени (на фоне введения VCD-023). В группе подкожного введения у 4 добровольцев был зарегистрирован тромбоцитоз (у 2 добровольцев на фоне введения обоих

препаратов, и еще у 2 добровольцев только на фоне введения Эпрекса®). Связь с терапией во всех случаях расценивалась как возможная. Достоверной разницы между частотой НЯ в группах исследуемого препарата и препарата сравнения выявлено не было.

По оценке влияния препаратов на рост числа ретикулоцитов был проведен сравнительный анализ фармакодинамического действия препаратов, а

также был проведен сравнительный анализ фармакокинетической эквивалентности препаратов. На основании полученных результатов было доказано, что препараты BCD-023 (ЗАО «БИОКАД», Россия) и Эпрекс® (ООО «Джонсон & Джонсон», Россия) являются эквивалентными по фармакокинетическим и фармакодинамическим параметрам, а также по переносимости и безопасности.

## КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ И ПЕРЕНОСИМОСТИ ИННОВАЦИОННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ЛЕВОСАЛЬБУТАМОЛ У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ

Лиджиева А.А., Смолярчук Е.А., Ядренцева Е.Н., Бушманова А. В. Демчинская А. В.

ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова Минздрава России НИИ фармации

В НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова было проведено клиническое исследование по изучению инновационного препарата левосальбутамол, которое содержит только R-изомер салбутамола. В исследовании участвовали 30 здоровых добровольцев — мужчины и женщины, средний возраст которых составил  $27,7 \pm 0,97$ . Все добровольцы были разделены на три группы, которые принимали исследуемый препарат в дозе 0,63 мг и 1,25 мг однократно, а также в дозе 1,25 мг четырехкратно. По результатам исследования у всех трех групп была доказана безопасность препарата, которая оценивалась по жалобам, объективному

осмотру и лабораторно-инструментальному обследованию. На протяжении всего исследования были зарегистрированы ожидаемые нежелательные явления: гипергликемия — 36,6%, гипокалиемия — 10%, синусовая тахикардия — 6,6%, тремор пальцев рук — 3,3%, которые имели в своем большинстве возможную связь с препаратом, легкую степень по ВОЗ и I-II ст по СТСАЕ. Серьезных нежелательных явлений выявлено не было. На основании полученных данных можно сделать выводы о высокой безопасности препарата, его хорошей переносимости здоровыми добровольцами, что дает возможность его дальнейшего использования на пациентах.

## ОСОБЕННОСТИ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ БИОПРЕПАРАТОВ И ИХ АНАЛОГОВ НА ПРИМЕРЕ ПРЕПАРАТОВ ИНТЕРФЕРОНА

Митрофанова Елизавета Сергеевна

ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова Минздрава России НИИ фармации

**Цель исследований:** изучение опыта контроля безопасности терапевтических биопрепаратов в странах ЕС и США, а также анализ результатов исследований безопасности препаратов Интерферона бета-1 альфа в России.

**Материалы и методы:** Основными источниками являлись руководства по регистрации подобных биопрепаратов, создание FDA в США и ЕМА в ЕС. Помимо руководств зарубежных стран, также рассматривался ФЗ № 61 «Об обращении лекарственных средств», к которому внесены поправки, касаемо препаратов, обладающих биоактивностью.

**Обсуждение:** Биопрепараты являются лекарственными средствами близкими по строению к природным веществам. В отличие от химически синтезированных молекул, эти препараты являются полипептидами, (глико-) протеинами, и/или

нуклеиновыми кислотами, и по молекулярному составу они являются более сложными и крупными, чем традиционные химические препараты. Эти препараты в отличие от синтетических лекарственных средств обладают иммуногенностью, что подтверждается определением биомаркеров в крови после введения препарата.

Подобными биопрепаратами называют биотерапевтические препараты, являющиеся копиями оригинального препарата. В каждом руководстве используется свой термин для обозначения подобных биопрепаратов: **biosimilars** (ЕМА, страны ЕС), биоподобные препараты или подобные биопрепараты; **follow-on biologics** (FDA, США), биопрепараты, регистрируемые после оригинального препарата; **subsequent entered biologics** (Канада), биопрепараты, регистрируемые после оригинального препарата;

**similar biotherapeutic product** (ВОЗ), подобные биотерапевтические препараты; **biological/biotechnology-derived products** (ЕМА, страны ЕС; FDA, США; ICH, директивы Международной конференции по гармонизации), биологически/биотехнологически — воспроизведенные препараты

Главным правилом в регистрации подобного биотерапевтического препарата является не доказательство его идентичности оригинальному препарату, а его «схожести» с оригинальным препаратом. В США дополнительно нужно доказать взаимозаменяемость препаратов, то есть, если пациент принимал оригинальный биопрепарат, то его замена на подобный биопрепарат не должна повлиять на терапевтическую эффективность, и главное — на безопасность больного. Особая роль выделяется и правилам обозначения подобных биопрепаратов. Чтобы в дальнейшем побочные эффекты подобного биотерапевтического препарата не были приписаны оригинальному биопрепарату.

**Выводы.** Во — первых, биопрепараты предназначены для длительного применения, и поэтому по-

бочные эффекты препарата могут возникнуть после окончания периода наблюдения клинических исследований. Во-вторых, эти препараты обладают иммуногенными свойствами, которые в дальнейшем могут стать причиной новых заболеваний. Поэтому период наблюдения за пациентами, получающими биотерапевтический препарат, должен быть дольше, чем при исследовании химических лекарственных средств. В странах ЕС и США особую роль отводят изучению безопасности биопрепаратов в пост-маркетинговых исследованиях.

Так, на примере препарата Интерферона бета в руководстве ЕМА прописано, что период исследования иммуногенности препаратов до регистрации должен быть минимум 12 месяцев, а после регистрации биотерапевтического препарата — не менее 6 месяцев. Показатели иммуногенности для препарата Интерферон бета должны заключаться в определении маркеров бета2-микроглобулина и белка МхА, Интерлейкина-10 и ФНО-лиганда. Концентрация ИНФ бета, как и его биомаркеры должны определяться с помощью метода ELISA.