

УДК 615

НИИ фармации Первого МГМУ
им. И.М. Сеченова

The Research Institute of Pharmacy
of the I.M. Sechenov First MSU

МАТЕРИАЛЫ VI НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»

MATERIALS OF THE VI-TH SCIENTIFIC
AND PRACTICAL CONFERENCE

«THE CURRENT ISSUES IN SAFETY ASSESSMENT OF DRUGS»

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Адрес: 117418, г. Москва, Нахимовский пр-кт, д. 45

Телефон: 8 (499) 128-58-22

E-mail: O.I.Ter@yandex.ru

Материалы поступили в редакцию: 09.04.2015

Материалы приняты к печати: 23.04.2015

CONTACT INFORMATION:

Address: 45 Nakhimovsky Ave., Moscow, 117418

Tel.: 8 (499) 128-58-22

E-mail: O.I.Ter@yandex.ru

The materials received: 09.04.2015

The materials approved for publication: 23.04.2015

19 марта 2015 г. в НИИ Фармации состоялась VI научно-практическая конференция «Актуальные проблемы оценки безопасности лекарственных средств». Организаторами конференции выступили НИИ фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова и секция лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов.

В работе конференции приняли участие представители научных учреждений России и стран ближнего зарубежья, регуляторных органов Минздрава России, Минобрнауки России, фармацевтических компаний, а также студенты и аспиранты Университета. Участники конференции из Москвы, Московской области, Санкт-Петербурга, Курска, Волгограда, Татарстана, Башкирии, Сибири и Узбекистана обсудили новые тенденции в оценке безопасности лекарственных средств, актуальные методологические и юридические изменения в подходах к оценке их безопасности. Высокий научный и образовательный уровень мероприятия обеспечил участие в нем ведущих российских ученых, специалистов и организаторов здравоохранения. Программа конференции проходила в 1 день, включала в себя 16 устных и 28 стендовых докладов, круглый стол.

Конференцию открыла зам. директора НИИ по научной работе д.ф.н. **Пятигорская Наталья Вале-**

рьевна. С приветственными словами выступили: Председатель Российского общества токсикологов академик РАН **Ракитский Валерий Николаевич**, председатель секции лекарственной токсикологии Российского общества токсикологов, заслуженный деятель науки РФ, член совета по этике Минздрава РФ, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор **Гуськова Татьяна Анатольевна**; заместитель Председателя Научного совета по биомедицинской безопасности РАН, главный редактор журнала «Фармация», зав. кафедрой фармакогнозии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, член-корреспондент РАН, д.ф.н., профессор **Самылина Ирина Александровна**.

В работе конференции приняли участие: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, ФГБНУ «ВИЛАР», Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ФГБУН Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино, МГУ им. М.В. Ломоносова, ФГБУ «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф.Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благопо-

лучия человека (Роспотребнадзор), ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, ФГБУ "НИИ гриппа" Минздрава России, лаборатория безопасности лекарственных средств, г. Санкт-Петербург ФГБУН Института токсикологии ФМБА России, лаборатория лекарственной токсикологии, г. Санкт-Петербург, НИИ Физико-химической медицины ФМБА России, ОАО «Научно-исследовательский институт текстильных материалов», ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан, ГБОУ Волгоградский

государственный медицинский университет, Волгоград, Юго-Западный государственный университет, г. Курск, ФГБУН Уфимский институт химии РАН, ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, ГБУН Уфимский институт химии РАН, Институт цитологии и генетики Сибирское отделение РАН, ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов», ФГБНУ «Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», а также ведущие отечественные и зарубежные фармацевтические компании.

ДОКЛАДЫ

МОНИТОРИНГ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЭКОЛОГИИ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ АНТИИНФЕКЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ

*Алексеев Д.Г., Тяхт А.В., Кострюкова Е.С., Коварский Б.А.
НИИ Физико-химической медицины ФМБА России*

Сотрудниками ФГБУННИИ ФХМ ФМБА России была разработана методика исследования микробиоты кишечника с использованием данных полногеномногосеквенирования микробиоты. В рамках пилотного проекта проведенного НИИ ФХМ в 2012-2013 гг. была охарактеризована биота здорового населения РФ, жителей городов и сельской местности. Были показаны процессы пищевой глобализации и тренды к истощению микробиоты у городских жителей, а также возможность наблюдать здоровую биоту у жителей деревни.

В рамках второй фазы исследований, были рассмотрены пациенты с различными заболеваниями (воспалительные заболевания кишечника, алкоголизм, цирроз, ХОБЛ, болезнь Паркинсона, заболевания сердечно сосудистой системы). Одним из наблюдений стала возможность обнаружить маркеры заболеваний и патологических процессов в микробиоте, в дальнейшем такие маркеры будут использованы в создании технологий и тестов ранней диагностики, мониторинга лечения и оценки стадий выздоровления и ремиссии, опытные образцы запланированы к выпуску в 2016г.

Кроме того, в рамках работы были рассмотрены данные, полученные исследовательскими группами по всему миру, а также отдельные группы – сотрудники вредных производств в РФ. На основе собранной коллекции данных по профилям кишечника, а также метаданных по состоянию экологии в различных регионах, можно показать применимость анализа микробиоты для обнаружения воздействий среды.

Так, например, в сравнении региональных показателей были обнаружены высокие потенции микробиоты Китая к окислению тяжелых металлов, РФ – к антибиотико-устойчивости, что соответствует нашим представлениям о хозяйственной, экономической обстановке, а также нормам здравоохранения в этих регионах.

При сравнении групп также были выявлены маркеры устойчивости к антибиотикам и гены – ферменты ксенобиотиков, активное взаимодействие биоты с антиинфекционными препаратами может, как мы считаем, лечь в основу системного подхода к мониторингу устойчивости, а также мониторингу степени природного загрязнения в различных районах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ОТСУТСТВИЯ ТОКСИЧНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ОДНОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЕЛЬМИНТОЗОВ ТРЕХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ: CUCURBITA PERO, TANACETUM VULGARE, JUGLANS REGIA

Аль Джомая Р., Максимов М.Л., Стреляева А.В., Свистунов А.А.,
Шамсев Ж.А., Маликов М.Р., Вахидова А.М., Сапожников С.А.,
Мухитдинов Ш.М., Балаян Э.В.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва,
Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан

Семена тыквы обыкновенной (*Cucurbita pepo*) и препарат *Cucurbita pepo* более ста лет применяется как эффективное антигельминтное средство. Нами выделен белок и аминокислоты из тыквенных семян, которые использованы в эксперименте по лечению мышей, зараженных гименолепидозом. Получен положительный результат. Гомеопатический препарат *Cucurbita pepo* более ста лет используется гомеопатами при лечении людей, больных различными гельминтозами. Однако при гельминтозах животных гомеопаты не испытывали данный препарат. Нами впервые на трех лабораторных моделях: мышь, зараженная цистным эхинококкозом, мышь, зараженная гименолепидозом, мышь, зараженная сифачиозом, доказана противогельминтная активность гомеопатического *Cucurbita pepo* С6. По методикам «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. 827 с.» на четырех видах животных доказано полное отсутствие токсичности *Cucurbita pepo* С6 терапевтических доз, используемых для лечения людей.

Гомеопатические препараты *Tanacetum vulgare* С6 и *Juglans regia* С6 по вышеотмеченным методикам показали антигельминтную активность и полное отсутствие токсичности.

Антигельминтная активность трех испытываемых препаратов: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6 при использовании каждого в от-

дельности при лечении гименолепидоза и сифачиоза достигла стопроцентности излечения животных от рассматриваемых гельминтозов. Однако, при лечении эхинококкоза из 10-ти, мышей, зараженных цистным эхинококкозом, леченных *Juglans regia* С6, выздоровели 4, из 10-ти аналогичных мышей, леченных *Cucurbita pepo* С6, выздоровели 3 мыши, из 10-ти мышей, зараженных цистным эхинококкозом, леченных *Tanacetum vulgare* С6, выздоровели 2 мыши. В дальнейшем мы использовали сочетание препаратов при лечении зараженных цистным эхинококкозом белых мышей. Применив сочетание *Juglans regia* С6 и *Cucurbita pepo* С6 из 10-ти больных мышей выздоровели 6, *Juglans regia* С6 и *Tanacetum vulgare* С6, выздоровели 5 мышей, *Cucurbita pepo* С6 и *Tanacetum vulgare* С6, выздоровели 4 мыши. Использовали одновременно 3 препарата: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6 и выздоровело 8 мышей.

На четырех видах животных проведено изучение острой и хронической токсичности различных сочетаний препаратов. Токсичность испытываемых препаратов отсутствовала.

Таким образом, нами получено экспериментальное доказательство отсутствия токсичности и безопасности одновременного применения при лечении гельминтозов трех гомеопатических препаратов: *Cucurbita pepo*, *Tanacetum vulgare*, *Juglans regia*.

ПРОБЛЕМЫ МЕЖВИДОВОЙ ЭКСТРАПОЛЯЦИИ ДОЗ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Березовская Ирина Владимировна
ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ»

Необходимость межвидовой экстраполяции доз изучаемых в эксперименте веществ базируется на данных фундаментальных исследований, проанализированных и опубликованных в монографии К. Шмидт-Нильсена «Размеры животных: почему они так важны?».

Опыт Отдела лекарственной безопасности ВНЦ БАВ позволил рекомендовать межвидовой пересчет доз в доклинических токсикологических исследованиях по Freireich et al. (1966) для включения в «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005 г.).

К величайшему сожалению без каких-либо оснований этот фрагмент был исключён из «Методических рекомендаций по изучению общетоксического действия лекарственных средств» (2012 г.).

Публикации по аллометрическим соотношениям человека и животных отдают предпочтение в процессе экстраполяции доз в мг/м². Одновременно в вышеназванное Руководство 2005 г. была включена таблица коэффициентов для пересчёта доз в мг/кг на мг/м² для разных видов животных (И.П. Уланова и др., 1968).

Считаем необходимым для обеспечения надёжности проводимых токсикологических исследований восстановить рекомендуемые разделы.

Поскольку из правил возможны исключения, необходимо использовать при межвидовой экстраполяции информацию о межвидовых особенностях метаболических процессов у лабораторных животных и человека.

Например, по данным Williams (1959), у человека, кроликов и крыс ароматические амины в организме подвергаются ацетилированию. У собак этот процесс не выявлен. Обезвреживание ядов путём образования парных глюкуроновых кислот происходит у человека, собаки, кролика и крысы, но не наблюдается, например, у кошки.

Степень метгемоглобинообразования при отравлении нитритом натрия у человека и белых

крыс относительно одинакова, у морских свинок и кроликов метгемоглобина образуется меньше (С.Н. Черкинский и др., 1966 г.).

По степени реагирования сульфгидрильных групп крови на введение серебра организм человека несколько чувствительнее, чем организм белых крыс (Г.Н. Красовский, 1973 г.).

Скорость превращения некоторых ядов у различных видов лабораторных животных и человека различаются. Так, гексобарбитол, N-изопропилметоксамин и фенилбутазон подвергаются обменным превращениям быстрее у мелких грызунов, чем у человека; тримексан, напротив, метаболизируется быстрее у человека (Brodie, 1962; Burnes et al., 1965).

Патогенез отравлений абсолютным большинством веществ является однотипным для человека и животных, поэтому при действии токсических веществ на лабораторных животных удаётся воспроизвести отравления, аналогичные отравлениям человека (Г.Н. Красовский, 1973 г.).

Известно, что для надёжности прогноза безопасности фармакологических веществ ранее было рекомендовано проведение эксперимента на двух видах животных (грызунах и негрызунах). Рекомендации в Руководстве 2012 г. позволяют замену собак на кроликов (грызунов). Такая позиция подлежит коррекции при хронических токсикологических исследованиях оригинальных препаратов.

ВЕБ-СЕРВИС ДЛЯ МЕТА-АНАЛИЗА ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МАРКЕРЫ, ВОВЛЕЧЕННЫЕ В РАЗВИТИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Богданов А.С., Курочкин А.Г., Филист С.А.

Юго-Западный государственный университет, г. Курск

Веб-сервис – это комплект программ (решающих модулей), предназначенных для классификации форменных элементов крови на изображениях мазков периферической крови, с соответствующей базой данных мазков периферической крови, которые доступны удаленному пользователю (пользователю Интернет). Эти программы и соответствующая база данных обеспечивают возможность мета-анализа влияния терапевтических процедур на межклеточные соотношения в мазках периферической крови. В результате такого анализа выявляются маркеры эффективности лекарственного назначения или побочных реакций (ПР) на лекарственные назначения.

Результаты постоянно обновляемых мета-анализов лекарственных назначений могут иметь широкое применение как в практическом, так и в научном плане. Во-первых, они позволяют врачу получить максимально объективную информацию о результатах исследований в интересующих его

областях, включая обобщенную оценку эффективности того или иного метода воздействия (лечебного, диагностического или профилактического). Во-вторых, мета-анализы помогают ученым: а) сформулировать и обосновать исследовательскую гипотезу; б) обосновать размер планируемого клинического исследования (мета-анализ позволяет получить надежные данные по оценке ожидаемого эффекта того или иного метода лечения с целью его последующей проверки в планируемом исследовании); в) определить важные побочные эффекты изучаемого лечебного препарата, а также установить прогностически значимые факторы развития того или иного исхода заболевания; г) избежать ошибок, допущенных в предыдущих исследованиях (например, при организации планируемого исследования). В-третьих, результаты мета-анализа помогают организаторам здравоохранения и экспертам в выработке рекомендаций и подготовке законодательных актов, касающихся использования определенных

диагностических и лечебных методов. В этом отношении примером служат регулярно обновляемые рекомендации Американской ассоциации кардиологов по ведению больных с сосудисто-мозговыми и сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Показатели межклеточных соотношений не обладают высокой диагностической специфичностью, поэтому каждому мазку периферической крови должен быть поставлен нозологический диагноз и описана терапевтическая процедура или лекарственное назначение. С другой стороны, межклеточные соотношения обладают высокой диагностической чувствительностью к некоторому классу заболеваний (в основном это сердечно-сосудистые, инфекционные и онкологические) и выбор определенных маркеров на их основе позволяет осуществлять мониторинг лекарственных назначений, терапевтических процедур или ПР.

Еще одно достоинство Веб-сервиса состоит в том, что формируется практически «бессмертная» гематологическая база данных, основанная на фотографических изображениях биоматериала. Биоматериал базы данных может быть исследован вновь разработанными методами или повторно методами, рекомендованными после мета-анализа.

Веб-сервис также полезен для разработчиков программного обеспечения по классификации сложноструктурируемых изображений. Они могут апробировать свои разработки пользуясь представленной базой данных гематологических изображений, а также использовать базу данных для формирования обучающих и контрольных выборок при разработке своего программного продукта (решающих модулей).

Представленные технические решения предназначены для определения межклеточных соотношений в мазках периферической крови, что позволяет осуществлять мониторинг эффективности лекарственных назначений (при выборе соответствующих гематологических маркеров), а также отслеживать ПР при назначении лекарственной и лучевой терапии.

Одним из наиболее важных применений результатов исследования является оценка влияния лечебно-оздоровительных процедур на функциональное состояние пациента. В качестве индикатора этого влияния используется динамика изменения межклеточных соотношений в мазках периферической крови. Научно-технические результаты могут быть использованы при клинической диагностике различных заболеваний, формировании атласов эталонных изображений клеток крови человека в процессе лекарственного воздействия на них (по группам нозологий). Результаты исследования позволят начать формирование единой базы данных о влиянии лекарственных воздействий на форменные элементы крови и их соотношения в ней.

Полученные результаты ориентированы на мета-анализ микроскопических изображений мазков капиллярной крови и на накопление и хранение информации о влиянии лекарственного воздействия на форменные элементы крови при установленном диагнозе, что позволит обеспечить персонализированный подход к медикаментозной и лучевой терапии, и приведет к снижению побочных эффектов при назначении медицинских препаратов.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ПОДСНЕЖНИКОВ

*Боков Д.О., Самылина И.А.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России*

В нашей стране оформление юридического статуса гомеопатии произошло в 1995 г., когда был издан приказ Минздравмедпрома РФ № 335 «Об использовании метода гомеопатии в практическом здравоохранении», который разрешил применение метода системой здравоохранения и утвердил соответствующую нормативную документацию (НД). Сегодня более чем 70% гомеопатических лекарственных средств (ЛС) получают из лекарственного растительного сырья (ЛРС). Принимая во внимание ведущую роль лекарственных растений (ЛР) в изготовлении гомеопатических ЛС, исследования по оценке безопасности настоек гомеопатических матричных (НГМ) представляют большой интерес.

На современном этапе особое внимание, проявляемое по отношению к гомеопатическому методу терапии, обусловлено прежде всего стремлением к использованию в современной медицине универсальных лекарственных препаратов (ЛП), которые способны воздействовать на организм и при этом практически не вызывать нежелательных побочных эффектов. Сохранение этой тенденции возможно благодаря эффективности, безопасности и экономической целесообразности гомеопатических ЛС.

На сегодняшний день важной задачей современной медицины является поиск альтернативных методов регуляции неврологических заболеваний, частота возникновения которых, по данным ВОЗ, за последнее десятилетие значительно увеличилась.

Функциональные расстройства нервной системы можно лечить с помощью гомеопатических средств, которые сегодня становятся особенно востребованными и, в свою очередь, являются альтернативой традиционной аллопатической терапии. С этой точки зрения перспективными источниками ЛРС являются представители рода Подснежник (*Galanthus L.*) семейства Амариллисовые (*Amaryllidaceae J.St.-Hil.*). В гомеопатию подснежник белоснежный (*Galanthus nivalis L.*) был введен доктором А. Вайтингом, в нашей стране к медицинскому применению разрешен также второй вид – подснежник Воронова (*Galanthus woronowii Losinsk.*). Используются разведения D_1 - D_5 НГМ. Показаниями к применению гомеопатических монопрепаратов на основе подснежника являются обморочные состояния, мигрень, тупые головные боли, мышечная слабость, а также сердечная недостаточность.

Для обеспечения необходимого уровня безопасности существует ряд требований для ЛРС и НГМ. Обязательное требование для ЛРС включает следующие характеристики: описание сырьевой базы (подснежники, как правило, культивируют ввиду значительного сокращения естественных популяций), научное название (семейство, род, вид), используемая часть растения (свежее цветущее растение подснежника белоснежного согласно Американской фармакопее), вид материала (свежее, высушенное, замороженное), описание макроскопических и микроскопических признаков, основные группы биологически активных соединений (БАС, «амариллисовые алкалоиды» группы галантамина и ликорина), а также определение примесей, основных токсичных металлов, радиоактивного загрязнения, предельно допустимых концентраций (ПДК) пестицидов, бактерий, грибов, микотоксинов. Метод получения НГМ указывается согласно ОФС «Настойки гомеопатические матричные и жидкие разведения». Так для НГМ подснежников метод, описанный в ЧФС Американской фармакопее, соответствует методу За отечественной НД (ЛРС, содержащее слизи).

Производство ЛС должно осуществляться только в соответствии с правилами GMP. Получаемые из ЛРС НГМ должны соответствовать утвержденным фармакопейным статьям и содержать следующие данные: метод приготовления, описание, тест на подлинность, тест на микробиологическую чистоту, процедура испытания для проверки стабильности, определение основного (основных) БАС. При характеристике НГМ необходимо определять подлинность и содержание основных БАС. Следует отметить, что качество НГМ из ЛРС, содержащего сильнодействующие вещества (алкалоид подснежника), должно регламентироваться количественным определением действующих веществ с содержанием, установленным методом двустороннего нормирования (не менее и не более). Кроме того, для НГМ из ЛРС, содержащего сильнодействующие вещества, должна быть дополнительно введена оценка её безопасности посредством испытания на 4-ое десятичное разведение; регламентация может осуществляться или по предельной величине оптической плотности (D), регистрируемой в области максимума поглощения при длине волны, указанной в каждом конкретном случае, или иным способом. В РФ большинство указанных методов оценки безопасности, к сожалению, пока не включены в соответствующие нормативные документы по контролю качества.

В соответствии с существующей НД на каждое ЛРС, из которого готовят лекарственный препарат, должна быть фармакопейная статья. Такая же статья должна быть и на НГМ, на основе которой далее готовят различные лекарственные формы. Однако не на все НГМ существуют фармакопейные статьи. Так отечественная нормативная документация на сырье и НГМ двух видов подснежника в настоящее время отсутствует. Таким образом, для обеспечения качества, эффективности и безопасности применения НГМ подснежников необходимы дальнейшая разработка и совершенствование соответствующих нормативных документов.

ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛИРОВАНИЯ БИОАНАЛОГОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*Бушманова А.В., Ядренцева Е.Н., Смолярчук Е.А., Лиджиева А.А.
НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова*

В Российской Федерации, до недавнего времени согласно законодательству (ФЗ № 61 «Об обращении лекарственных средств»), регулирование воспроизведенных биотехнологических препаратов было идентично по подходу к регулированию генерических лекарственных средств (ЛС) химического происхождения. Процедура регистрации воспроизведенного ЛС носила упрощенный характер и была

основана на доказательстве биоэквивалентности оригинального и воспроизведенного препаратов, не требовалось проведения клинических исследований, подтверждающих эффективность и безопасность, как для оригинальных лекарственных средств. Т.е. отсутствовали специальные нормативно-правовые меры по регулированию биоаналогов, как и само определение понятия «биоаналог».

В декабре 2014 года был опубликован ФЗ № 429, в котором дано определение понятия «биоаналоговый (биоподобный) лекарственный препарат (биоаналог)», отсутствовавшее ранее. Биоаналоговый (биоподобный) лекарственный препарат (биоаналог) – это биологический лекарственный препарат, схожий по параметрам качества, эффективности и безопасности с референтным биологическим лекарственным препаратом в такой же лекарственной форме и имеющий идентичный

способ введения. Еще одним новшеством является то, что в отношении биоаналогов не будет применяться процедура ускоренной регистрации. Однако, так и не определены конкретные процедуры, которые смогли бы обеспечить соответствующее качество и безопасность. Необходимо ввести особые правила по проведению клинических испытаний, расширить регистрационное досье, установить усиленный мониторинг за уже зарегистрированными препаратами.

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ КАК ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКА БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ

Гуськова Т.А.

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

Изучение острой токсичности лекарственных средств (ЛС) строится таким образом, чтобы выявить органы или системы организма, наиболее чувствительные к данному препарату, установить дозовую зависимость выявленных эффектов и степень их обратимости. Все экзогенные вещества, поступающие в организм, в том числе лекарственные препараты, обычно включаются в метаболические процессы обезвреживания, которые обеспечиваются механизмами адаптации. Вещество оказывает токсическое действие в том случае, если его количество, поступающее в организм, не может быть обезврежено. В ранней стадии острого отравления проявляется специфическое действие действующего вещества на определенные органы или системы организма. Существует несколько методов оценки токсичности препарата при однократном введении. В настоящее время наиболее распространенным методом определения смертельных доз для ЛС на мелких лабораторных животных является метод Litchfield и Wilcoxon (LD_{16} , LD_{50} , LD_{86}). Данные величины являются очень важными фиксированными характеристиками действия вещества на организм, и зависят от целого ряда условий (линия животного, пол, возраст, содержание, объем вводимого препарата и другие). Но не только определение смертельных доз ЛС имеет большое значение, но и оценка состояния органов-мишеней, особенно при гистологическом исследовании. Большое значение имеет длительность наблюдения за животными после однократного введения вещества. Большинство регламентирующих документов определяет срок наблюдения за животными в остром токсикологическом эксперименте в 14 дней. Однако в ряде случаев гибель животных наступает значительно позже. Это может быть связано с токсическими эффектами в отношении органов, обладающих большими компенсаторными возможностями. Например, анти-

бактериальный препарат диоксидин в высоких дозах при внутривенном введении тормозит синтез кортикостероидных гормонов в коре надпочечных желез, при этом гибель животных наблюдается в течение 2-х месяцев после однократного введения. Отсроченная гибель животных наблюдается также при введении цитостатиков. Сравнение показателей острой токсичности ЛС на одном и том же виде животных при различных путях введения может быть косвенным свидетельством различной биодоступности препарата в организме животных. Так, большое различие в показателях острой токсичности при парентеральном и пероральном введении ЛС является косвенным показателем слабой биодоступности препарата при введении внутрь или его быстрого метаболизма в организме, приводящего к падению активности. Данные, полученные при изучении острой токсичности лекарственных средств, могут быть использованы в клинике при лечении острых отравлений, вызванных однократным приемом этих препаратов в высоких дозах. Среди этиологических факторов острых отравлений медикаменты являются причиной в 40-60 % случаев. Однако результаты оценки острой токсичности ЛС на животных могут быть использованы гораздо шире. Так их можно использовать при сравнительной оценке биоэквивалентности генерика и инновационного ЛС. Различия в показателях острой токсичности указанных препаратов для перорального применения (таблетки, капсулы) чаще всего свидетельствуют о разной скорости всасывания из желудочно-кишечного тракта. Такие различия могут проявляться за счет различной степени полиморфизма кристаллов субстанций генерика и инновационного ЛС. Термином «полиморфизм» принято определять способность вещества существовать в нескольких кристаллических формах с различными физико-химическими свойствами, но

имеющими одинаковый химический состав. Таким образом, различная степень полиморфизма кристаллов может влиять на растворимость и скорость всасывания препаратов в желудке или кишечнике. Имея достоверное различие в показателях острой токсичности генерика и инновационного ЛС, следует оценить степень полиморфизма их кристаллов, прежде чем проводить трудоемкие сравнительные фармакокинетические исследования на крупных лабораторных животных. Еще большее значение сравнение показателей острой токсичности генерика и инновационного ЛС имеет для оценки биоэквивалентности инъекционных ЛС. Сравнительное изучение *in vivo* фармакокинетики генерика и инновационного ЛС для внутривенного введения невозможно. Поэтому об идентичности растворимых лекарственных форм генерика и инновационного ЛС можно судить по тем токсическим эффектам, которые они оказывают при введении животным в

равных условиях эксперимента. Причем, для этих препаратов большое значение имеет не только величина смертельных доз, но и степень влияния их на структуру органов-мишеней. Сравнительная оценка токсичности на крупных лабораторных животных при однократном парентеральном введении генерика и инновационного ЛС в различных, но не смертельных дозах, позволит установить идентичность кинетики препаратов в организме животных. Используя исследования функционального состояния жизненно важных органов и систем, клинические и биохимические исследования крови и мочи и другие прижизненные тесты можно судить об идентичности генерика и инновационного ЛС. Такой подход к доклинической оценке идентичности генерика и инновационного ЛС будет способствовать внедрению в медицинскую практику воспроизведенных ЛС, не отличающихся от инновационных по эффективности и безопасности.

МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VIVO*

Дьяченко И.А.

*ФГБУ науки Филиал Института биоорганической химии им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пушкино*

Проведение всестороннего изучения активности потенциального лекарственного вещества (ЛВ) в экспериментах на животных является основной частью доклинических испытаний фармакологического исследования. На сегодняшний день исследование новых ЛВ, обладающих анальгетической активностью, занимает ~Гематотоксичность цитостатиков

Нейротоксичность психотропных средств

Проаритмогенное действие антиаритмиков

Нарушение проводимости сердца, вызываемое антигистаминными средствами

Кардиотоксичность симпатомиметиков

Нефротоксичность и гематотоксичность ненаркотических анальгетиков

Гастротоксичность и антиагрегантное действие НПВП

Пролактин-зависимый онкогенез ДА-антагонистов

Перекрестная реактивность моноклональных антител и др.

Как показывает практика экспертизы, отсутствие системы общепризнанных критериев является причиной субъективизма интерпретации, разноречивости оценки безопасности лекарственного средства с точки зрения исследователя и эксперта. Отсутствие детального анализа вероятных класс-специфических эффектов при интерпретации результатов доклинических исследований ори-

гинального лекарственного средства не позволяет получить корректную фармако-токсикологическую характеристику риска. В сравнительных исследованиях воспроизведенных препаратов отсутствие класс-специфических конечных точек не позволяет считать вполне корректным вывод об идентичности или сопоставимости токсических свойств сравниваемых препаратов. Дефицит сведений о выраженности класс-специфических свойств у лекарственных средств, относящихся к одной фармакотерапевтической группе, делает невозможным анализ внутригрупповой вариабельности профиля безопасности для оценки рисков при изменении условий применения зарегистрированных лекарственных препаратов. Интерпретация доклинической оценки безопасности не сводится к анализу только токсикологических данных и включает также анализ результатов экспериментальных и прогностических исследований фармакологических и фармакокинетических свойств лекарственного средства, поскольку клинически значимые нежелательные эффекты могут быть обусловлены фармакологическим действием или образованием токсичных метаболитов.

Клиническая значимость класс-специфических токсических эффектов зависит от их сопряженности с терапевтическим действием. Высокий уровень клинической значимости имеют класс-специфические эффекты химиотерапевтических

лекарственных средств, поскольку их терапевтическая эффективность основана на цитотоксическом действии, которое является причиной многих токсических реакций. Относительная избирательность действия делает класс-специфическим нежелательным эффектом моноклональных антител перекрестную реактивность, тест на определение которой является обязательным видом доклинических исследований этого класса лекарственных средств. Выраженная сопряженность токсического и терапевтического действия свойственна НПВП -неизбирательным ингибиторам ЦОГ, гастротоксическое

и антиагрегантное действие которых, как правило, проявляется в терапевтическом диапазоне доз.

Использование критериев класс-специфичности при интерпретации результатов доклинической оценки безопасности лекарственных средств необходимо для обеспечения корректности программы исследований, выбора конечных точек, характеристики профиля безопасности, заключения о степени риска, доказательства идентичности или сопоставимости токсических свойств, подтверждения преимуществ и перспективности разработки новых лекарственных препаратов.

ВКЛАД АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА (АФК) В БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКОВ

Завильгельский Г.Б., Котова В.Ю., Мелькина О.Е.

*Федеральное государственное унитарное предприятие
«Государственный научно-исследовательский институт генетики
и селекции промышленных микроорганизмов»*

В ряде работ было показано участие гидроксил-радикала OH^\bullet в летальном эффекте антибиотиков хинолонов, β -лактамов, аминогликозидов и др. Однако недавно опубликованы работы, в которых роль активных форм кислорода (АФК) в летальном (бактерицидном) эффекте антибиотиков подвергается сомнению. В разрешении данной проблемы принципиально важен ответ на вопрос о количестве АФК, синтезируемых в бактериальной клетке, обработанной антибиотиком. В норме, при росте бактерий в отсутствие антибиотика, клеточные системы защиты от пероксида водорода (каталазы KatG и KatE, гидроксилпероксидаза AhpC) и супероксид-аниона (супероксиддисмутаза SodA, SodB) обеспечивают очень низкий базальный уровень АФК, образуемый в качестве побочного продукта активности ферментов дыхательной системы, не способный повредить ДНК клетки. Для определения временной зависимости появления в клетке супероксид-аниона и количественной оценки его уровня в зависимости от концентрации антибиотика в настоящей работе используются специфические индуцируемые lux-биосенсоры – бактерии *E. coli*, содержащие гибридные плазмиды pSoxS⁺::lux, pKatG⁺::lux, pColD⁺::lux.

Определены кинетические параметры индукции окислительного стресса и SOS-ответа в зависимости от концентрации норфлоксацина и налидиксовой кислоты (антибиотики группы хинолонов – ингибиторов ДНК-гиразы) как для штамма *sod+*, так и для мутанта *sodA sodB*. Графики, измеренные в режиме «реального времени» дают возможность представить всю картину развития во времени стрессовой реакции бактериальной клетки.

Антибиотики при сравнительно низких концентрациях (норфлоксацин – ниже 400 нг/мл, на-

лидиксовая кислота – ниже 50 мкг/мл) индуцируют синтез супероксид-анионов (фиксируется lux-биосенсором с плазмидой pSoxS⁺::lux), однако, в сравнительно небольшом количестве, соответствующим его количеству, образуемому при действии на клетки параквата при концентрации до 10 мкМ.

При низких концентрациях антибиотиков (норфлоксацин – ниже 400 нг/мл, налидиксовая кислота – ниже 50 мкг/мл) SOS-ответы штаммов *sod+* и двойного мутанта *sodA sodB*, содержащих плазмиду pColD⁺::lux, по кинетике и амплитуде ответа (АО) практически совпадают.

Принципиально отличными выглядят реакции штамма *sod+* и двойного мутанта *sodA sodB* при высоких концентрациях антибиотиков (норфлоксацин – выше 400 нг/мл, налидиксовая кислота – выше 50 мкг/мл). Если штамм *sod+* высоко чувствителен к действию антибиотика, что проявляется в значительном снижении интенсивности биолюминесценции при длительной инкубации, то двойной мутант *sodA sodB* при высоких концентрациях антибиотика показывает значительное усиление стрессовых ответов как SOS-ответа (с плазмидой pColD⁺::lux), так и окислительного стресса (с плазмидой pSoxS⁺::lux);

Полученные в настоящей работе результаты соответствуют следующей модели действия антибиотиков на бактериальную клетку. При малых концентрациях антибиотиков штаммы *E. coli sod+* и *sodA sodB* характеризуются примерно равными по амплитуде реакции SOS-ответами, и, следовательно, в бактерицидном действии на клетку участвуют лишь молекулы антибиотика, ингибирующие ДНК-гиразу, без дополнительного усиления эффекта с помощью АФК. При высоких концен-

трациях антибиотиков часть синтезирующихся в значительном количестве под воздействием антибиотика супероксид-анионов взаимодействует с белками, содержащими комплексы [4Fe-4S], с высвобождением свободных ионов Fe²⁺, другая часть супероксид-анионов восстанавливается до пероксида водорода но только в штаммах с активными супероксиддисмутазами SodA и SodB. В этом случае пероксид водорода в реакции с ионом железа (реакция Фентона) превращается в гидроксил-радикал OH·:



Радикал OH· стабильный и формирует разрывы цепи в ДНК:



В результате в клетках *sod*⁺ образуется достаточное количество обеих компонент реакции Фенто-

на, что приводит к появлению токсичного гидроксил-радикала с последующей деградацией ДНК и гибелью клетки. Однако в двойном мутанте *sodA sodB* в связи с отсутствием супероксиддисмутаза SodA и SodB пероксид водорода не образуется, а, следовательно, не образуется и токсичный гидроксил-радикал OH·, что и определяет резистентность двойного мутанта к высоким концентрациям хинолонов. Если бы инактивирующая активность антибиотика норфлоксацина сводилась исключительно к ингибированию активности ДНК – гиразы, то чувствительности штаммов *sod*⁺ и двойного мутанта *sodA sodB* к хинолонам были бы примерно равными как при низких, так и при высоких концентрациях антибиотика. Следовательно, в процесс инактивирующего действия антибиотиков при их высокой концентрации на бактериальную клетку необходимо включить молекулы АФК – супероксид-анион и пероксид водорода.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СЕДАТИВНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ В ДЕТСКОЙ ПРАКТИКЕ

Загорская В.Л., Терёшкина О.И., Самылина И.А.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова Минздрава РФ, НИИ фармации

Интерес к лекарственным растительным препаратам (ЛРП) возрастает ежегодно, что связано с преимуществами растительных препаратов перед химическими – относительная безопасность, хорошая переносимость, эффективность, возможность индивидуального подхода к терапии, в том числе у пациентов детского возраста. Однако при медицинском применении данной категории препаратов у детей необходимо учитывать результаты исследований их безопасности на современном уровне.

Проведен анализ номенклатуры седативных лекарственных растительных препаратов, применяемых у детей, зарегистрированных на отечественном фармацевтическом рынке. Установлено, что наиболее известными лекарственными растениями, для получения лекарственных средств, используемых в детской практике, являются: пустырник пятилопастной (*Leonurus quinquelobatus* Gilib), валериана лекарственная (*Valeriana officinalis*L.), мята перечная (*Mentha piperita*L.), а также пион уклоняющийся (*Paeonia anomala* L.), пассифлора инкарнатная (*Passiflora incarnata*) и Melissa лекарственная (*Melissa officinalis*L.) и их комбинации. Согласно данным отечественной и зарубежной справочной литературы имеются определенные ограничения применения валерианы лекарственной, пустырника пятилопастного и мяты перечной в детской практике. Препараты на основе валерианы лекарственной могут усиливать седативное действие других препаратов. При отмене препаратов валерианы может развиваться

делирий. При длительном применении и передозировке возможны сонливость, чувство подавленности и угнетения общего состояния, снижение работоспособности (явления исчезают при снижении дозы или временном прекращении приема препаратов валерианы). При применении высоких доз возможно повышение свертываемости крови. Указано на гепатотоксичность препаратов на основе валерианы. В связи с этим препараты валерианы требуют строгого соблюдения дозировок и наблюдения врача. Их применение ограничено ВОЗ у детей до 12 лет. Трава пустырника внесена в списки Управления по пище и лекарствам США (FDA) как растение с неустановленной безопасностью. При применении препаратов на основе пустырника пятилопастного возможны симптомы угнетения ЦНС и вегетативной нервной системы, требуется индивидуальный подбор дозы с учетом клинической картины, в том числе уменьшение дозы или даже временная отмена лекарства. Противопоказанием к применению являются артериальная гипотензия, брадикардия. У детей рекомендуется применение препаратов на основе пустырника с осторожностью, также как препаратов на основе мяты перечной, в связи с высоким содержанием в них эфирных масел. Установлено, что среди лекарственных форм седативных средств растительного происхождения на рынке преобладают сборы, настои, получаемый из лекарственного растительного сырья и сборов, настойка, жидкие экстракты, капли, растворы для приема внутрь, сиропы.

Все лекарственные формы, содержащие этиловый спирт (ЭС), могут быть небезопасны для применения в детской практике, их следует заменять на другие лекарственные формы, не содержащие в своем составе ЭС. Симптомы отравления ЭС у детей те же, что и у взрослых, но протекают в более тяжелой форме. Серьезные нежелательные реакции на центральную нервную систему отмечены у детей при концентрации ЭС в крови 0,01 – 0,1 г/л. Риск летальности повышается у детей на 50% при концентрации ЭС в крови 1 г/л. Применение у детей лекарственных препаратов, содержащих ЭС, при хронических заболеваниях в течение продолжительного времени, усиливает их влияние на неврологические и когнитивные процессы развития. Согласно регуляторным ограничениям за рубежом отмечен риск применения препарата внутрь для детей при дозе ЭС выше 100 мг вне зависимости от возраста. Согласно требованиям FDA, присутствие этилового спирта должно быть декларировано на этикетках всех педиатрических препаратов для приема внутрь. Максимальное количество ЭС, входящее в состав препаратов безрецептурного отпуска – 10% для взрослых и детей 12 лет и старше, 5% – для детей от 6 до 12 лет, 0,5 % – для детей до 6 лет. В ЕС в настоящее время отсутствуют единые требования допустимого содержания ЭС в ЛП для детей. Во Франции – концентрация ЭС для детей не должна превышать 5% и концентрация ЭС в крови ребенка не должна превышать 0,125 г/л при условии приема только одной дозы препарата. Европейское медицинское агентство (ЕМА) предлагает применять меры потенциальной защиты педиатрической популяции пациентов от влияния ЭС. В первую очередь – минимизировать применение лекарственных форм, содержащих ЭС у детей: применять их только на основании учета оценки польза/риск, не применять у детей до 2-х лет, избегать продолжительного использования, применять у детей до 6 лет не более 1 недели. При разработке препарата принимать во внимание, что значение содержания

этанолол после приема препарата в крови не должно превышать 0,125 г/л, в связи с чем, необходимо проводить предварительные расчеты содержания ЭС в крови с учетом массы тела/возраста ребенка и концентрации ЭС в препарате. Отражать информацию в инструкции по применению о содержании ЭС как в препарате, так и в одной дозе.

Не содержащие ЭС жидкие экстракты, капли и растворы удобны для приема в домашних условиях, возможно применение в пути, могут иметь систему точного дозирования (дозатор для капель). Однако в состав препаратов могут входить консерванты, красители, стабилизаторы и другие вспомогательные вещества. Сиропы – лекарственная форма, удобная для применения в домашних условиях и в дороге. Препараты могут иметь систему дозирования. Лекарственная форма обладает корректирующими свойствами вкуса и запаха лекарственных растений и консервирующими свойствами за счет концентрации сахарного сиропа (не менее 45%), что позволяет длительно хранить как сам сироп, так и лекарственное вещество в его составе. Однако препараты могут иметь в своем составе несколько растительных экстрактов, консерванты, красители, ароматизаторы и другие вспомогательные вещества. Сиропы имеют ограничение в применении за счет содержания сахара у больных сахарным диабетом. В некоторых препаратах возможна замена сахара на фруктозу.

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод, что наиболее безопасными лекарственными формами для применения у детей можно считать сборы и их водные извлечения. Не содержащие ЭС жидкие лекарственные формы: капли, экстракты и сиропы на основе растительных экстрактов также можно рассматривать как перспективные лекарственные формы для применения в педиатрической практике в качестве седативных препаратов. Однако, все лекарственные формы, применяемые у детей, требуют тщательного анализа состава, точного дозирования, контроля лечащего врача.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА КОЛЛОИДНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДИСПЕРСНОЙ СРЕДЫ И ВРЕМЕНИ ХРАНЕНИЯ РАСТВОРА

Захарова О.В.¹, Гульченко С.И.², Гусев А.А.^{1,2}, Кузнецов Д.В.²

¹Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина,

²Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»

Одним из перспективных направлений применения металлических наночастиц является создание нового класса альтернативных антимикробных препаратов. Для исследования выбраны наночастицы меди. Благодаря высокой биоцидной активности, сопоставимой с наносеребром, относительно низ-

кой себестоимости и экологической безопасности являются весьма перспективными для разработки новых антибактериальных средств. В то же время, такие факторы, такие как агломерация и быстрое окисление являются проблемой при создании препаратов на основе НЧ.

Для исследования токсичности растворов наночастиц меди была использована биолюминесцентная методика, широко применяемая для токсикологической оценки наноматериалов. Метод основан на определении изменения интенсивности биолюминесценции генно-инженерного штамма *E. Coli* M-17 при воздействии наночастиц. Уменьшение интенсивности биолюминесценции пропорционально токсическому эффекту.

Исследовались наночастицы меди размером 50 нм (Cu-50) и 100 нм (Cu-100) полученные методом электрического взрыва проводников в среде аргона. Содержание кислорода (O) в поверхности Cu-50 и Cu-100 10-15 % масс., меди (Cu) – 85-90 % масс., форма частиц – сферическая. Для исследования использовалось 2 типа сред: дистиллированная вода и физиологический раствор, как простейшая модельная биологическая жидкость. Суспензии наночастиц готовили на основе дистиллированной воды (рН=7,1±). Определение потребностей и процессов, необходимых для обеспечения деятельности предприятия;

Оценка процессов и всех видов деятельности, влияющих на качество;

Определение области применения процесса;

Создания карт всех процессов и их взаимоотношений с другими процессами для исключения дублирования;

Интеграция процессов.

Для получения максимально эффекта от ФСК ее следует четко структурировать для облегчения общего понимания и последующего применения, учесть особенности каждой стадии жизненного цикла ЛС, спроектировать масштабируемой и переносимой в рамках предприятия, внедрить индикаторы исполнения, контролирующие эффективность ФСК, такие, как жалобы, САРА, управление изменениями.

Таким образом, необходим комплексный подход к разработке системы управления качеством ЛС, благодаря которому возможно обеспечить присутствие на фармацевтическом рынке безопасных и эффективных препаратов, соответствующих ожиданиям потребителей.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ

*Какорин П.А., Раменская Г.В., Павлова Л.А.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва*

На сегодняшний день перспективными для разработки методов фармакологической коррекции различных заболеваний являются препараты природного происхождения, отличающиеся как широким спектром фармакологических свойств и шириной терапевтического действия, так и малой токсичностью и связанной с этим возможностью длительного применения без риска возникновения токсических реакций.

Среди всего разнообразия лекарственных растений особый интерес представляют растения рода *Saragana*, в которых содержится большое количество биологически активных веществ. Более 10 видов этого растения используются в традиционной медицине Китая, Монголии и Тибета. Из множества научных работ можно сделать вывод, что они все обладают низкой токсичностью, а побочные реакции на них и аллергические проявления крайне редки.

Особый интерес представляет растение из этого рода *S. jubata* (карагана гривастая), которая в этно-медицине Тувы применяется как противомикроб-

ное, противовоспалительное и гиполипидемическое средство. Поэтому представляется актуальным исследование фармакологических свойств и химического состава этого лекарственного растения.

Химический состав караганы гривастой неоднороден: в ней содержится около 7,03% дубильных веществ, 0,66% эфирных масел, около 0,8% алкалоидов, 1,05% флавоноидов (мирицетин, кверцетин, изорамнетин), до 1,85% сапонинов, более 2% кумаринов, 0,51% аскорбиновой кислоты, 1,92% органических кислот, 6,28% смолистых веществ и 1,34% сахаров и стероидов.

Экспериментальные и клинические исследования выявили антиоксидантные, цитопротекторные, гепатозащитные, антигипоксические и многие другие эффекты караганы гривастой, а также низкую токсичность.

На данный момент карагана гривастая является не до конца изученным растением. Однако, содержание в ней большого количества биологически активных веществ вызывает интерес к изучению ее фармакологических свойств.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «11-ДЕЗОКСИМИЗОПРОСТОЛ»

*¹Катаева Р.М., ¹Азлетдинов Э.Ф., ²Сапожникова Т.А., ²Габдрахманова С.Ф., ²Макара Н.С.,
²Хисамутдинова Р.Ю., ²Иванова Н.А., ²Зарудий А.Ф., ²Мифтахов М.С.*

¹ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет

Минздрава РФ, г. Уфа

²ФГБУН Уфимский институт химии РАН, г. Уфа

Новое лекарственное средство «11-дезоксимизопростол» – этиловый эфир (\pm)-11,15-дидезокси-16-метил-16-гидроксипростагландина E1, относится к ряду 11-дезоксипростагландинов и близко по химическому строению с мизопростолом [1]. Будучи химически более стабильным и менее токсичным, оно превосходит мизопростол по утеротонической активности, что, наряду с синтетической доступностью и отсутствием побочных эффектов, делает его исключительно перспективным для внедрения в практику с целью замены мизопростола в гинекологических бинарных препаратах [2].

Одним из обязательных этапов доклинических исследований новых лекарственных средств является изучение их репротоксического действия. Под репродуктивной токсичностью фармакологических средств понимают эмбрио- и фетотоксическое действие в антенатальном и постнатальном периоде развития, а также влияние на генеративную функцию организма [3].

Экспериментальная работа проведена на нелинейных белых крысах обоего пола (масса тела 190-210 г). Исследуемое вещество вводили животным в форме суспензии в 1%-ном крахмальном геле. Перед приготовлением суспензии 11-ДМП, таблетки (11-ДМП табл.) растирали в ступке до однородного порошка. Животные из групп негативного контроля получали 1% крахмальную гелевую (плацебо). Введение препарата производили внутривентрикулярно в дозе 10 мг/кг. Введение самцам проводили в течение 48 дней до спаривания с интактными самками. Самкам введение производилось в течение 15 дней до спаривания с интактными самцами. Через 24 часа после окончания введения самок подсаживали к соответствующей группе самцов сроком на 2 эстральных цикла (10 дней). Половину самок вскрывали на 17-21 дни беременности, подсчитывали количество желтых тел, мест имплантации, количество живых и погибших плодов. Вторую половину самок оставляли до родов и проводили наблюдение за течением родов и физическим развитием потомства в период вскармливания.

В период введения 11-ДМП табл., снижения темпов прироста массы тела, изменений в поведении, гибели животных не отмечалось ни в одной из изучаемых групп самцов или самок. Индекс

фертильности достоверно не различался во всех экспериментальных группах. При вскрытии самок не было выявлено повышения уровней пред- и постимплантационной смертности в опытных группах по сравнению с соответствующими контрольными группами.

У оставленных рожать самок процесс родов и забота о потомстве были без особенностей. Среднее количество плодов на одну самку, соотношение крысят по полу, уровень гибели новорожденных крысят не изменялись в пометах всех экспериментальных групп. Сроки отлипания ушной раковины, появления первичного волосяного покрова, прорезывания резцов, открывания глаз в пометах как опытных, так и контрольных групп достоверно не различались. Взвешивание крысят на 4-ый, 7-ой, 14-ый и 21-ый дни после родов показало, что масса тела крысят во всех экспериментальных группах достоверно не различалась.

Таким образом, при изучении репродуктивной токсичности 11-ДМП табл. показано, что препарат не вызывает изменений генеративной функции при внутривентрикулярном введении в дозе 10 мг/кг. Не выявлено изменений плодовитости и репродуктивной способности крыс – самцов и самок. Отсутствовали изменения показателей физического развития потомства животных.

Работа выполнена в рамках госконтракта № 14.№08.12.0013.

Литература

1. Иванова Н.А., Сапожникова Т.А., Габдрахманова С.Ф. и др. Средство, представляющее собой этиловый эфир (\pm)-11,15-дидезокси-16-метил-16-гидроксипростагландина E1, проявляющее утеротоническую активность. Патент на изобретение № 2394814 от 05.02.10 г.
2. Габдрахманова С.Ф., Сапожникова Т.А., Басченко Н.Ж., Зарудий Ф.С., Иванова Н.А. Влияние аналога мизопростола – 11-дезоксимизопростола на сократительную активность матки крыс и его abortивные свойства. Экспериментальная и клиническая фармакология, Т.73, №3, С.18-20. 2010.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2013. – 944с.

АНАЛИЗ МЕТОДИЧЕСКИХ И МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ПРИ ИЗУЧЕНИИ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ И ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАЗЛИЧНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП

*Коваленко Л.П., Таллерова А.В., Кузнецова О.С., Алексеева С.В.
ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Москва*

Антигенность высокомолекулярных препаратов животного и микробного происхождения, метаболитов беталактамовых антибиотиков, выраженное влияние лекарственных средств или имеющихся в них примесей, стабилизаторов и консервантов на иммунную систему, в частности на различные субпопуляции лимфоцитов, нарушение баланса цитокинов привело к созданию различных методологических подходов изучения иммунотоксичности фармакологически эффективных соединений на уровне национальных программ разных стран.

Программы США по изучению иммунотоксичности химических соединений и лекарственных средств носят рекомендательный характер и направлены прежде всего на обнаружение иммунодепрессивных свойств химических агентов, не уделяя, по мнению коллег из Европы и Японии, должного внимания проблемам гиперчувствительности. Однако еще на 1-ом уровне исследований иммунотоксичности в программах США и Европы обязательным требованием является изучение

влияния исследуемых соединений на натуральные киллеры. С 2000 года, согласно документу СРМР/SWP/1042/99 комитета по патентованию медицинских средств Европейской комиссии по науке и технике, все новые медицинские средства необходимо изучать на наличие иммунотоксичности. Полученные результаты должны быть включены в стандартные токсикологические экспертные данные.

Для химической структуры беталактамов характерно наличие β. Таким образом, различные классы фармакотерапевтических соединений имеют свои особенности, которые необходимо учитывать при квалифицированном изучении как общетоксического, так и специфических видов побочного действия. Только при детальном знании литературы о химической структуре, технологии получения, возможно имеющихся клинических исследований лекарственных средств можно с относительной долей уверенности охарактеризовать терапевтическую широту и безопасность исследуемого вещества, а также выявить новые иммунофармакологические свойства.

РАЗРАБОТКА ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ЦИТОХРОМОВ P450 ДЛЯ СКРИНИНГА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ, ИНГИБИТОРОВ И РЕГУЛЯТОРОВ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

*Кузиков А.В.¹, Булко Т.В.¹, Шумянцева В.В.¹, Махова А.А.², Ших Е.В.²,
Кукес В.Г.², Арчаков А.И.¹*

*¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ),
²ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России*

Цитохромы P450 (CYP) — семейство гем-содержащих ферментов, вовлеченных в первую фазу метаболизма лекарственных препаратов. Современные подходы при разработке новых лекарств, оценке межлекарственных взаимодействий и предсказание побочных явлений базируются на всестороннем мониторинге различных аспектов влияния потенциального лекарственного соединения на цитохром P450-зависимый метаболизм. В связи с этим, поиск более эффективных, высокочувствительных и экономичных методов моделирования метаболизма лекарственных препаратов является одной из быстроразвивающихся областей аналитической химии, экспериментальной фармакологии, фармакогене-

тики и персонализированной медицины. При разработке аналитических методов исследования цитохром P450-зависимого метаболизма большой интерес представляют электрохимические системы на основе изоферментов цитохрома P450. Анализ каталитической активности цитохрома P450 требует сложного реконструирования ферментной системы, присутствия белков редокс-партнеров, доноров электронов (NADPH) и фосфолипидов. Электрохимические системы на основе рекомбинантных изоферментов цитохрома P450, в которых электрод играет роль донора электронов, позволяют исследовать субстрат-ингибиторный потенциал P450 с высокой чувствительностью, а также рассчитывать электро-

кинетические параметры ферментативных реакций. Использование планарных электродов, полученных методом трафаретной печати, модифицированных нанокompозитными биосовместимыми материалами на основе жидкокристаллических веществ, наночастиц металлов, многостеночных углеродных нанотрубок, позволяет повысить чувствительность анализа, уменьшить расход дорогостоящего фермента и миниатюризировать процесс определения каталитической активности при скрининге потенциальных лекарственных соединений.

Нами были разработаны электрохимические системы на основе рекомбинантных изоферментов цитохрома P450 3A4 и 2C9, с помощью которых исследовано влияние метаболических препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами (витамины А, Е, С, коэнзим Q), лекарств-антиоксидан-

тов (этоксидол, мексидол, цитохромс), витаминов группы В (В₁, В₂, В₆) и витаминopodobных веществ (таурин) на каталитическую активность цитохрома P450. Показано, что данные препараты могут быть использованы как модуляторы каталитической активности цитохрома P450. С помощью разработанной нами электрохимической системы на основе цитохрома P450 17A1, проведено исследование ингибиторной активности новых потенциальных противоопухолевых соединений — оксазолин-содержащих производных 17(20)E-прегна-5,17(20)-диена, полученных в лаборатории синтеза физиологически активных соединений ИБМХ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках соглашения № 14.576.21.0045.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Кухаренко А.Е.¹, Жаберева А.С.², Логинов П.А.², Гравель И.В.³

¹ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов», Москва

²Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

³ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Оценка специфических видов токсичности является обязательным этапом проведения доклинических исследований оригинальных лекарственных средств для медицинского применения. В рамках Государственного контракта № 16.N08.12.1024 от 14 июня 2012 г. по теме «Доклинические исследования отечественной терапевтической вакцины против рецидивирующего респираторного папилломатоза и аногенитального кондиломатоза, произведенной на основе клеток эукариот» один из этапов исследования был посвящен изучению генотоксических свойств терапевтической вакцины *in vitro* и *in vivo* методом щелочного гель-электрофореза изолированных клеток (метод ДНК-комет). В основе метода лежит оценка целостности ДНК в клетках (Collins et al., 2008).

Цель исследования — выявление и количественная оценка щелочно-лабильных сайтов и разрывов ДНК в клетках клеточных линий (*in vitro* тест), в лимфоцитах периферической крови и клетках печени животных (*in vivo* тест) после введения исследуемого препарата через 6 и 24 часа после введения. Исследование проведено в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных и одобрено Этическим комитетом НижГМА.

Терапевтическая вакцина против рецидивирующего респираторного папилломатоза и аногени-

тального кондиломатоза (далее Терапевтическая вакцина) представляет собой стерильную суспензию для инъекций, которая содержит в прививочной дозе (0,5 мл) гибридные рекомбинантные белки (онкобелка E7 ВПЧ (типов 6 и 11) и белок теплового шока HSP70 *Mycobacterium tuberculosis* (200 мкг/доза)), сорбированные на алюминия гидроксиде (0,4 мг/доза).

Для оценки генотоксических свойств Терапевтической вакцины *in vitro* использовали традиционно применяемые в генотоксических исследованиях клетки линии Chang liver (нормальные клетки печени человека) (НИИ вирусологии РАМН). В связи с отсутствием данных, характеризующих генотоксические эффекты препарата, на первом этапе определяли LC₅₀ для клеточных культур в диапазоне доз от 0,001 до 0,1 мл Терапевтической вакцины на 1 мл культуральной среды. В результате выполнения первого этапа, токсичная концентрация выявлена не была. Таким образом, для дальнейшего изучения генотоксичности была взята концентрация 40 мкг/мл (по рекомбинантным белкам) (или 100 мкл/мл по готовой лекарственной форме) в объеме 0,1 мл.

Параллельно экспериментальной, были введены группы отрицательного (полифосфатный буфер, PBS) и положительного контроля (метилметансульфонат, 50 мкл/мл для *in vitro*-теста и 50 мкг/кг для *in vivo*-теста).

Исследования ДНК-повреждений *in vivo* проводили на мышах-самцах, гибридах первого поколения (СВА×С57ВL/6)F₁ в дозах 0,084, 2,5 и 25 мл/кг. Количество животных в каждой группе равнялось 10. Через 6 и 24 часа после введения препарата у животных забирали кровь и ткань печени для выделения лимфоцитов и клеток печени согласно методическим рекомендациям по изучению генотоксических свойств природных и синтетических соединений (Дурнев с соавт., 2006). При выборе доз руководствовались средней терапевтической дозой, в которой изучаемый препарат планируется для клинического применения. Расчет доз для животных осуществляли по методу эквитерапевтических доз с учетом коэффициента поверхности тела. Максимальный объем при внутримышечном введении составил 0,5 мл/20 г.

Анализ результатов эксперимента отрицательно-го контроля показал отсутствие повреждений ДНК как в экспериментах *in vitro*, так и в экспериментах *in vivo* (лимфоциты периферической крови и клетки печени мышей) на обоих временных промежутках

(6 и 24 часа). Анализ результатов экспериментов с положительным контролем (метилметансульфонат) показал максимальное повреждение ДНК в экспериментах *in vitro* и *in vivo* как через 6 часов от начала эксперимента, так и через 24 часа. На 100 подсчитанных клеток в среднем приходилось 100 клеток 4-го класса повреждения.

В результате исследования было установлено, что препарат Терапевтическая вакцина не обладает генотоксической активностью на обоих временных промежутках в экспериментах *in vitro* при концентрации действующих веществ 40 мкг/мл. В экспериментах *in vivo* для доз 0,084 и 2,5 мл/кг генотоксическая активность Терапевтической вакцины также установлена не была. При изучении генотоксичности препарата Терапевтическая вакцина *in vivo* в дозе 25 мл/кг были установлены статистически достоверные различия в уровне повреждений ДНК в клетках печени самцов мышей, подвергавшихся воздействию изучаемого препарата по сравнению с контролем, что обусловлено наличием алюминия гидроксида в составе готовой лекарственной формы.

БИОАНАЛОГИ, ОПРЕДЕЛЕНИЕ И РЕГУЛИРОВАНИЕ ИХ ОБРАЩЕНИЯ

Лиджиева А.А., Ядренцева Е.Н., Смолярчук Е.А., Бушманова А.В.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, НИИ Фармации, Москва

Европейское медицинское агентство по лекарственным средствам является ведущим регуляторным органом по разработке нормативных актов касательно биотехнологических лекарственных препаратов: Директива 2003/63/ЕС, Директива 2004/27/ЕС, Руководство по подобным биологическим лекарственным продуктам 2005 г. В данных документах отражены общие понятия и положения по регулированию обращения биосимиляров. Также есть руководства по проведению доклинических и клинических исследований, контролю качества, оценке иммуногенности и приложения по вопросам доклинических и клинических исследований для отдельных классов биосимиляров:

- для соматотропина;
- для инсулина;
- для гранулоцитарного колониестимулирующего фактора;
- для эритропоэтина;
- для моноклональных антител;
- для низкомолекулярных гепаринов;
- для интерферонов альфа.

Анализ сопоставимости должен показывать, что биосимиляры полностью идентичны по эффек-

тивности, безопасности и качеству оригинальному биотехнологическому препарату. Но даже при полном соблюдении технологии производства клиническая эффективность биосимиляров может отличаться даже от серии к серии. Поэтому, при их регистрации требуется проведение клинических исследований.

Однако и после регистрации необходимо также следить за безопасностью биосимиляра, так как временные рамки клинических исследований не позволяют полностью выявить ряд побочных явлений и иммуногенность препарата. Например, при длительном применении рекомбинантных препаратов в организме пациентов вырабатываются антитела, которые нейтрализуют его. Истечение сроков патентной защиты на большинство оригинальных биопрепаратов создало предпосылки к внедрению аналогичных биопрепаратов, так называемых биосимиляров.

Среди основных факторов развития рынка биосимиляров называют умеренную цену по сравнению с оригинальными продуктами, широкую сферу применения, увеличение заинтересованности в них государства.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ЛИНИЯ МЫШЕЙ С ДЕФИЦИТОМ МУЦИНА-2 – МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ АНТИБИОТИКОВ

Литвинова Е.А., Кожевникова Е.Н., Мошкин М.П.

Институт цитологии и генетики Сибирское отделение Российской академии наук

Изучение воспаления в кишечнике и связанного с ним дисбактериоза у человека является одним из наиболее активно развивающихся и перспективных направлений современной медицины и биологии (R.Sartor, Nature Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol., 2006; L. Jostins, Nature, 2012). К настоящему моменту созданы различные модели кишечных воспалений на животных для изучения всех аспектов этих процессов (A.Mizoguchi, ProgMolBiolTranslSci., 2012). Основными признаками воспаления кишечника являются отек, снижение количества основного протеогликанамукозального слоя кишечника (муцина-2), активация иммунных клеток (K.Bergstrom, PloSPathogens, 2010). Совокупность этих проявлений часто приводит к колоректальному раку.

Основным способом лечения неспецифического язвенного колита и болезни Крона, а также сопутствующих бактериальных инфекций являются антибиотики широкого спектра действия (W.Alexander, InfectiousDiseasesNews, 2005; M.DiStefano, G.R.Coraza, Chemotherapy 2005). Показано, что применение антибиотиков приводит к изменению состава симбиотической микрофлоры кишечника (дисбактериозу), к развитию воспалительных процессов и уменьшению толщины кишечного протеогликана (S.Rakoff-Nahoum, Cell, 2004; C. Ubeda, J Clin Invest. 2010; M. Wlodarska, InfectionandImmunity, 2011).

Новые антибактериальные препараты испытывают, главным образом, на животных с нормальной функцией кишечника (Lingetal., 2015). Вместе с тем, реакция организма на терапию антибиотиками зависит от состояния кишечной микрофлоры, нарушение которой может приводить к серьезным осложнениям (J.Ayres, NatMedicine, 2012; N. Kamada, NatureReviews, 2013). Поэтому для определения границ применения новых антибактериальных средств целесообразно их тестирование на модельных организмах с генетической предрасположенностью к нарушениям кишечной микрофлоры.

Исходя из сказанного, **цель работы** заключалась в исследовании реакции на антибактериальную терапию у мышей с генетически обусловленным дефицитом муцина-2, как потенциальных модельных объектов для тестирования фармакологической безопасности новых антибиотиков.

В данной работе мы испытали три известных антибиотика (кларитромицин, амоксицилин, метронидазол) на животных с дефицитом основного кишечного протеогликана – муцина-2. Подобную

многокомпонентную схему используют для лечения *Helicobacterspp.* у животных и человека. Работа выполнена в Центре генетических ресурсов ИЦиГ СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI62114X0010) на мышах трех генотипов: C57BL/6Jmuc2^{-/-}kaiso^{-/-}, C57BL/6Jmuc2^{+/+}kaiso^{-/-}, C57BL/6Jmuc2^{+/+}kaiso^{+/+}. Животных содержали в индивидуально-вентилируемых клетках на стандартном рационе (Sniff, Германия) и обеспыленных опилках. У животных проводили мониторинг патогенов согласно международным требованиям содержания животных SPF-статуса. Каждой группе мышей в возрасте 12-14 недель в течение двух недель добавляли в питьевую воду либо три антибиотика, либо каждый по отдельности. У животных определяли изменение веса и состояние патогенной (*Helicobacterspp.*) и симбиотической микрофлоры (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichiacoli*) методом количественного Real-time PCR. Методом одноцепочечного конформационного полиморфизма 16spPHK оценивали весь спектр бактериального сообщества кишечника.

Три антибиотика, наряду с метронидазолом и амоксицилином по-отдельности, оказались не эффективными для элиминации *Helicobacterspp.* у мышей с дефицитом муцина-2. Наряду с неэффективным лечением тремя антибиотиками наблюдали 60% гибель животных данной линии. Тогда как животные C57BL/6Jmuc2^{+/+}kaiso^{-/-} и C57BL/6Jmuc2^{+/+}kaiso^{+/+} имели 100% выживание без снижения веса и полное устранение инфекции *Helicobacterspp.* Только лечение кларитромицином давало позитивный антибактериальный эффект после недельного курса терапии. Но две недели спустя 90% животных, получавших кларитромицин, погибло. Проведенный нами бактериальный анализ показал, что недостаток муцина-2 и лечение антибиотиками приводят к изменению симбиотической микрофлоры кишечника, что может быть причиной их гибели.

Таким образом, применение антибиотиков животными с дефицитом муцина может быть не только малоэффективным для элиминации патогена, но и опасным для их жизни. Высокая восприимчивость к токсическому действию антибиотиков дает основание для использования мышей с дефицитом муцина-2 в качестве тест-объекта для оценки фармакологической безопасности новых средств антибактериальной терапии.

Работа поддержана грантами РФФИ 15-04-07653 и РФФИ 14-04-32059.

БЕЗОПАСНОСТЬ ОДНОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ У ВЗРОСЛЫХ ТРЕХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ: CUCURBITA PERO, TANACETUM VULGARE, JUGLANS REGIA

*Максимов М.Л., АльДжомма Р., Стреляева А.В., Шамсиев А.М., Свистунов А.А., Шамсиев Ж.А., Садыков В.М., Чебышев Н.В., Габченко А.К., Ашуров А.А., Вахидова А.М., Сапожников С.А., Мухитдинов Ш.М., Балаян Э.В.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва,
Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан*

Эхинококкоз относится к наиболее опасным и тяжелым паразитарным заболеваниям. Почти единственным методом лечения является хирургическое вмешательство, которое не всегда дает излечение. Актуальна разработка консервативного метода лечения эхинококкоза. На первом этапе исследований нами была сделана попытка лечения эхинококкоза одним гомеопатическим препаратом.

Химиотерапия использовалась в послеоперационном периоде при нерадикальных эхинококкэктомиях, когда по различным причинам отдельные мелкие кисты заведомо удалить не удавалось. Лечебная схема использовалась также как самостоятельный метод лечения у больных с множественным поражением органов мелкими эхинококковыми кистами, не подлежащими оперативному удалению; при одиночных небольших до 3 см в диаметре кистах, расположенных в труднодоступных зонах; в случаях раннего выявления рецидива заболевания.

56 взрослых больных эхинококкозом печени пролечены гомеопатическим препаратом Cucurbita pero С6 в течение 35 дней. Мы использовали гранулы гомеопатические, купленные в аптеках города Москвы. Четыре гранулы растворяли в 150 мл кипяченной охлажденной до комнатной температуры воде в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А Никитину, вращением 50 раз вправо, 50 раз влево. Препарат готовился каждый день, в этот же день использовался. После 10 встряхиваний за 20–30 мин. до завтрака делался один большой глоток. Приблизительно через 2 часа после завтрака таким же способом делался второй глоток; третий глоток – за 20–30 мин. до обеда, четвертый – через 2 часа после обеда, пятый – за 20–30 мин до ужи-

на, шестой – за 20 – 30 мин. перед сном. Побочного действия препарата не отмечалось. Препарат готовился каждый день, в этот же день использовали по методике авторов. Побочного действия гомеопатических препаратов не отмечалось. Хороший противоэхинококковый результат отмечен у 29-ти (51,87%), удовлетворительный – у 15-ти(26,96%), не удовлетворительный – у 12-ти(21,17%). Таким образом, при химиотерапии эхинококкоза печени у взрослых больных эффективным препаратом оказался гомеопатический препарат Cucurbita pero С6.

55 взрослых больных эхинококкозом печени пролечены тремя гомеопатическими препаратами: Cucurbita peroС6, Tanacetum vulgareС6, Juglans regiaС6. в течение 35 дней. Мы использовали гранулы гомеопатические, купленные в аптеках города Москвы. Четыре гранулы каждого препарата растворяли в 150 мл кипяченной охлажденной до комнатной температуры воде в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А Никитину, вращением 50 раз вправо, 50 раз влево. Далее применялись по описанной нами схеме. Хороший противоэхинококковый результат отмечен у 35-ти (63,64%), удовлетворительный – у 12-ти (21,81%), не удовлетворительный – у 18-ми (14,55%). Таким образом, применение одновременно трех гомеопатических препаратов повысило хороший противоэхинококковый эффект более чем на 10%, если при применении только одного гомеопатического препарата Cucurbita peroС6 хороший результат противоэхинококкового лечения был равен

51,87%, при использовании трех препаратов он повысился до 63,64%. Побочное и токсическое действие применения трех препаратов тщательным исследованием исключено.

СОЗДАНИЕ МАКЕТА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ СКРИНИНГА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА PARP1

*Малоченко Н.В., Кулаева О.И., Никитин Д.В., Студитский В.М.
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова*

Одной из перспективных молекулярных мишеней для поиска противоопухолевых лекарственных соединений является фермент поли(АДФ-рибозо)

полимераза 1 (PARP1). PARP1 является распространенным ядерным белком (1-2 миллиона молекул на клетку) и выполняет функцию «сensors» разрывов

ДНК. При возникновении разрывов ДНК PARP1 связывается с участками поврежденной ДНК за счет так называемых «цинковых пальцев», при этом активируется его ферментативная активность. В результате поли(АДФ)-рибозилирования происходит деконденсация хроматина в месте разрыва, что облегчает доступ ферментов репарации ДНК. Участие PARP1 в репарации обеспечивает жизнеспособность не только нормальных, но и опухолевых клеток. При той генетической нестабильности, которая наблюдается у опухолевых клеток, репарирующая активность PARP1 является необходимым фактором выживания. Получено множество данных о вовлеченности PARP1 в процесс канцерогенеза. Так, повышенная экспрессия PARP1 наблюдается при меланомах, опухолях легких и молочной железы и др. При этом высокий уровень экспрессии PARP1 является прогностическим признаком и связан с худшим прогнозом выживаемости. Кроме того, экспрессия PARP1 коррелирует с устойчивостью опухолей к терапии.

Ингибиторы PARP1 являются перспективными противоопухолевыми агентами. Поскольку лучевая терапия и многие химиотерапевтические подходы в лечении опухолевых заболеваний действуют посредством повреждения ДНК, ингибиторы PARP1 применимы для усиления действия традиционных методов лечения и действуют как химио- и радиосенсибилизаторы. Все существующие ингибиторы PARP1 являются никотиамидными миметиками и ориентированы на связывание с каталитическим доменом PARP1 и конкуренцию с НАД+. НАД+ является кофактором, который взаимодействует со многими ферментами (включая PARP1), вовлеченными в ряд клеточных процессов и поэтому конкуренция с НАД+ приводит к высокой токсичности ингибиторов PARP1. Кроме того, вопрос о безопасности длительного применения существующих ингибиторов PARP1 остается открытым. Известно, что опухолевые клетки обладают способностью быстро развивать устойчивость при длительной терапии единственным препаратом. Эти проблемы привели к тому, что многие ингибиторы PARP1 «сошли с дистанции» на I и II стадиях клинических исследований из-за высокой неспецифичной токсичности и ряда побочных эффектов на организм пациентов. Поэтому, актуальна задача поиска новых селективных ингибиторов PARP1 с пониженной токсичностью. Для этого требуются новые подходы к поиску и новые системы скрининга ингибиторов PARP1.

Поскольку PARP1 состоит из нескольких функциональных доменов и обладает дополнительными, помимо ферментативной, активностями (в частности – ДНК-связывающей и транскрипционной), то активность PARP1 можно регулировать ингибированием данных функциональных доменов. По мнению авторов, **поиск соединений**, способных предот-

вращать участие PARP1 в процессе транскрипции, может привести к разработке нового класса лекарственных соединений, имеющих более высокую специфичность и менее выраженные побочные эффекты. Используя полученную ранее авторами систему транскрипции в нуклеосомных системах *in vitro* (рисунок 1), становится возможным поиск и проверка транскрипционных ингибиторов PARP1.



Рис. 1. Схема системы скрининга ингибиторов PARP1.

Система собирается из высокоочищенных компонентов: отдельно осуществляется сборка нуклеосомы из очищенных гистонов и коротких фрагментов ДНК определенной последовательности, затем происходит лигирование нуклеосом с РНК полимеразным комплексом; затем добавляют нуклеотиды и анализируют продукты транскрипции. Методы анализа могут быть как биохимические, так и флуоресцентные. На стадии до запуска транскрипции в данную систему можно внести PARP1 как молекулярную мишень. В таком виде система готова для тестирования различных химических соединений – потенциальных ингибиторов PARP1

Наши предварительные исследования показывают, что PARP1 стимулирует процесс транскрипции в данной системе (рисунок 2).

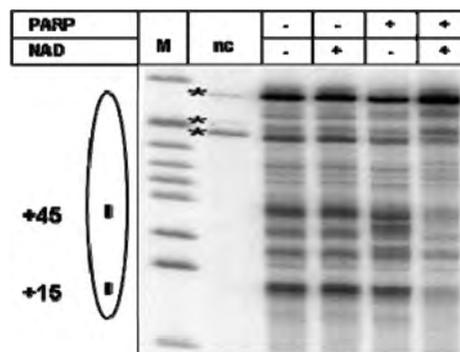


Рис. 2. Анализ транскрипции PARP1 с помощью электрофореза в денатурирующих условиях.

Позиция нуклеосом отмечена овалом. Видно, что в отсутствие PARP1, процесс транскрипции идет с ярко выраженным паузированием РНКполимеразы, в положениях 15 и 45 п.н. от промотер-проксимальной границы. При внесении PARP1 и НАД+ процесс транскрипции значительно усиливается, паузирование снижается, выход транскриптов увеличивается. Таким образом, система чувствительна

к внесению PARP1 и готова для скрининга разных химических соединений.

Благодарности: Работа осуществлена при финансовой поддержке ФЦП Минобрнауки РФ (соглашение о предоставлении субсидии №14.604.21.0063 от 27 июня 2014 г. RFMEFI60414X0063), индустриального партнера ООО «Компания Хеликон»

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

*Медушева Е.О., Филатов В.Н., Бобрышев Д.В., Бейер Э.В., Филатов Н.В.
ОАО «Научно-исследовательский институт текстильных материалов»,
ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения РФ.*

Проведены доклинические исследования гемостатического средства, представляющего по химической структуре биodeградируемый полимерный продукт в форме порошка на основе модифицированной целлюлозы, содержащей гемостатический и антибактериальный компоненты (ϵ -аминокапроновую кислоту, лизоцим). Изучение безопасности проведено в ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. Вид, размер и характеристики тест-систем соответствуют видам доклинических исследований, и обусловлены исследованием общей и специфической токсичности препарата.

Исследована острая токсичность препарата при трех путях введения на двух видах лабораторных животных. Значения LD_{50} испытуемого препарата при внутрижелудочном введении и накожном нанесении (на неповрежденную и скарифицированную кожу) составляют более 5000 мг/кг, что позволяет отнести согласно гигиенической классификации ГОСТ 12.1.007-76 данное лекарственное средство к 4 классу опасности. Исследован диапазон переносимых, токсических и летальных доз препарата при внутрибрюшинном пути введения на лабораторных животных. Обнаружено, что минимальная испытанная доза (500 мг/кг) не вызывает каких-либо значимых изменений состояния крыс и мышей, судя по всем изученным показателям, а также результатам последующих патоморфологических исследований и, следовательно, является нетоксичной. Максимально переносимой дозой (LD_{10}) для крыс является 1530 мг/кг, для мышей – 667 мг/кг. Частично смертельная доза препарата (LD_{16}) для крыс составляет 1720 мг/кг и для мышей – 825 мг/кг. LD_{50} изученного лекарственного средства при внутрибрюшинном введении крысам обоего пола составляет 2600 ± 410 мг/кг и мышам обоего пола 1670 ± 210 мг/кг. Смертельной дозой, близкой к аб-

солютной (LD_{84}), для крыс является 3900 мг/кг, для мышей – 3220 мг/кг.

Коэффициент кумуляции, полученный в ходе исследования субхронической токсичности, составляет 2,2 для крыс и 2,6 для мышей, что свидетельствует об отсутствии у препарата кумулятивных свойств и о развитии к нему привыкания.

При местном применении и внутрижелудочном введении во всех исследованных дозах – терапевтической (140 мг/кг), превышающей терапевтическую в 5 раз (700 мг/кг) и 10 раз (1400 мг/кг) – ЛС не влияет на регистрируемые показатели и не оказывает хронического токсического действия. Внутрибрюшинное введение минимальной исследованной дозы препарата, эквивалентной терапевтической (140 мг/кг), а также промежуточной дозы ЛС (270 мг/кг у крыс и 200 мг/кг у мышей) не вызывает изменений регистрируемых параметров и не оказывает токсического действия. Максимальные исследованные дозы – 390 мг/кг у крыс и 250 мг/кг у мышей оказывают токсическое действие.

При оценке реакции активной кожной анафилаксии, использовании метода накожных аппликаций и конъюнктивальной пробы алергизирующего действия у испытанного препарата не выявлено. При исследовании влияния терапевтической и 10-кратной терапевтической доз ЛС на состояние гуморального и клеточного иммунитета обнаружено, что в изученных дозах ЛС не влияет на уровень IgG в плазме крови, не вызывает развития реакции гиперчувствительности замедленного типа и не меняет фагоцитарную активность лейкоцитов, что свидетельствует об отсутствии у препарата иммунотоксического действия. При исследовании репродуктивной токсичности ЛС обнаружено, что такие показатели репродуктивного здоровья животных как качество желтых тел в яичниках, резорбций плодов, мест имплантации, предимплантационная и постимплантационная гибель в опытной группе не отличаются от

контрольных значений. ЛС не оказывало повреждающего действия на эмбрионы животных. Внешний осмотр плодов после вскрытия беременных самок во всех группах не выявил аномалий развития глаз, лицевого и мозгового черепа, конечностей, хвоста, что говорит об отсутствии репродуктивной токсичности. Мутагенность ЛС была изучена анателофазным методом цитогенетического анализа и путем изучения индукции доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках крыс. Мутагенное действие не выявлено. Исследование канцерогенных свойств ЛС проводилось на микроорганизмах и лаборатор-

ных животных. При оценке способности вызывать генные мутации у микроорганизмов, индукцию хромосомных aberrаций и микроядер в клетках костного мозга млекопитающих канцерогенного действия у биodeградируемого гемостатического лекарственного средства не выявлено.

Полученные факты, свидетельствующие об отсутствии у биodeградируемого гемостатического лекарственного средства специфической фармакологической токсичности, служат основанием для рекомендации к проведению клинических исследований препарата.

ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛИРОВАНИЯ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РФ

Мурашев А.Н.

Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук

В РФ доклинические исследования лекарственных средств для медицинского применения контролируются Росздравнадзором путем проведения плановых выездных проверок организаций, их выполняющих. Предметом таких проверок является оценка соблюдения требований, установленных: Федеральным законом от 12.04.2010 №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23.08.2010 №708н «Об утверждении правил лабораторной практики»; ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Информацию о результатах плановых выездных проверок организаций, выполняющих доклинические исследования лекарственных средств для медицинского применения, можно найти на сайте Росздравнадзора.

В настоящее время в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» внесены изменения, которые отражены в Федеральном законе от 22.12.2014 №429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». В части 2 статьи 11 «Доклиническое исследование лекарственного средства для медицинского применения» этого закона записано: «Доклиническое исследование лекарственного средства для медицинского применения проводится в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики, утвержденными уполномоченным федеральным органом исполнительной власти». Таким образом, в исполнении закона проведение доклинических исследований в РФ должно осуществляться в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice, GLP). С 2014 года в РФ начала функционировать Национальная система надлежащей ла-

бораторной практики. Согласно Постановлению правительства от 17.12.2013 №1172 «О признании и об оценке соответствия испытательных лабораторий (центров) принципам надлежащей лабораторной практики...» Федеральная служба по аккредитации (Росаккредитация) назначена органом по мониторингу испытательных лабораторий на предмет их соответствия принципам GLP. Получение признания соответствия принципам GLP осуществляется испытательными лабораториями в добровольном порядке. Информация о результатах инспекций Росаккредитации заносится в соответствующий реестр, с которым можно ознакомиться на сайте. Итак, испытательные лаборатории в добровольном порядке могут получить признание соответствия принципам GLP в Росаккредитации, что может указывать на исполнение Федерального закона от 22.12.2014 №429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». Очевидно, информация о результатах инспекций Росаккредитации может быть использована Минздравом при оценке результатов доклинических исследований с целью принятия решения о регистрации лекарственных средств или о выдаче разрешения на проведение клинических исследований.

Третьим документом, которым Росздравнадзор руководствуется при проведении проверок организаций, выполняющих доклинические исследования, является приказ Министерства здравоохранения и социального развития от 23.08.2010 №708н «Об утверждении правил лабораторной практики». Однако в этом приказе имеется ряд положений, которые вызывают вопросы, например, термином «протокол» обозначены документы, которые несут разные функциональные значения. В пункте 6

приказа записано: «Доклинические исследования проводятся по утвержденному плану с ведением протокола. В протоколе фиксируются действия, связанные с выполнением процедур, осуществляемые в соответствии с утвержденным планом». В данном случае под термином «протокол» подразумевается документ, в котором фиксируются первичные данные. В пункте 13 этого же приказа звучит: «Ответственный исполнитель организует и контролирует:

а) проведение исследования в соответствии с утвержденным планом;

б) выбор соисполнителей в соответствии с протоколом доклинического исследования;

в) оформление протокола доклинического исследования, изменений к нему».

В этом контексте термином «протокол» обозначен документ, который называют план исследования. Таким образом, можно констатировать, что термин «протокол» в приказе употреблен не корректно.

Следует также отметить, что в пункте 12 приказа записано, что «руководитель организации согласовывает план доклинического исследования, организует работу по его выполнению, назначает ответственного исполнителя». Согласно GLP (ГОСТ Р 53434-2009) руководитель организации не согласовывает план доклинического исследования, а утверждает его. Руководитель организации назначает на каждое исследование руководителя, который организует работу по его выполнению, осуществляет общее руководство проведением исследования, а также отвечает за подготовку отчета. Ответственный исполнитель по GLP назначается только в случае проведения исследования на нескольких площадках, и действует он от имени руководителя исследования. Резюмируя информацию о приказе, можно заключить, что некоторые его положения не соответствуют принципам GLP, а соответственно Федеральному закону от 22.12.2014 №429-ФЗ. Выход из данного положения очевиден, приказ Минздравсоцразвития от 23.08.2010 №708н требует коррекции.

ИЗУЧЕНИЕ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ КАК БИОЛОГИЧЕСКОГО АНТИДОТА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТРАВЛЕНИЯ ФОС НА МЫШАХ-НОКАУТАХ

В.А.Паликов², Ю.А.Паликова², И.В.Смирнов³, И.А.Дьяченко¹, А.Н.Мурашев¹

¹ – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Филиал Института биорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, г. Пущино.

² – Государственное бюджетное образовательное учреждение Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград.

³ – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва.

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, 200 000 человек ежегодно умирают в развивающихся странах в результате отравления фосфорорганическими соединениями (ФОС). Бутирилхолинэстераза (БухЭ) обладает способностью стехиометрически связывать токсины, ингибирующие ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Это делает человеческую БухЭ очень актуальным предметом для изучения в качестве биологической ловушки при отравлениях фосфорорганическими соединениями. ФОС являются необратимыми ингибиторами холинэстераз, ацетилхолинэстеразы, и бутирилхолинэстеразы. АХЭ играет главную роль в холинергической системе, завершая действие ацетилхолина. Основной причиной острой токсичности ФОС является необратимое ингибирование АХЭ.

В отличие от плазмы мышей, плазма крови человека не содержит карбоксилэстеразы которая является важным эндогенным ферментом, участвующим в детоксикации ФОС.

В биомодели в качестве ФОС был использован параоксон. Для того, чтобы максимально снизить фоновую активность эндогенной карбоксилэстеразы у мышей-нокаутов по гену бутирилхолинэстеразы (Vche-ko), был использован ингибитор крезилбензодиафосфориноксид (CBDP) в дозе 1,5 мг/кг, который полностью подавлял действие данного фермента.

Исследование условно было разделено на 2 этапа:

На первом этапе группам мышей подкожно был введен блокатор CBDP, после чего через 30 минут внутривенно вводился параоксон 0,4; 0,5 и 0,55 мг/кг. Так же проводился клинический осмотр состояния для выживших животных.

По результатам первого этапа были выбраны две дозы параоксона 0,55 и 0,5 мг/кг, в соответствие с которыми погибало 100% и 50% животных. Подкожно был введен блокатор CBDP, затем через 15 минут мыши внутривенно получали БухЭ, после чего внутривенно вводился параоксон.

Результаты. При введении БухЭ мышам, по-

лучавшим летальную дозу параоксона 0,55 мг/кг наблюдали 80% выживаемость мышей-нокаутот *Vche-ko*, а при введение параоксона в дозе 0,5 мг/кг — выживало 100% животных.

Таким образом, проведено исследование протективной активности бутирилхолинэстеразы при отравлении параоксоном на *in vivo* моделях. Показана высокая активность БУХЭ.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИПЕПТИДНОГО АНАЛЬГЕТИКА, СЕЛЕКТИВНО ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩЕГО С ПУРИНЕРГИЧЕСКИМИ РЕЦЕПТОРАМИ

Паликова Ю.А.², Паликов В.А.², Андреев Я.А.³, Дьяченко И.А.¹, Мурашев А.Н.¹.

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, г. Пушино.

² — Государственное бюджетное образовательное учреждение Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград.

³ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва.

Восприятие боли — важная способность организма, позволяющая избегать раздражителей и минимизировать наносимый ему вред. Используемые в настоящее время анальгетики характеризуются рядом недостатков, и ведущие исследовательские коллективы и фармацевтические компании заняты разработкой новых болеутоляющих средств. Источником новых мощных анальгетиков могут служить природные яды. Из Среднеазиатского паука-волка исследователи базовой кафедры МФТИ и ИБХ РАН выделили пуротоксин (PT1) — пептид, ингибирующий один из важнейших подтипов болевых рецепторов человека.

Целью работы является изучение анальгетической активности рекомбинантного полипептида PT-1 на мышах CD-1. Анальгезирующее действие PT-1 мы проверяли с помощью теста гиперчувствительности, спровоцированной CFA. Группам животных в заднюю лапу субплантарно вводили смесь CFA (полного адьюванта Фрейда) с 0,9% NaCl (1:1). Через 21–24 часа после введения CFA эксперимен-

тальным животным внутривенно вводили PT-1 в дозах 2; 1; 0,1; 0,01; 0,001 мг/кг в соответствии с групповой принадлежностью, контрольным животным — 0,9% NaCl внутривенно. Через 15 минут и 24 часа проводили испытание порога болевой чувствительности.

Результаты: При внутривенном способе введения по результатам теста гиперчувствительности, спровоцированной CFA через 15 минут в дозах 0,01; 0,1 и 1 мг/кг были отмечены достоверные отличия между экспериментальными и контрольными группами. При тестировании через 24 часа достоверных отличий отмечено не было.

Таким образом, проведено исследование анальгетической активности PT-1 в тесте гиперчувствительности, спровоцированной CFA при внутривенном введении PT-1 в различных дозировках и тестированием в различные временные интервалы. Показана высокая фармакологическая активность PT-1 в различных дозировках и различных временных точках.

КРИТЕРИИ КАТЕГОРИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ У ВОДИТЕЛЕЙ

В.В. Попов^{1,2}, Ю.А. Исакова¹

¹ НУЗ «Научный клинический центр ОАО «РЖД», г. Москва,
² ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ

Одной из основных причин дорожно-транспортных происшествий является «человеческий фактор». На состояние водителя оказывают влияние множество экзогенных и эндогенных факторов, как например, возраст, переутомление, снижение бдительности, психоэмоциональный стресс, воздействие наркотических, психотропных веществ, алкоголя, хронические и острые заболевания, а также воздействие лекарственных препаратов. В помощь

практикующим врачам регулярно разрабатываются и обновляются категоризационные системы лекарственных средств (ограничительные списки) — базы данных лекарственных средств с указанием их классификационной группы, определённой на основании его особенностей по воздействию на важные для водителя качества. Установлено, что одно и то же лекарственное средство в разных категоризационных системах может относиться к разным группам «опас-

ности». Лекарственные средства могут ухудшать профессиональные качества водителей и лиц операторских профессий в результате проявления терапевтического эффекта или нежелательных реакций.

Целью данной работы была оценка критериев категоризации лекарственных средств с точки зрения безопасности их применения для лечения водителей и лиц операторских профессий посредством анализа процесса развития существующих в мировой практике категоризационных систем и методических подходов к их созданию. Была собрана информация о категоризационных списках лекарственных средств, а именно: обзорные статьи по теме (источник – информационная база данных Pubmed, Medline Cochrane databases), методические указания кафедры Железнодорожной медицины РАПС МИИТ (2011г.), существующие классификационные системы и регистры лекарственных средств по влиянию на функции и состояние водителей (DRUID, ICADTS, классификация кафедры железнодорожной медицины РАПС МИИТ (А.З. Цфасман и соавт., 2011г.), Wolschrijn, Belgian BLT/BIVV, Spanish DGT/UV, semFYC/UV, French GERMT, официальная французская классификация, Portuguese INFARMED, German Rote Liste, официальный греческий перечень лекарственных средств, запрещённых к применению у водителей, Greek NOM list, Dutch RDSAP list, Norwegian Catalogue, Finnish and Danish lists). В ходе работы были проанализированы критерии катего-

ризации лекарственных средств по уровню опасности для водителей, использованные в различных категоризационных системах мира. Показано, что в РФ существует классификационная система лекарственных средств по влиянию на профессионально значимые функции только в рамках ведомственной железнодорожной медицины.

По итогам оценки определено, что наиболее актуальным и комплексным методологическим подходом обладает категоризационная система, созданная по результатам европейского проекта DRUID (Driving under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines, <http://www.druid-project.eu/>, 2011), согласно которому при оценке категории «опасности» лекарственного средства интегрируется и учитывается следующая информация:

Фармакологические свойства.

Результаты рандомизированных клинических исследований, а также экспериментальных и эпидемиологических исследований.

Данные мониторинга безопасности клинического применения.

Таким образом, наряду с общей клинической оценкой нежелательных эффектов фармакотерапии, крайне важным является оценка воздействия лекарственных средств на профессионально значимые качества водителей и лиц операторских профессий. Для РФ необходимым является внедрение в широкую медицинскую практику отечественных разработок и европейского опыта (DRUID).

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХСЯ ПЕЧЕНЬЮ, В СИСТЕМЕ *IN VITRO* С ИМИТАЦИЕЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ

Пулькова Н.В.¹, Зырина А.Н.¹, Тоневницкая С.А.², Сахаров Д.А.¹
¹ООО НТЦ «БиоКлиникум», ²МГТУ «МАМИ»

Доклинические исследования токсичности лекарственных средств проводятся с использованием лабораторных животных, что вследствие видовой специфичности примерно в 20% случаев становится причиной непрохождения I стадии их клинических испытаний. Альтернативой являются исследования с использованием клеточных моделей органов и тканей человека, культивированных в специальных устройствах, микробиореакторах, обеспечивающих замкнутую циркуляцию питательной среды, имитируя тем самым *in vivo* условия. Известно, что многие лекарственные средства оказывают гепатотоксическое действие, в тоже время вследствие биотрансформации в клетках печени они могут образовывать цитотоксичные метаболиты. В настоящее время известно, что наибольшее сходство с нормальными гепатоцитами имеют дифференцированные клетки линии НераRG. При культивировании клеток в

виде сфероидов они принимают форму и образуют межклеточные контакты, характерные для клеток печени человека в составе органа.

В работе методом «висячая капля» с последующим культивированием в планшете с низкой адгезией получали сфероиды диаметром 200 мкм, состоящие из 5000 дифференцированных клеток НераRG, при этом некротические клетки в составе сфероида не отмечались. Структурную целостность трехмерной модели в составе с функционально активными клетками печени выявляли при иммуноцитохимическом окрашивании на ZO-1 (формирование плотных контактов между клетками), F-актин (строение цитоскелета), MRP2 (транспортер лекарственных средств, локализующийся в апикальной части гепатоцитов), CYP3A4 (цитохром P450 3A4, важнейший фермент I фазы метаболизма ксенобиотиков) и CK19 (цитокератин 19, структурный

белок холангиоцитов). Интересно, что в отличие от двумерной культуры (2D) дифференцированных клеток НераRG-органотипическая трехмерная (3D) клеточная модель эффективнее воспроизводила функции печени. Так, выявили, что при культивировании в виде сфероидов клетки НераRG в значительной степени выделяли альбумин и глюкозу в питательную среду в отличие от 2D модели.

При культивировании сфероидов дифференцированных клеток НераRG, в биореакторе «Гомункулус», разработанном в ООО НТЦ «БиоКлиникум», с использованием ПЦР в режиме реального времени, выявили, что культивирование в условиях заданного значения работы микронасоса (3 Гц, ± 10 кПа) приводило к увеличению уровня экспрессии мРНК генов, кодирующих белки метаболизма лекарственных средств (*CYP2B6, CYP2E1, MDR1, MRP2*). Более того, выявили цитотоксические эффекты действия циклофосфида с учетом процесса его биотрансформации в клетках печени путем проведения совместного

культивирования кератиноцитов человека линии HaCat3D моделью НераRG. Так, при культивировании в условиях биореактора в течение 48 ч с клетками печени в питательной бессывороточной среде универсального состава, содержащей 3,6 мМ циклофосфида (IC 10 для 3DНераRG при культивировании в стандартной питательной среде), жизнеспособность культуры клеток HaCat уменьшилась на 40% по сравнению с культивированием без сфероидов дифференцированных клеток НераRG (цитотоксический тест с нейтральным красным).

Таким образом, культивирование в условиях биореактора с имитацией микроциркуляции питательной среды может являться перспективной моделью для *in vitro* оценки токсичности лекарственных средств с учетом их метаболизма в клетках печени.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (Соглашение о предоставлении субсидий № 14.579.21.0018).

ИСТОРИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И ХРОНОБИОЛОГИЯ

Ревазова Ю.А.

ФБУН ФНЦГ им. Ф.Ф.Эрисмана, г. Москва

Известно, что в токсикологических экспериментах непременно наряду с опытными группами животных используют параллельно идущий контроль. Известно также, что наблюдаются колебания всех биохимических, гематологических, весовых и других показателей в течение экспериментов, особенно длительных. Так называемые нормативные границы созданы в результате анализа длительных наблюдений и они характерны и специфичны для разных видов животных, линий животных, возрастов и т.д. Это в полной мере относится и к микробным, культуральным и тканевым объектам, используемым *in vitro*. Подобные колебания характерны и для таких жестких нормативных критериев как частота спонтанных мутаций на различных биологических объектах. Так, частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах здорового человека составляет от 1% до 2,5%, но за последние десятилетия эта величина претерпела изменения и в некоторых исследованиях достигала 4% у людей, никак не связанных с профессиональными или средовыми рисками. В генетических экспериментах определенный объем анализируемого материала напрямую зависит от спонтанной частоты фиксируемых событий. Неслучайно в тесте Эймса Салмонелла/микросомы проводят 2-3 повторности и ставят по 2-3 чашки на каждую концентрацию изучаемого вещества. Поэтому в стандартные протоколы обязательно включается строго регламентированное количество элементов анализа.

Понятие исторического контроля было введено очень давно. Принятие решений о наличии/отсутствии реакций на введение вещества определяется, как правило, статистически значимыми различиями от параллельно идущего контроля. Но в ряде случаев авторы исследования при условии наличия слабых эффектов (но статистически значимых) апеллируют к историческому контролю, существующему в данной лаборатории. Далеко не всегда можно с определенностью судить о причинах более высоких уровней анализируемых показателей в контрольных группах при стандартных условиях содержания животных в виварии (корма, показатели температуры и влажности, световой режим и пр.) и, конечно, на тех же линиях животных или культуральных/тканевых субстратах (*in vitro*). Корректный вывод может быть сделан при условии проведения повторного опыта. В нашей лаборатории в течение одного года было проведено 6 экспериментов в доминантном летальном тесте на мышах по выявлению потенциальной мутагенности культурального препарата жень-шеня, причем в двух опытах мы получили слабый эффект, а в 4-х – нет. Анализ всех данных позволил сделать заключение об отсутствии генетической активности изучаемого препарата на основе понятия «ложно-положительного ответа» и выбора наиболее значимых критериев в ДЛТ – постимплантационной гибели и числа мертвых эмбрионов на самку. Попытку связать колеба-

ния контрольных данных с хронобиологическими параметрами мы реализовали на тесте Эймса следующим образом. Был проведен 30-дневный эксперимент по изучению уровня спонтанных мутаций на двух штаммах салмонеллы с ежедневной постановкой в час восхода луны без добавления мутагенов по стандартному протоколу. Колебания частоты спонтанных обратных мутаций достигали трехкратного уровня, причем наивысшие показатели совпали с полнолунием. К сожалению, хронобиологические

опыты в генетической токсикологии единичны и поэтому выяснить причину колебаний показателей спонтанного мутационного процесса, помимо действия факторов окружающей среды, и связать эти причины с иными воздействиями трудно. Крайне желательными представляются совместные работы токсикологов любых специальностей и хронобиологов для выяснения причин нестабильности основных показателей медико-биологического статуса лабораторных объектов.

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ТРАВЫ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ

Рыбакова Е.Д.¹, Теселкин Ю.О.², Павлова Л.А.¹

¹ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва.

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

Введение: Лекарственные растения всегда вызвали большой интерес, обусловленный тем, что, как правило, они обладают мягким фармакологическим действием, высокой безопасностью, низкой токсичностью. Опыт применения лекарственных растений в традиционной практике народного целительства Сибири и Дальнего Востока послужил поводом для активного изучения растений, традиционно применяемых в народной медицине Республики Тыва, на примере караганы гривастой (*Saragana jubata* Lam.). Это своеобразный по внешнему облику кустарник семейства бобовых. Содержит в своем составе такие группы веществ, как: флавоноиды, дубильные вещества, органические кислоты, сапонины, кумарины, стерины, сахара, эфирные масла. В народной медицине отвары корней и ветвей караганы гривастой применяют при широком спектре заболеваний. Таким образом, для внедрения в официальную медицину нового лекарственного сырья необходимо учесть один из моментов в изучении перспективных растений – это оценка безопасности.

Цель: В перспективе создания лекарственного растительного препарата с актопротекторным действием изучить антиоксидантную активность (АОА) и, на основе ранее полученных данных о химическом составе травы, оценить безопасность сырья трава караганы гривастой.

Материалы и методы: В качестве модельной системы была использована система, в которой

реакции свободнорадикального окисления люминола индуцировали добавлением 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП). За процессом окисления люминола наблюдали с помощью регистрации хемилюминесценции. Обнаружено, что введение водных извлечений из исследуемых растений в систему АБАП-люминол приводило к ингибированию хемилюминесценции люминола и появлению латентного периода, длительность которого была прямо пропорциональна количеству добавленного образца. АОА водных извлечений из растительного сырья выражали в виде количества молей тролокса на 1 г сухого вещества сырья («тролоксовый эквивалент» АОА). Измерение ХЛ люминола проводили на хемилюминометре ХЛМ-3 (ОАО «Бикап», Москва) при постоянном перемешивании и температуре 37°C.

Результаты исследования обработаны методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента и представлены как средняя величина ± стандартная ошибка средней ($M \pm m$).

Результаты: Полученные результаты АОА исследуемого растительного сырья, собранного в высокогорных районах Республики Тывы, обработаны в соответствии с полученными данными. На основе полученных данных исследования проведена оценка безопасности сырья.

Выводы: *Saragana jubata* – перспективный источник лекарственного растительного сырья, однако для внедрения в официальную медицинскую практику предстоит большой объем работы.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ЭТИЛОВОГО ЭФИРА КРЕАТИНИЛГЛИЦИНА – КАНДИДАТА В ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

*Саватеева-Любимова Т.Н.¹, Сивак К.В.¹, Веселкина О.С.²
ФГБУН ИТ ФМБА России¹, ЗАО «ВЕРТЕКС», Санкт-Петербург²*

Известно, что нежелательные эффекты новых лекарственных средств, регистрируемые в доклинических исследованиях безопасности, могут быть обусловлены как собственно фармакодинамическими свойствами изучаемого соединения, так зависеть от дозы и длительности введения («лекарственная нагрузка»). Рациональный выбор подходов к изучению первичной фармакодинамики нового вещества характеризует его специфическую фармакологическую активность в условиях экспериментальных моделей, воспроизводящих болезни человека, раскрывает возможные механизмы развития лечебного эффекта и лежит в основе вычленения первичного и вторичного побочных действий при изучении фармакологической безопасности. Как известно, первичное побочное действие обусловлено прямым воздействием вещества на органы и ткани – мишени, а вторичное не связано с терапевтическим эффектом.

На примере кандидата в ЛС для лечения ишемического инсульта – этилового эфира креатинилглицина (ЭЭКГ), предназначенного для лечения ишемического инсульта, в доклинических исследованиях были изучены первичная фармакодинамика и фармакологическая безопасность ЭЭКГ при внутривенном болюсном введении крысам и кроликам обоего пола в течение 14-ти дней.

Эффективность ЭЭКГ была исследована в моделях фокальной ишемии мозга и коронароокклюзивного инфаркта миокарда на крысах, находящихся в состоянии наркоза тиопенталом натрия. Фокальную ишемию мозга моделировали методом эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии. После эвтаназии животных, на стандартных фронтальных разрезах головного мозга, инкубированных в 0,1% растворе трифенилтетразолия хлорида, оценивали площадь повреждения. Методом иммуноцитохимической реакции на ядерный белок NeuN подсчитывали количество неповрежденных нейронов. Для моделирования ишемии-реперфузии миокарда у животных формировали окклюзию левой коронарной артерии с созданием реперфузии в противоположном направлении. Оценка размеров анатомической зоны риска и зоны инфаркта проводили с помощью «двойного окрашивания» синим Эванса и трифенилтетразолия хлоридом.

Данные, полученные при изучении первичной фармакодинамики ЭЭКГ, показали, что последний обладает высокой эффективностью на модели фо-

кальной ишемии мозга, достоверно повышая выживаемость нейронов и снижая площадь повреждения левого полушария в области стриатума и коры мозга. В условиях экспериментального инфаркта миокарда выявлено наличие инфаркт-лимитирующего действия, характеризовавшегося снижением размера анатомических зон некроза и риска.

Учитывая то, что в патогенезе инфаркта мозга существенную роль играет активация тромбоцитов (повышение их способности к адгезии и агрегации), оценивали влияние соединения на систему гемостаза: агрегационную активность тромбоцитов цельной крови (в качестве индуктора агрегации использовали раствор динатриевой соли аденозиндифосфата (АДФ), Мм.427,2 «Reanal», Венгрия, в физиологическом растворе в конечной концентрации в пробе $2,55 \cdot 10^{-4}$) и спонтанную фибринолитическую активность в эуглобулиновой фракции плазмы. Результаты исследования продемонстрировали наличие достоверного тормозящего действия изучаемого соединения на АДФ-индуцируемую агрегацию тромбоцитов и ускорение спонтанного фибринолиза. Учитывая, что в эуглобулиновой фракции плазмы наиболее мобильным компонентом является t-РА-тканевой активатор плазминогена, можно предположить, что после введения ЭЭКГ креатинилглицина происходит активация эндотелия и выброс t-РА в просвет сосудов.

При изучении фармакологической безопасности этилового эфира креатинилглицина были выявлены следующие неблагоприятные фармакодинамические эффекты: относительный лейкоцитоз, наряду с моноцитопенией и тромбоцитопенией, а также невыраженное гепатотоксическое действие, заключающееся в повышении активности «печеночных» ферментов. При этом, учитывая данные вторичной фармакодинамики, можно считать, что если изменения со стороны белой крови и функциональной активности печени были обусловлены «лекарственной нагрузкой», то снижение уровня тромбоцитов – специфическим фармакологическим действием соединения.

Таким образом, данные, полученные при изучении фармакодинамики новых лекарственных средств с учетом процессов, лежащих в основе терапевтического эффекта, как раскрывают возможные механизмы «побочного действия», связанные с воздействием на ткани-мишени, так и позволяют дифференцировать их с другими выявленными нежелательными эффектами.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЗЮЗНИКА ЭКСТРАКТА СУХОГО НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ КРЫС

Савинова Т.Б., Крепкова Л.В.
ФГБНУ «ВИЛАР», г. Москва

Распространенность заболеваемости щитовидной железой растет с каждым годом, поэтому профилактика и лечение указанной патологии является актуальной задачей медицины. В настоящее время накоплен достаточно большой опыт в лечении болезней щитовидной железы с помощью медикаментозных препаратов (гормоны, тиреостатики). Однако в последние годы значительный интерес для исследований представляют лекарственные растения, содержащие **биологически активные вещества, проявляющие тиреотропную активность**. К таким растениям относится зюзник европейский – *Lycopus europaeus* L. (от греч. *lycos* – волк и *pus* – нога), многолетнее травянистое растение из семейства губоцветных – *Lamiaceae (Labiatae)*, из травы которого во ВНИИ лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР) получен экстракт сухой, обладающий выраженным тиреостатическим эффектом. Целью настоящего исследования явилось доклиническое изучение репродуктивной токсичности Зюзника экстракта сухого. Исследование проведено по стандартной схеме, включающей изучение эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемых в антенатальном и постнатальном периоде развития, а также изучение влияния на генеративную функцию животных. В результате проведенных исследований были получены следующие результаты: при изучении влияния Зюзника на развитие плодов в антенатальном периоде установлено, что введение Зюзника в дозах 50, 250 и 750 мг/кг в желудок беременным крысам с 1-го по 19-й день беременности не нарушало прирост их массы тела по сравнению с контролем, а также не вызывало увеличения внутриутробной гибели 20-дневных эмбрионов и не влияло на их массу тела и краниокаудальный размер. Анализ состояния внутренних органов эмбрионов показал, что в опытных и контрольной группах отмечали однотипные аномалии (кровоизлияния в брюшную и грудную полости, под кожу), процент которых не превышал спонтанного уровня в контроле. Изучение костной системы плодов методом Доусона выявило увеличение количества плодов с уменьшением центров окостенения грудины и укорочением, частичным окостенением и искривлением ребер, по сравнению с контролем, у потомства, подвергнувшегося воздействию изучаемого экстракта в максимальной дозе 750 мг/кг.

При исследовании влияния Зюзника экстракта сухого на постнатальное развитие потомства было установлено, что в испытанных дозах 50, 250 и 750 мг/кг препарат не влиял на продолжительность

беременности крыс, количество новорожденных крысят в помете, массу их тела и смертность на протяжении 21 дня жизни, физическое развитие и формирование у них сенсорно-двигательных рефлексов и эмоционально-двигательное поведение. Необходимо отметить, что при патоморфологическом исследовании внутренних органов 30-дневных крысят установлено, что введение Зюзника в антенатальном периоде развития в дозе 750 мг/кг, вызывало у них явную гипотрофию и гипофункцию щитовидной железы, а также общетоксический эффект в виде дистрофии гепатоцитов и компенсаторной гипертрофии отдельных канальцев печени.

Проведенное исследование генеративной функции показало, что при введении Зюзника во всех испытанных дозах крысам обоего пола до спаривания с интактными животными, оплодотворяющая способность и способность к зачатию не снижались. Эмбриональная смертность, также была на уровне контроля. Родившиеся крысята по критериям физического развития и скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов не отличались от контрольного потомства. При патоморфологическом исследовании установлено, что введение Зюзника экстракта сухого самкам в течение 15 дней и самцам в течение 60 дней до спаривания в дозах 250 и 750 мг/кг вызывает гипотрофию щитовидной железы, проявляющуюся уплощением тиреоидного эпителия, плотностью и неравномерностью коллоида и клеточной инфильтрацией в строме. При этом не установлено токсического действия на репродуктивные органы. У потомства, родившегося от самок, получавших до спаривания Зюзника экстракт в указанных дозах, также наблюдалось снижение функции щитовидной железы, в то время как у потомства, родившихся от спаривания самцов, получавших исследуемый экстракт в обеих дозах, с интактными самками, не выявлено подобного действия.

Таким образом, в связи с выявленным замедлением скорости окостенения у плодов, полученных от самок, которым в течение беременности вводили препарат в максимальной испытанной дозе 750 мг/кг, а также установленной гипотрофией и гипофункцией щитовидной железы у 30-дневного потомства, не следует принимать исследуемый препарат (Зюзника экстракт сухой) во время беременности.

Несмотря на снижение функции щитовидной железы, выявленную у крыс-самок и крыс-самцов, получавших до спаривания Зюзника экстракт сухой в дозах 250 и 750 мг/кг, не установлено влияния препарата на генеративную функцию подопытных животных.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА НАСТОЙКИ МАТРИЧНОЙ ГОМЕОПАТИЧЕСКОЙ ПИЖМЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И ТОКСИЧНОСТИ ГОМЕОПАТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ЕЕ ОСНОВЕ

*Самылина И.А., Стреляева А.В., АльДжомма Р.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва*

Пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare*), семейство астровые (*Asteraceae*) – широко известное лекарственное растение, которое применяется как в академической медицине, так и в гомеопатии. В ГФХ1 издания приводится стандартизация сырья – цветков пижмы, которые могут быть использованы для получения водного извлечения и препарата танацехол. В гомеопатии предлагается использовать препарат *Tanacetum vulgare*, обладающий противопаразитарными свойствами.

Целью работы явилось изучение методом хромато-масс-спектрометрии химического состава настойки матричной гомеопатической и токсичности гранул гомеопатических, полученных на ее основе.

Хромато-масс-спектрометрическое исследование проводили на приборе фирмы Agilent Technologies, состоящем из: 1) газового хроматографа 7890 (колонка HP-5, 50 м x 320 мкм x 1.05 мкм) и 2) масс-селективного детектора 5975 С с квадрупольным масс-анализатором; хроматограмма образцов – по полному ионному току; программное обеспечение – ChemStation E 02.00. Идентификацию компонентного состава (качественный анализ) проводили по библиотеке полных масс-спектров NIST-05 и соответствующим значениям хроматографических индексов Ковача. Относительное содержание компонентов смеси (количественный анализ) определяли вычислением соотношения площадей хроматографических пиков (методом простой нормировки). Острую и хроническую токсичность определяли на

белых линейных мышах по методикам рекомендованным Фармкомитетом МЗ России.

В настойке матричной гомеопатической было идентифицировано более 50 соединений. Наиболее важные соединения: ол 4-(2,2-Dimethyl-6-methylenecyclohexyl)butanal, 12-Methyl-E,E-2,13-octadecadien-1-ol, 1-Heptatriacotanol, Isoaromadendrene epoxide, Caryophyllene, α -Cubebene, 2-Methylenecholestan-3-ol, 7-Ethynyl-1,4a-dimethyl-4a,5,6,7,8,8a-hexahydro-2(1H)-naphthalenone, ζ -Selinene, Limonen-6-ol, pivalate Formic acid, 3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-yl ester, Spathulenol, 3,9-Epoxy-p-mentha-1,8(10)-diene Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester, Ascaridole epoxide, Dihomo- ζ -linolenic acid, (-)-Myrtenyl acetate, D-Limonene Phenol, 2-methoxy-6-(2-propenyl n-Decanoic acid, Cubenol и ряд других.

По методикам «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – 827с.» на 20 белых мышах была изучена хроническая токсичность гранул гомеопатических. 10 мышей составили контрольную группу. 10 мышей получали гранулы гомеопатические в течение 30 дней. Гранулы предварительно растворялись в воде и проводилась динамизация по Никитину. Препарат вводился внутривентрикулярно. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество воды. Гомеопатический препарат не обладает токсичностью и побочным действием.

ИЗУЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ 11-ДЕЗОКСИМИЗОПРОСТОЛА

*Сапожникова Т.А.¹, Габдрахманова С.Ф.¹, Макара Н.С.¹, Хисамутдинова Р.Ю.¹, Иванова Н.А.¹, Зарудий А.Ф.¹, Мифтахов М.С.¹, Катаева Р.М.², Азлетдинов Э.Ф.²
¹ФГБУН Уфимский институт химии РАН (450054, г. Уфа)
²ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Уфа*

В акушерско-гинекологической практике высоко востребованы методы медикаментозного прерывания беременности по различным показаниям вследствие их большей безопасности, эффективности и доступности по сравнению с хирургическими. В настоящее время импортный препарат мизопропрост (Китай) является практически единственным препаратом, широко применяемым для проведения медикаментозного аборта. Несмотря

на эффективность, мизопропрост имеет и ряд побочных эффектов [1].

11-Дезоксипроизводное мизопростола, 11-дезоксимизопропрост, синтезировано в лаборатории синтеза низкомолекулярных биорегуляторов УФИХ РАН. Доклинические исследования 11-дезоксимизопростола показали, что он проявляет утеротоническую активность в экспериментах *in vitro* [2] и абортивную активность в условиях *in vivo* [3], срав-

нимую с мизопростолом, и может стать новым отечественным препаратом, используемым для прерывания беременности наряду с мизопростолом. В связи с этим была изучена хроническая токсичность и кумулятивные свойства 11-дезоксимизопростола.

Исследование кумулятивных свойств 11-дезоксимизопростола и хронической токсичности 11-дезоксимизопростола выполнено в соответствии с рекомендациями [4].

Кумуляцию изучаемого соединения определяли методом субхронической токсичности по Lim R.K. (1961) на белых крысах – самках массой 180-200 граммов в возрасте 16-18 недель. Условия содержания и кормления согласно существующих стандартных нормативов и требований. 11-дезоксимизопростол в виде масляного раствора вводили внутривентрикулярно ежедневно в утренние часы (9-11 часов) в возрастающих дозах в течение 24 суток. Дозы рассчитывались исходя из предварительно определённой LD₅₀ у крыс – самок при внутривентрикулярном введении – 210,0 мг/кг массы.

Суммарная доза за 24 дня составила 8,24 LD₅₀.

Результаты эксперимента показали, что в течение 24 дней гибели животных не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии кумулятивных свойств у 11-дезоксимизопростола.

Исследования хронической токсичности выполнены на крысах, которым вводили ежедневно внутривентрикулярно 1/10 (группа 1) и 1/20 (группа 2) LD₅₀ 11-дезоксимизопростола. Каждая экспериментальная группа содержала по 12 животных обоего пола.

Согласно полученным данным, длительное введение соединения не оказывает значимого влияния на морфо-функциональные, биохимические параметры и физиологические процессы, а также интегральные показатели у лабораторных животных.

Таким образом, по результатам исследования хронической токсичности 11-дезоксимизопростол представляет интерес для дальнейшего изучения с целью создания перспективного лекарственного средства.

Работа выполнена в рамках госконтракта № 14.№08.12.0013.

Литература

1. В.В. Абрамченко, Медикаментозный аборт, ЭЛБИ-СПб, Санкт-Петербург, 130 с., (2005).
2. Габдрахманова С.Ф., Сапожникова Т.А., Басченко Н.Ж., Зарудий Ф.С., Иванова Н.А. Влияние аналога мизопростола – 11-дезоксимизопростола на сократительную активность матки крыс и его abortивные свойства Экспериментальная и клиническая фармакология, Т.73, №3, С.18-20. 2010.
3. Иванова Н.А., Сапожникова Т.А., Габдрахманова С.Ф. и др. Средство, представляющее собой этиловый эфир (±)-11,15-дидезокси-16-метил-16-гидроксипростагландин Е1, проявляющее утеротоническую активность. Патент на изобретение № 2394814 от 05.02.10 г.
4. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2013. – 944с.

БЕЗОПАСНОСТЬ ОДНОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭХИНОКОККОЗА ЛЕГКИХ У ВЗРОСЛЫХ ТРЕХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ: CUCURBITA PEPO, TANACETUM VULGARE, JUGLANS REGIA

*Свистунов А.А., Максимов М.Л., АльДжомма Р., Стреляева А.В., Шамсиев А.М., Шамсиев Ж.А., Чебышев Н.В., Садыков В.М., Рузыбаев С.А., Эгамбердыев Б.Н., Габченко А.К., Ашуров А.А., Вахидова А.М., Сапожников С.А.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва,
Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан*

В ранее опубликованных работах, доложенных на Московских международных конференциях (2014, 2015) сообщалось о наших исследованиях, посвященных гомеопатическому лечению эхинококкоза легких. Приводим продолжение этих исследований. Основой наших исследований послужили три лекарственных растения: грецкий орех (*Juglans regia* L.), тыква обыкновенная (*Cucurbita pepo* L.), пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.). Грецкий орех (*Juglans regia*) – лекарственное растение, которому посвящено более 10 тыс. литературных источников, отражающих использование его в народной медицине и ветеринарии. Применяется гомеопатический препарат югланс, изготовленный из листьев

грецкого ореха (Кент Л.Т., 1997). А.Г.Маленков и соавт. (1995) запатентовали препарат тодикамп, полученный из плодов грецкого ореха молочно-восковой спелости с помощью нефтяной фракции ленефр, представляющей собой часть нефти, выкипающей при температуре до 150⁰С. Еще до этого более 30 лет керосиновый экстракт зеленых плодов грецкого ореха успешно применялся в народной медицине для лечения радикулита, простатита, цирроза печени, иммунодефицита, опухолей (Кашницкий С., 1990).

В свое время нами из зеленых плодов грецкого ореха был создан аллопатический препарат чеблин-СК-1[1–5], который прошел в Узбекистане докли-

ническое испытание, возглавленное министром здравоохранения РУз, академиком Ф.Г. Назыровым. В эксперименте противоэхинококковая эффективность ЧСК-1 была установлена на поросятах и хлопковых крысах, зараженных эхинококками. Затем был выполнен эксперимент на 12 группах хлопковых крыс, в каждой группе по 7 животных. Крысы первой группы не заражались альвеолярным эхинококком. Животные 2-12 групп были заражены альвеолярным эхинококком по вышеописанной методике (Б.А. Астафьев и соавт., 2000). На животных второй группы была установлена 10-дневная длительность экспериментальной инвазии (ДЭИ) с определением массы паразитарных ларвоцист (ПЛ). Третья группа – контрольная, антигельминтики не вводились.

После определения ДЭИ хлопковым крысам четвертой группы в течение первой недели внутрижелудочно вводился ЧСК-1 в дозе 100 мг/кг, вторую неделю – 260 мг/кг и третью неделю – 340 мг/кг, крысам пятой группы в таких же дозах – тодикамп, шестой – СК-3, седьмой – СК-4, восьмой – СК-5, девятой – СК-6, десятой и одиннадцатой группам крыс вводились препараты сравнения: мебендазол – 10-й, албендазол – 11-й в течение трёх недель в возрастающих дозах (первую неделю 20 мг/кг, вторую неделю – 40 мг/кг, третью – 60 мг/кг). Крысам 12-й группы вводился очищенный керосин в дозах ЧСК и тодикампа. Животные были усыплены через 40 дней после заражения.

В этом же эксперименте индексы торможения роста паразитарных ларвоцист (ИТРПЛ) для ЧСК оказались следующими: ИТРПЛ-1 – 87,88%, ИТРПЛ-2 – 91,13%, ИТРПЛ-3 – 92,81%, для тодикампа соответственно 86,96; 90,56; 91,56%; для СК-3 – 83,27; 87,70; 86,25%; для СК-4 – 49,27; 66,66; 65,52%; для СК-5 – 67,06; 80,61; 67,50%; для СК-6 – 82,35; 79,21; 71,56%; для албендазола – 47,3; 74,33; 60,0%; для мебендазола – 65,35; 79,21; 71,56%; для экстрагента – 40,05; 47,33; 50,94%. Самая высокая противоэхинококковая активность из числа испытываемых агентов установлена у ЧСК-1, тодикампа и СК-3. Хороший результат получен академиком Ф.Г. Назыровым, профессорами: Б.С. Турсуновым, Б.У. Сабировым при лечении эхинококкоза больных препаратом чеблин-СК-1. Но оказалось, что более половины больных отказывались пить чеблин-СК-1 из-за неприятного вкуса экстрагента.

49 больных эхинококкозом легких пролечены гомеопатическим препаратом *Cucurbita pepo* С6 в течение 35 дней. Четыре крупки препарата гомеопатического растворяли в 100 мл кипяченной охлажденной до комнатной температуры воде в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А. Никитину. Препарат готовился каждый день, в этот же день использовался по авторской

методике. Побочного действия гомеопатического препарата не отмечалось. Хороший противоэхинококковый результат отмечен у 25 (51,02%), удовлетворительный – у 15 (30,61%), неудовлетворительный – у 9 (18,37%). Таким образом, при химиотерапии эхинококкоза легких у взрослых больных эффективным препаратом оказался гомеопатический препарат *Cucurbita pepo* С6.

57 взрослых больных эхинококкозом легких пролечены тремя гомеопатическими препаратами: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6. в течение 35 дней. Мы использовали гранулы гомеопатические, купленные в аптеках города Москвы. Четыре гранулы каждого препарата растворяли в 150 мл кипяченной охлажденной до комнатной температуры воде в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А. Никитину, вращением 50 раз вправо, 50 раз влево. Далее применялись по описанной нами схеме. Хороший противоэхинококковый результат отмечен у 36-ти (63,15%), удовлетворительный – у 12-ти (21,05%), неудовлетворительный – у 9-ти (15,80%). Таким образом, применение одновременно трех гомеопатических препаратов повысило хороший противоэхинококковый эффект более чем на 12%, если при применении только одного гомеопатического препарата *Cucurbita pepo* С6 хороший результат противоэхинококкового лечения был равен 51,02%, при использовании трех препаратов он повысился до 63,15%. Побочное и токсическое действие применения трех препаратов тщательным исследованием исключено.

Литература

1. Гостищев В.К., Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Садыков В.М., Погосов А.Г., Лось Д.П. Способ коррекции остаточной полости при эхинококкэктомии печени у взрослых. – Патент РФ № 2177743. – Бюл. 2001. – № 17.
2. Назыров Ф.Г., Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Маленков А.Г., Самылина И.А. и др. // Эхинококкоз органов брюшной полости и редких локализаций. Медицина. – М., 2004. – 520.
3. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Самылина И.А., Коваленко Ф.П. Способ получения средства для лечения ларвального и стробилярного эхинококкозов чеблин-СК-1 // Пат. РФ № 2136303. Бюл. – 1999. – № 25.
4. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Самылина И.А., Садыков В.М., Коваленко Т.Ф., Погосов А.Г. Способ получения препарата чеблин, обладающего противоаскаридным действием // Пат. РФ № 2136304. Бюл. – 1999. – № 25.
5. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Маленков А.Г., Исламбеков Э.С. и др. Эхинококкоз органов грудной полости // Медицина. – М., 2002. – 420 с.

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Семина Е.В., Климович П.С., Рубина К.А., Долгинкин А.О.
Факультет фундаментальной медицины, ФГБОУ МГУ им. М.В. Ломоносова

В соответствии с государственной программой «Развитие здравоохранения», утвержденной распоряжением Правительства РФ от 24 декабря 2012 года № 2511-р стратегическим приоритетом Росминздрава является разработка и внедрение в медицинскую практику методов регенеративной медицины. Доклинические исследования эффективности и безопасности комбинированного лекарственного препарата на основе невирусных конструкций, кодирующих факторы роста гепатоцитов и ангиопоэтина 1, для лечения ишемии нижних конечностей, проводимые МГУ им. М.В. Ломоносова, полностью соответствуют государственным приоритетам.

Заболевания, связанные с ишемией миокарда, головного мозга и нижних конечностей, в т.ч. при сахарном диабете относятся к наиболее значимым причинам смертности и инвалидизации населения. В последние годы отмечается рост заболеваемости инфарктом миокарда и ишемией конечностей, особенно среди лиц молодого и среднего возраста. Существующие хирургические методы применимы только для части больных, а существующие консервативные методы лечения неэффективны у значительной части тяжелых больных. В этой связи помимо медикаментозной терапии, эндоваскулярной и хирургической реваскуляризации активно ведутся разработки принципиально новых технологий. Их целью является индукция роста новых кровеносных сосудов и их стабилизация, и контроль траектории роста. Эта стратегия названа терапевтическим ангиогенезом и является одной из основополагающих технологий бурно развивающейся регенеративной медицины. В его основе лежит стимуляция роста и ремоделирования сосудов в ишемизированных тканях с помощью введения ангиогенных факторов, их генов или прогениторных клеток, способных продуцировать ангиогенные факторы и факторы роста или дифференцироваться в клетки сосудов. После введения в поврежденную ткань плазмидные конструкции экспрессируются в течение 2 недель, обеспечивая многократное повышение продукции трансгенов. В результате многочисленных клинических исследований эффективность моногенной терапии, т.е. препаратами на основе плазмидных или вирусных векторов с геном одного фактора роста, оказалась невысокой. Результаты III фазы клинических исследований генотерапевтического препарата на основе VEGF₁₆₅, показали его безопасность, но ста-

тистически значимый терапевтический эффект при лечении ишемии миокарда отсутствовал. Это обусловлено тем, что временное повышение в тканях продукции одного из факторов, инициирующих формирование кровеносных сосудов *de novo*, приводит к образованию незрелых сосудов, которые без стабилизации быстро регрессируют.

Преимуществом разрабатываемого нами препарата для стимуляции ангиогенеза является то, что он обеспечивает увеличение продукции сразу двух факторов роста в тканях, один из которых стимулирует формирование новых сосудов и оказывает антиапоптотическое действие, а второй стабилизирует новые сосуды. Результаты использования комбинированной генной терапии на моделях ишемии тканей у животных в нашей лаборатории, показывают её значительное преимущество в плане эффективности по сравнению с моногенной терапией.

Для оценки острой токсичности использована субстанция-раствор, содержащая две плазмиды, включающая гены HGF α и AGP α . Исследование проведено при однократном внутривенном и в/м способах введения на 120 мышцах линии Balb/c (самцы и самки) и 72 крысах Wistar (самцы и самки). Выбор указанных способов введения обусловлен тем, что один из них аналогичен способу введения в клинической практике (в/м введение). Определение показателей токсичности при однократном внутримышечном и внутривенном способах введения проведено с использованием двухэтапного метода (определение показателей ориентировочных средних смертельных доз (ЛД₅₀) методом Дейхмана и Лебланка и установление точных значений ЛД₁₀, ЛД₁₆, ЛД_{50±m} и ЛД₈₄ методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксона). В результате проведенных токсикологических исследований не удалось установить ориентировочных ЛД₅₀ ввиду низкой токсичности субстанции. Высшие из испытанных доз превосходили предполагаемую максимальную терапевтическую дозу для человека более, чем в 2100 и 1400 раз (для мышей и крыс, соответственно). При исследовании токсичности на втором этапе в развернутых экспериментах использована доза, в 1876 раз превышающая высшую суточную терапевтическую дозу для человека. Проведенные исследования показали, что введение субстанции в диапазоне испытанных доз (ограниченной максимально допустимыми объемами введения жидкости) при данных способах введения мышам

не вызывает гибели животных. Полученные данные свидетельствуют о низкой токсичности субстанции при однократном внутримышечном и внутрибрюшинном введении мышам линии Balb/c.

По результатам оценки острой токсичности установлено, что в диапазоне испытанных доз субстанция не вызывает признаков интоксикации и хорошо

переносится, на протяжении 14 дней наблюдения не зарегистрировано их гибели. Результаты проведенного токсикологического исследования свидетельствуют о её низкой токсичности (практически нетоксична). При этом не выявлено существенных видовых и половых различий мышей и крыс к токсическому действию субстанции.

ПРОФИЛИ ТОКСИЧНОСТИ РЯДА ПРОТИВОВИРУСНЫХ ХИМИОПРЕПАРАТОВ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Сивак К.В., Рассоха Т.А., Саватеева-Любимова Т.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «НИИ гриппа» Минздрава России

За последние 20 лет существенно возросла смертность населения от вирусных заболеваний во всем мире. В связи с быстрым распространением вирусных инфекций химиотерапия в клинической практике лечения инфекционных заболеваний играет ведущую роль. Разнообразие вирусных инфекций и их возбудителей приводит к необходимости синтеза этиотропных препаратов, направленных на отдельные группы вирусов. Следует обращать внимание также, что при создании новых противовирусных препаратов учитываются выработка резистентности штаммов некоторых вирусов к общепризнанным препаратам, доказательства их эффективности и безопасности. Токсикология противовирусных химиопрепаратов базируется на результатах выявления нежелательного (побочного) действия как в экспериментах в рамках доклинических исследований (ДКИ), так и в процессе оборота препаратов в клинической практике, клинических испытаниях новых лекарственных форм. Учитывая различия в физиологии грызунов и человека, побочное действие противовирусных препаратов не всегда совпадает. Установленные побочные эффекты противовирусных химиопрепаратов приводят в ряде случаев к изменению структуры и созданию новых и менее токсичных химиопрепаратов (например, из ацикловира валцикловира).

В рамках ДКИ тестирование безопасности ряда воспроизведенных противовирусных химиопрепаратов (МНН: адефовир, ацикловир, ганцикловир, зидовудин, индинавир, ламивудин, ставудин, ритонавир, рибавирин, тенофовир, цидофовир, фоскавир) установило развитие патологических изменений на фоне введения терапевтической (1ТД) и в 10 раз ее превышающей (10ТД) доз экспериментальным животным (крысы обоего пола). Изменения касались как показателей гематологического анализа, так и биохимического анализа крови, в ряде случаев отмечали патологию со стороны печени и почек. Антиретровирусные препараты адефовир, цидофовир, тенофовир, индинавир и препараты против вирусов семейства герпесвирусов

ацикловир, ганцикловир и фоскавир в дозе 10ТД оказывали токсическое действие на почки в виде патологии канальцевого эпителия, острого интерстициального нефрита, кристаллурической obstructивной нефропатии. У животных отмечали патологические изменения в общем клинико-биохимическом и в микроскопическом анализе мочи (в большей степени у самцов). С помощью поляризационной микроскопии выявляли в осадках мочи кристаллы характерной формы и размеров, идентифицированных в дальнейшем спектроскопическими методами как нативные химиопрепараты или их метаболиты. При ДКИ безопасности инъекционных и оральных форм ацикловира через 14 дней введения кристаллурию выявляли макроскопически в виде перламутровых чешуек в суточной моче животных. Показателями повреждения канальцевого эпителия и интерстиция являлись протеинурия и лейкоцитурия. При окраске осадков мочи выявляли эозинофилы и макрофаги. Реакция со стороны костного мозга характеризовалась выходом незрелых форм в периферическую кровь, тромбоцитопенией. Со стороны печени отмечали транзиторное изменение активности трансаминаз без признаков холестаза. В субхроническом эксперименте при изучении безопасности зидовудина (у животных, получавших препарат в максимальной дозе) выявлено только транзиторное повышение активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы. В аналогичном исследовании ламивудина выявлено гепатотоксическое, нефротоксическое и гематотоксическое действие в виде дозозависимого увеличения содержания глюкозы в крови и повышения активности аланинаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы. При введении ламивудина в дозе 10ТД у опытных животных наблюдалось также уменьшение концентрации общего белка в сыворотке крови, увеличение концентрации билирубина, повышение содержания мочевины и умеренное снижение уровня натрия. Половых различий не наблюдалось, выявленное гепатотоксическое дей-

ствие препаратов носило транзиторный характер. Изучение функциональной активности почек продемонстрировало, что введение ламивудина обусловило дозозависимое снижение объема диуреза, протеинурию, увеличение выделения с мочой глюкозы, кетонов и билирубина. Помимо выше перечисленного, было отмечено и снижение активной тубулярной секреции красителя фенолсульффта- леина.

Введение препарата ритонавир (таблетки) в максимальной дозе вызвало снижение белоксинтетической функции печени, гипогликемию, гипер- трансаминаземию и внутрипеченочный холестаз (достоверное снижение уровня белка и глюкозы, повышение активности трансаминаз и щелочной фосфатазы и уровня билирубина, а также содержания креатинина). Введение препарата ритонавир (капсулы) оказало однонаправленное токсическое действие на функциональное состояние печени, но носившее более выраженный характер. У животных, получавших препарат ритонавир (таблетки) в максимальной дозе, наблюдалось дозозависимое снижение общего количества лейкоцитов с нейтропенией, что может свидетельствовать об угнетении гранулоцитопоэза, а также снижение количества

эозинофилов. Также регистрировался высокий уровень нормобластов в периферической крови — до 45 на 100 лейкоцитов и выраженная полихромазия эритроцитов, наличие клеток цитолиза. В остальном, достоверных отличий между показателями контрольной и опытных групп не наблюдалось. Половых различий не выявлено. Введение препарата ритонавир (капсулы) оказало однонаправленное гематотоксическое действие, но носившее более выраженный характер.

На основании выявленных изменений мы создали биохимическую панель маркеров (альбумин, креатинин, АЛТ, АсАТ и ЩФ в крови; общий белок и креатинин в моче), устанавливаемую в биохимическом анализаторе, которая позволяет оценивать критические метаболические изменения в организме животных при исследовании безопасности противовирусных химиопрепаратов. Таким образом, при доклиническом тестировании безопасности ряда противовирусных химиопрепаратов следует обращать внимание на гематологические показатели, показатели функции органов детоксикации (печени и почек) и общего обмена. Оценивать зависимость от пола и обратимость выявленных нарушений гомеостаза.

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ НОВОЙ ПРОТИВОГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ «УНИФЛЮ»

*Степанова Л.А., Стосман К.И., Цыбалова Л.М.,
Потапчук М.В., Коротков А.В., Касьяненко М.А., Видяева И.Г.
ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России*

Создание вакцин нового поколения с широким спектром действия против вирусов гриппа различных субтипов (H1N1, H3N2, H2N2) является одной из приоритетных задач современного здравоохранения. В 2014 г. в ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России была создана, с использованием генно-инженерных технологий, оригинальная отечественная рекомбинантная вакцина широкого спектра действия против вирусов гриппа А — «Унифлю». Вакцина представляет собой рекомбинантный слитый белок, содержащий консенсусную последовательность эктодомена M2e вирусов гриппа А человека, встроенную в иммунодоминантную петлю корового антигена вируса гепатита В. Вакцина производится в стандартных организмах-продуцентах и обладает выраженной кросс-реактивностью в отношении вирусов гриппа человеческого происхождения. В России подобного рода гриппозные вакцины отсутствуют.

Изучение иммуногенности созданной вакцины и определение возможного повреждения иммунной системы при ее введении по схеме, соответствующей

клиническому применению, были проведены на линейных мышах (СВА, С57BL/6, Balb/c), беспородных крысах и морских свинках. Вакцину экспериментальным животным вводили двукратно внутримышечно с интервалом 2 недели в дозе 0,5 мл (1ТД) и в дозе, в 2 раза ее превышающей, 1 мл (2ТД) на особь.

В опытах на мышах была показана высокая иммуногенность рекомбинантного белка 4M2ehNBc. Иммунизация приводила к формированию специфического гуморального и клеточного ответа (формированию CD4 и CD8 клеток памяти), длительной циркуляции анти-M2e антител в крови (в течение 5 месяцев у мышей). Анти-M2e антитела к линейным эпитомам M2e, образующиеся после иммунизации мышей рекомбинантными белками, способны распознавать «нативный» M2e на поверхности клеток, инфицированных вирусами гриппа. Показана выраженная протективность рекомбинантных белков: 90-100% выживаемость при заражении летальной дозой вируса, усиление вирусного клиренса, широта защитного эффекта (эффектив-

ная защита от различных субтипов вирусов гриппа А человека: H1N1, H2N2, H3N2).

Оценка возможных иммунотоксических эффектов, развивающихся после применения вакцины, показала, что ее введение в дозе 1 ТД не привело к изменению изучаемых показателей: массовых коэффициентов (МК) и клеточности тимуса и селезенки, развитию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и продукции антител в ответ на иммунизацию эритроцитами барана, фагоцитарную и бактерицидную активность гранулоцитов, пролиферативную активность спленоцитов и неспецифическую резистентность. В то же время, со стороны селезенки, но не тимуса, у животных, иммунизированных вакциной в дозе 2 ТД, наблюдалось небольшое, но статистически значимое увеличение МК и числа ядросодержащих клеток. Выявленные изменения носили транзиторный характер: нормализация показателей происходила уже через 10 дней.

Возможные иммунотропные эффекты оценивали в индуктивную и продуктивную фазы антителогенеза на двух оппозитных линиях мышей. Введение гетерологичного антигена (эритроцитов барана) особям обеих линий, иммунизированных 1ТД, на всех сроках эксперимента, не повлияло на формирование антител. Вакцинация мышей линии СВА в дозе 2ТД в

индуктивной фазе антителогенеза привела к снижению общего титра иммуноглобулинов за счет уменьшения продукции IgG. У мышей линии С57BL/6 наблюдалась слабо выраженная тенденция к снижению изучаемых показателей. Продуктивная фаза характеризовалась нормализацией продукции антител плазматическими клетками, как у мышей высоко реагирующих, так и низкореагирующих линий. Вакцина не оказала влияния на развитие реакции ГЗТ, на пролиферативную активность спленоцитов, бактерицидную активность нейтрофилов, фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов, а также на неспецифическую резистентность организма.

Двукратная вакцинация не привела к развитию гиперчувствительности замедленного типа. Не выявлены аллергизирующие свойства вакцины в реакциях торможения миграции лейкоцитов в присутствии митогена конканавалина А, активной кожной анафилаксии, при постановке теста конъюнктивальная проба.

Таким образом, в рамках доклинических исследований была показана высокая иммуногенность и безопасность новой оригинальной отечественной гриппозной рекомбинантной вакцины для внутримышечного введения широкого спектра действия против вируса гриппа А человека – «Унифлю».

«ОСТАТОЧНЫЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ РАСТВОРИТЕЛИ» КАК СОВРЕМЕННЫЙ КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

*Терёшкина О.И., Петрыкина Е.А., Петухов А.Е., Раменская Г.В.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, г. Москва*

Сотрудниками лаборатории анализа и технологии отдела разработки лекарственных средств НИИ фармации проводятся исследования по стандартизации новых оригинальных лекарственных средств (ЛС): как активных фармацевтических субстанций (АФС), так и готовых лекарственных форм (ГЛФ). Исследования проводятся, как правило, по заказу российских компаний – разработчиков ЛС. В соответствии с требованиями ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения» и требованиями Государственной Фармакопеи РФ (ГФ РФ XII) показатель «Остаточные органические растворители» (ООР) является одним из обязательных современных критериев оценки качества активных фармацевтических субстанций. Нормирование данного вида примесей как значение их предельного допустимого содержания предусмотрено общей фармакопейной статьей «Определение остаточных органических растворителей» раздела «Испытание на предельное содержание примесей» ГФ РФ XII и основано на токсичности этих растворителей: характеристиках общей и специфической

токсичности. Однако, информации, включенной в данную фармакопейную статью, не всегда бывает достаточно, чтобы оценить безопасность лекарственного препарата с точки зрения содержания той или иной примеси органических растворителей. Для этой цели при проведении исследований по стандартизации ЛС приходится использовать и материалы монографий, включенных в Европейскую Фармакопею (EP) и Фармакопею США (USP). Исследования по стандартизации АФС по данному показателю включают: анализ перечня органических растворителей, используемых в производстве АФС выбор метода их определения, разработку методики определения и ее валидацию, а также анализ экспериментальных образцов субстанции по данному показателю. На основании анализа схем синтеза и описания технологий производства нами были определены перечни органических растворителей используемых в производстве, которые могли являться потенциальными примесями исследуемых АФС. В эти перечни вошли растворители 2 класса токсичности (пиридин, ацетонитрил и хлористый метилен)

и 3 класса токсичности (ацетон и этанол). В связи с природой примесей их определение предложено проводить методом газовой хроматографии с использованием масс-селективного детектора (метод хромато-масс-спектрометрии) в сравнении со стандартными образцами органических растворителей. Разработаны методики определения указанных ООР. Проведена валидация разработанных методик определения ООР в исследуемых субстанциях. В связи с отсутствием ОФС по валидации в действующем 12-м издании ГФ РФ, валидация методик проводилась в соответствии с отечественными руководствами по валидации, подготовленными авторами на основа-

нии действующих международных документов. В результате проведенных исследований установлено, что разработанные методики позволяют проводить определение вышеуказанных ООР в исследуемых субстанциях и соответствуют международным требованиям по параметрам специфичность, линейность, правильность, сходимость и воспроизводимость. Содержание ООР в исследуемых образцах АФС не превышало значений допустимых пределов. Проведенные исследования показали, что ОФС ГФ РФ XII «Остаточные органические растворители» нуждается в дальнейшей гармонизации подхода к оценке токсикологически значимых примесей ЛС.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕЧЕЛОВЕКООБРАЗНЫХ ПРИМАТОВ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПЕДИАТРИИ

*Тиханова А.Л., Енгалычева Г.Н., Сюбаев Р.Д., Васильев А.Н.
ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России*

Ключевым требованием к доклиническим исследованиям биотехнологических препаратов является использование релевантных видов животных, в качестве которых зачастую выступают нечеловекообразные приматы. Одна из основных

задач доклинической оценки безопасности препаратов, предназначенных для применения в педиатрии, состоит в выявлении нежелательного воздействия на процессы роста и развития организма. Стандартным объектом при проведении данного

Таблица 1

Соответствие стадий роста и развития жизненно-важных систем организма нечеловекообразных приматов и человека.

Стадии роста и развития	Соответствует человеку?	Комментарии
Продолжительность жизни	нет	Продолжительность жизни макак-крабоедов в неволе около 20 лет
Продолжительность беременности	нет	Средняя продолжительность беременности у макак-крабоедов составляет 160 дней [van Esch et al., 2008].
Скорость физического развития	нет	Макаки-резус развиваются в 4 раза быстрее, чем дети. Этот показатель наиболее часто используется при сравнении стадий развития [Beck et al., 2006].
Репродуктивная система	да	Развитие репродуктивной системы сопоставимо с человеком [Terasawa and Fernandez, 2001; Plant, 2006].
Иммунная система	да	Отмечено значительное сходство с развитием иммунной системы человека [Hendrickx et al., 2002; Buse et al., 2003; Buse, 2005; Burns-Naas et al., 2008; Weinbauer et al., 2008].
Дыхательная система	нет	У человека процесс формирования может занять до 2 лет. Легкие макак-крабоедов имеют полный комплект дыхательных путей и созревшие альвеолы уже при рождении [Zoetis and Hurr, 2003]. В связи с быстрым созреванием дыхательной системы неполовозрелые нечеловекообразные приматы не являются приемлемой моделью оценки влияния препарата на постнатальное развитие легких [Hislop et al., 1984].
Нервная система	частично	ЦНС макаки при рождении более развита, чем у новорожденного ребенка. Имеется значительное сходство динамики развития когнитивных способностей; также установлена схожесть постнатального формирования нейрореповеденческих реакций у макак и ребенка [Wood et al., 2003].
Сердце	да	Отмечено значительное сходство постнатального развития сердца у человека и макак [Hew and Keller, 2003].
Костная система	нет	У новорожденных макак костная система значительно более сформирована, чем у человека. Развитие костной системы 6- месячной макаки-крабоеда соответствует ребенку 7-8 лет [Niehoff MM, Weinbauer GF. 2008]. У новорожденных макак-резус кости конечностей соответствуют 5-6-летнему ребенку [Zoetis et al., 2003].

вида исследований являются неполовозрелые животные. Однако в отличие от грызунов, для которых накоплен значительный опыт исследований и интерпретации полученных результатов, нечеловекообразные приматы представляют собой относительно редко используемый и дорогостоящий экспериментальный объект. Имеются существенные различия динамики роста и развития отдельных систем организма человека и нечеловекообразных приматов. По этой причине формальное соответствие возраста экспериментальных животных возрасту человека, определяемое по соотношению продолжительности жизни, не гарантирует адекватности оценки влияния на органы и системы, являющиеся потенциальными мишенями токсического действия препарата.

В таблице 1, в качестве примера, приведены сведения, относящихся к общей характеристике различий, которые необходимо детально анализировать при планировании экспериментов на неполовозрелых животных и интерпретации результатов исследований. Немаловажная роль в оценке рациональности подобных исследований принадлежит также экономическим и этическим факторам.

Доклиническая оценка безопасности биотехнологических препаратов для педиатрии в экспериментах на нечеловекообразных приматах требуют тщательного обоснования программы исследования с учетом соответствия возраста животных стадии роста и развития органов и систем человека.

СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ 5-АМИНО-ЭКЗО-3-АЗАТРИЦИКЛО [5.2.1.02,6]ДЕКАН-4-ОНА

Хисамутдинова Р.Ю., Макара Н.С., Габдрахманова С.Ф., Сапожникова Т.А., Власова Л.И., Зарудий Ф.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский институт химии Российской Академия Наук, г Уфа

В клинических условиях довольно часто встречаются ситуации, связанные с нарушением ритма сердечных сокращений, в происхождении которых принимают нарушения микроциркуляции сосудов головного мозга (инсульт), приводящие к возникновению нарушений памяти, мышления и деятельности коры головного мозга. В связи с этим синтез и изыскание лекарственных средств, обладающих комбинированной фармакологической активностью (антиаритмической, ноотропной, антиагрегационной) и низкой токсичностью является важной и актуальной задачей. В ряду синтезированных азотистых гетероциклов найдено соединение – 5-амино-экзо-3-азатрицикло [5.2.1.02,6] декан-4 она (P-11) – обладающее широким спектром действия (патент РФ №2281938). Проведенные фармакологические исследования показали, что данное соединение обладает антиаритмической активностью на моделях, воспроизводящих различные нарушения ритма сердца, включая наиболее опасную для жизни – фибрилляцию. По ряду фармакологических свойств 5-амино-экзо-3-азатрицикло [5.2.1.02,6] декан-4 она относится и к ноотропным средствам, превосходя известные в настоящее время препараты; кроме того, оно проявляет также противовоспалительную и анальгетическую активность и относится к V классу малоопасных веществ [1,2]. Поэтому целесообразно было выяснить степень повреждающего действия 5-амино-экзо-3-азатрицикло [5.2.1.02,6] декан-4 она на органы и выделительную систему крыс при 30 дневном введении .

Кумуляцию изучаемого соединения определяли методом субхронической токсичности по Lim R.K. (1961) [3]. Эксперименты проводили на 30 белых крысах линии Вистар обоего пола массой 160 – 180 г. Животным ежедневно вводили с помощью зонда в желудок водный раствор P-11 в дозе 1/10 ЛД₅₀ равной 680 мг/кг. В начале опыта, через 15 и 30 дней у животных оценивали токсическое действие по следующим параметрам: интегральные показатели (внешний вид, симптомы интоксикации, потребление пищи и воды); патоморфологические исследования; функциональное состояние выделительной системы: влияние на диурез и общий анализ мочи (Ph мочи, наличие белка, глюкозы, кетонов и микроскопию осадка).

В течение всего эксперимента не отмечали падежа животных. При внешнем осмотре животных наблюдали равномерное удовлетворительное развитие шерстного покрова без облысения. Кожа эластичная, подвижная. Потребление пищи и воды не изменилось по сравнению с интактными животными.

При вскрытии и макроскопическом исследовании видимая патология внутренних органов отсутствует. Весовые коэффициенты внутренних органов опытных животных, получавших P-11, были аналогичны весовым коэффициентам органов контрольных животных (p<0,05).

Только на 30 день отмечено незначительное в пределах нормы увеличение веса внутренних органов и изменение их внешнего вида. Во всех

органах обнаружены незначительные сгустки крови. Печень приобрела более темный цвет, повысилась ее зернистость.

P-11 не влиял на диурез крыс. На 30 день общее количество мочи не увеличилось по сравнению с исходными данными. P-11 не изменял показатели общего анализа мочи крыс. Достоверных различий показателей измерений ректальной температуры при длительном введении P-11 у животных всех групп не выявлено.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали низкую куммулятивную активность препарата; P-11 в дозе 680 мг/кг при пероральном введении хорошо переносится животными и только к 30 дню проявляет незначительное токсическое действие на внутренние органы крыс при этом не вызывая гибели животных.

Литература

1. В.А. Гарпиченко, Е.А. Яцынич, Д.В.Петров, Р. Ю. Хисамутдинова, Н.Ж. Басченко, В.А. Докичев, Ю.В. Томилов, О.М. Нефедов «Синтез и антиаритмическая активность 5-амино-экзо-3-азатрицикло [5.2.1.0^{2,6}] декан-4-она» Химико-фармацевтический журнал, 2005, т.39, №6, С.9 -11
2. Уникальное сочетание фармакологических свойств (ноотропная, антиагрегационная, антиаритмическая активность) 5-амино-экзо-3-азатрицикло[5.2.1.0^{2,6}] декан-4-она Петров Д.В., Зарудий Ф.А., Басченко Н.Ж., Докичев В.А., Томилов Ю.В., Нефедов О.М.// Научно-практическая конференция «Биологические активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения, Новый свет, Крым, Украина 25-30 мая 2009. С. 381
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2013. – 944с.

БЕЗОПАСНОСТЬ ОДНОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭХИНОКОККОЗА ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ ТРЕХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ: CUCURBITA PERO, TANACETUM VULGARE, JUGLANS REGIA

Шамсиев Ж.А., Свистунов А.А., Максимов М.Л., АльДжомма Р., Стреляева А.В., Шамсиев А.М., Чебышев Н.В., Садыков В.М., Рузыбаев С.А., Эгамбердыев Б.Н, Маликов М.Р., Габченко А.К., Ашуров А.А., Вахидова А.М., Сапожников С.А.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан

Гомеопатические препараты: Cucurbita pero С6, Tanacetum vulgare С6, Juglans regia С6 известны в гомеопатии более ста лет и с большим успехом применяются грамотными врачами гомеопатами при лечении гельминтозных заболеваний. Эти препараты указываются более чем в 500 гомеопатических источниках и ни в одном случае при лечении гельминтозов не описано побочного или токсического действия этих препаратов. Нами опубликованы совместные работы с хирургами, посвященные лечению эхинококкоза печени детей указанными препаратами. В публикациях приводятся материалы, когда мы использовали только один препарат и получали положительный результат.

29 детей, больных эхинококкозом печени, пролечены гомеопатическим препаратом Cucurbita pero, который утвержден Минздравом России, применяется более 100 лет в гомеопатии для лечения гельминтозов людей, экологически чистый, изготавливается из семян тыквы, не обладает токсичностью. На 90 белых мышях самцах массой 18-20 г на трех моделях: эхинококкоз, сифачиоз, гименолепидоз, используя Cucurbita pero, получен положительный результат лечения гельминтозов белых мышей.

28 детей, больных эхинококкозом печени, пролечены препаратом сравнения албендазолом в течение 30-ти дней в дозе 10мг/кг, 47 больных детей эхинококкозом печени, пролечены гомеопатиче-

ским препаратом Juglans regia С6 в течение 30 дней, 29 детей, больных эхинококкозом печени, пролечены гомеопатическим препаратом Cucurbita pero С6 в течение 30 дней. Четыре гранулы гомеопатического препарата растворяли в 100мл кипяченной охлажденной до комнатной температуры воде в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А Никитину. Препарат готовился каждый день, в этот же день использовался. Применялся по авторской методике. Побочного действия гомеопатических препаратов не отмечалось. Напротив, у детей, леченных албендазолом в некоторых случаях отмечалась тошнота и рвота. Из 29-ти детей, больных эхинококкозом печени, пролеченных гомеопатическим препаратом Cucurbita pero С6, у 15-ти (51,72%) хороший результат, у 8-ми (27,57%) – удовлетворительный, у 6-ти (20,71%) – неудовлетворительный.

По методике ВОЗ оценивались результаты лечения эхинококкоза препаратами. При лечении албендазолом хороший результат у 6-ти (21,4%) больных детей, удовлетворительный результат у 8-ми ((28,6%), неудовлетворительный – у 14-ти (50%) детей. Из 47-ми детей, больных эхинококкозом печени, пролеченных гомеопатическим препаратом Juglans regia С6, в отношении лечения эхинококкоза хороший результат у 14-ти (29,7%), удовлетвори-

тельный – у 25-ти (53,1%), неудовлетворительный – у 8-ми (17,2%) детей. Все больные были успешно прооперированы, при хорошем результате ларвоцисты были погибшими.

69 детей больных эхинококкозом печени были пролечены различными препаратами, разрешенными Минздравом России для лечения больных. 23 ребенка, больных эхинококкозом печени, были пролечены общеизвестным препаратом албендазолом (препарат сравнения); 46 детей пролечены гомеопатическим препаратом *Tanacetum vulgare*, который в гомеопатии применяется более ста лет при лечении гельминтозных заболеваний. Препарат не обладает токсичностью и побочным действием. Эксперименты предварительно были проведены на 90 самцах белых мышей, которых заражали гименолепидозом, сифачиозом, эхинококкозом.

Гомеопатический препарат *Tanacetum vulgare* в эксперименте на белых мышках массой 18- 20 г проявил высокую противогельминтную активность и отсутствие токсичности и побочного действия.

23 ребенка, больных эхинококкозом печени, пролечены препаратом сравнения албендазолом в течение 30-ти дней в дозе 10мг/кг, 46 больных детей эхинококкозом печени пролечены гомеопатическим препаратом *Tanacetum vulgare* С6 в течение 30 дней. В группе, леченной албендазолом, хороший результат у 10-ти (43,47%), удовлетворительный – у 7-ми (34,34%), неудовлетворительный – у 6-ти (22,19%) детей.

46 детей пролечены гомеопатическим препаратом *Tanacetum vulgare* С6. Четыре гранулы гомеопатического препарата растворялись в 100мл кипяченой охлажденной до комнатной температуры воде в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по

С.А Никитину. Препарат готовился каждый день, в этот же день использовался по авторской методике. Побочного действия гомеопатического препарата не отмечалось. При этом установлен хороший результат у 25-ти (54,34%), удовлетворительный – у 12-ти (26,08%), неудовлетворительный – у 9-ти (19,68%). Таким образом, при консервативном лечении эхинококкоза печени детей эффективность гомеопатического препарата *Tanacetum vulgare* С6 оказалась выше традиционного препарата албендазола, который обладает токсичностью и побочным действием.

47 детей, больных эхинококкозом печени, пролечены тремя гомеопатическими препаратами: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6. в течение 35 дней. Мы использовали гранулы гомеопатические, купленные в аптеках города Москвы. Четыре гранулы каждого препарата растворяли в 150 мл кипяченой охлажденной до комнатной температуры воды в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А Никитину, вращением 50 раз вправо, 50 раз влево. Далее применялись по описанной нами схеме. Хороший противоэхинококковый результат отмечен у 32-х (68,39%), удовлетворительный – у 9-ти (21,29%), неудовлетворительный – у 6-ти (9,78%). Таким образом, применение одновременно трех гомеопатических препаратов повысило хороший противоэхинококковый эффект более чем на 14%, если при применении только одного гомеопатического препарата *Tanacetum vulgare* С6 хороший результат противоэхинококкового лечения был равен 54,34%, при использовании трех препаратов он повысился до 68,93%. Побочное и токсическое действие применения трех препаратов тщательным исследованием исключено.

БЕЗОПАСНОСТЬ ОДНОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭХИНОКОККОЗА ЛЕГКИХ У ДЕТЕЙ ТРЕХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ: CUCURBITA PEPO, TANACETUM VULGARE, JUGLANS REGIA

Шамсиев Ж.А., Свистунов А.А., Максимов М.Л., Аль Джомая Р., Стреляева А.В., Шамсиев А.М., Чебышев Н.В., Садыков В.М., Рузыбаев С.А., Эгамбердыев Б.Н, Габченко А.К., Ашуров А.А., Вахидова А.М., Сапожников С.А. ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан

Гомеопатические препараты: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6 утверждены Минздравом России для применения в практическом здравоохранении России. Нами было проведено лечение детей больных эхинококкозом легких применением одного из трех препаратов, получен положительный результат, который прошел апробацию и одобрение ученых. В гомеопатии есть понятие совместимость препаратов. Нами в экспе-

рименте, материалы которых печатаются в э том издании на подопытных животных экспериментами доказана совместимость этих трех препаратов, а еще раньше нас гомеопаты блестяще на людях доказали совместимость этих препаратов.

35 детей, больных эхинококкозом легких, пролечены гомеопатическим препаратом *Cucurbita pepo* в течение 30 дней. Четыре гранулы гомеопатического препарата растворяли в 100мл кипяченой охлаж-

денной до комнатной температуры воде в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А Никитину. Препарат готовился каждый день, в этот же день использовался по авторской методике. Побочного действия гомеопатического препарата не отмечалось. Из 35-ти детей, больных эхинококкозом легких, пролеченных гомеопатическим препаратом *Cucurbita pepo* в течение 30 дней хороший результат у 18-ти (51,42%), удовлетворительный – у 9-ти (25,71%), неудовлетворительный – у 8-ми (22,87%).

27 детей, больных эхинококкозом легких, пролечены препаратом сравнения албендазолом в течение 30-ти дней в дозе 10мг/кг, 42 ребенка с эхинококкозом легких, пролечены гомеопатическим препаратом *Juglans regia* С6 в течение 30 дней. Четыре крупки препарата *Juglans regia* С6 растворялись в 100 мл кипяченной охлажденной до комнатной температуры воды в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А Никитину. Весь курс лечения гомеопатическим препаратом продолжался в течение 30 дней. Побочного действия препарата не отмечалось.

По методике ВОЗ определен результат лечения. В группе, леченной албендазолом, хороший результат у 6-ти (22,2%), удовлетворительный – у 7-ми (25,9%), неудовлетворительный – у 14-ти (51,8%). В группе больных, пролеченных гомеопатическим препаратом *Juglans regia* С6, хороший результат у 16-ти (38,1%), удовлетворительный – у 15-ти, неудовлетворительный – у 11-ти (26,2%). Произошла нормализация белково-аминокислотного обмена

и тенденция к нормализации иммунного статуса, а также прекратились боли в сердце. Все больные были успешно прооперированы, при хорошем результате ларвоцисты были погибшими. Гомеопатические препараты *Juglans regia* С6 и *Cucurbita pepo* С6 не уступили по противоэхинококковой эффективности применяемому албендазолу, от последнего отличаются противогрибковой активностью. Напротив, у детей леченных албендазолом, в некоторых случаях отмечалась тошнота и рвота.

39 детей, больных эхинококкозом легких, пролеченных тремя гомеопатическими препаратами: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6, в течение 35 дней мы использовали гранулы гомеопатические, купленные в аптеках города Москвы. Четыре гранулы каждого препарата растворяли в 150 мл кипяченной охлажденной до комнатной температуры воды в пластмассовой бутылке, которая закрывалась полиэтиленовой крышкой, проводилась динамизация по С.А Никитину, вращением 50 раз вправо, 50 раз влево. Далее применялись по описанной нами схеме. Хороший противоэхинококковый результат отмечен у 27-ми (63,15%), удовлетворительный – у 7-ми (17,88%), неудовлетворительный – у 5-ти (12,99%). Таким образом, применение одновременно трех гомеопатических препаратов повысило хороший противоэхинококковый эффект более чем на 12%, если при применении только одного гомеопатического препарата *Cucurbita pepo* С6 хороший результат противоэхинококкового лечения был равен 51,42%, при использовании трех препаратов он повысился до 63,15%. Побочное и токсическое действие применения трех препаратов тщательным исследованием исключено.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ОТСУТСТВИЯ ТОКСИЧНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ОДНОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЕЛЬМИНТОЗОВ ТРЕХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ: CUCURBITA PEPO, TANACETUM VULGARE, JUGLANS REGIA

*Аль Джомая Р., Максимов М.Л., Стрелева А.В., Свистунов А.А., Шамсиев Ж.А., Маликов М.Р., Вахидова А.М., Сапожников С.А., Мухитдинов Ш.М, Балаян Э.В.
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва,
Самаркандский государственный медицинский институт, Узбекистан*

Семена тыквы обыкновенной (*Cucurbita pepo*) и препарат *Cucurbita pepo* более ста лет применяется как эффективное антигельминтное средство. Нами выделен белок и аминокислоты из тыквенных семян, которые использованы в эксперименте по лечению мышей, зараженных гименолепидозом. Получен положительный результат. Гомеопатический препарат *Cucurbita pepo* более ста лет используется гомеопатами при лечении людей, больных различными гельминтозами. Однако при гельминтозах

животных гомеопаты не испытывали данный препарат. Нами впервые на трех лабораторных моделях: мышшь, зараженная цистным эхинококкозом, мышшь, зараженная гименолепидозом, мышшь, зараженная сифачиозом, доказана противогельминтная активность гомеопатического *Cucurbita pepo* С6. По методикам «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – 827с.» на четырех видах животных доказано полное отсутствие ток-

сичности *Cucurbita pepo* С6 терапевтических доз, используемых для лечения людей.

Гомеопатические препараты *Tanacetum vulgare* С6 и *Juglans regia* С6 по вышеотмеченным методикам показали антигельминтную активность и полное отсутствие токсичности.

Антигельминтная активность трех испытуемых препаратов: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6 при использовании каждого в отдельности при лечении гименолепидоза и сифачиоза достигла стопроцентности излечения животных от рассматриваемых гельминтозов. Однако, при лечении эхинококкоза из 10ти,мышей, зараженных цистным эхинококком, леченных *Juglans regia* С6, выздоровели 4, из 10-ти аналогичных мышей, леченных *Cucurbita pepo* С6, выздоровели 3 мыши, из 10-ти мышей, зараженных цистным эхинококком, леченных *Tanacetum vulgare* С6, выздоровели 2 мыши. В дальнейшем мы использовали сочета-

ние препаратов при лечении зараженных цистным эхинококком белых мышей. Применив сочетание *Juglans regia* С6 и *Cucurbita pepo* С6 из 10-ти больных мышей выздоровели 6, *Juglans regia* С6 и *Tanacetum vulgare* С6, выздоровели 5 мышей, *Cucurbita pepo* С6 и *Tanacetum vulgare* С6, выздоровели 4 мыши. Использовали одновременно 3 препарата: *Cucurbita pepo* С6, *Tanacetum vulgare* С6, *Juglans regia* С6 и выздоровело 8 мышей.

На четырех видах животных проведено изучение острой и хронической токсичности различных сочетаний препаратов. Токсичность испытуемых препаратов отсутствовала.

Таким образом, нами получено экспериментальное доказательство отсутствия токсичности и безопасность одновременного применения при лечении гельминтозов тремя гомеопатическими препаратами: *Cucurbita pepo*, *Tanacetum vulgare*, *Juglans regia*.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ИННОВАЦИИ В ПЕДИАТРИИ: ПРОБЛЕМЫ БЕЗОПАСНОСТИ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПРОБЕЛЫ

Юдина Е.В., Зиганшина Л.Е.

*Казанский (Приволжский) федеральный университет,
кафедра фундаментальной и клинической фармакологии*

Актуальность. Одной из инновационных технологий современной клинической медицины и здравоохранения является терапевтическое использование моноклональных антител (МАТ). Поиск новых мишеней воздействия и расширение области их применения связаны не только с терапевтическими ожиданиями, но и с финансовыми стимулами, т.к. эти препараты являются высоко затратными. Однако предполагаемая польза должна быть тщательно взвешена относительно высокой стоимости и риска развития серьезных неблагоприятных реакций, связанных с применением моноклональных антител. Недавнее внедрение препаратов моноклональных антител для профилактики респираторно-синцитиальной вирусной (РСВ) инфекции в педиатрическую практику Российской Федерации вызывает большие опасения, поскольку целевой группой является самая уязвимая категория пациентов – новорожденные и дети раннего возраста.

Материал и методы. Проведен поиск информации о лекарственном средстве «паливизумаб» на сайтах регуляторных органов: Государственного реестра лекарственных средств Министерства здравоохранения РФ (www.grls.rosminzdrav.ru), Европейского медицинского агентства (<http://www.ema.europa.eu/ema/>), Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (<http://www.fda.gov/>); поиск литературы в базах данных Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

pubmed/), Кокрейновской библиотеки (<http://www.cochranelibrary.com>).

Результаты. Паливизумаб – препарат гуманизированных моноклональных антител, зарегистрирован в Российской Федерации в 2010 году по показанию: профилактика тяжелой инфекции нижних дыхательных путей, вызванной респираторно-синцитиальным вирусом у детей с высоким риском заражения РСВ: детей в возрасте до 6 месяцев, рожденных на 35 неделе беременности или ранее; детей в возрасте до 2 лет, которым потребовалось лечение по поводу бронхолегочной дисплазии в течение последних 6 месяцев; детей в возрасте до 2 лет с гемодинамически значимыми врожденными пороками сердца.

Одобрение паливизумаба Европейским медицинским агентством (EMA) и Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (FDA) было основано на результатах двух рандомизированных, двойных-слепых, плацебо-контролируемых исследований, в которых в качестве исхода лечения оценивали вторичные конечные точки – случаи госпитализации, связанной с РСВ-инфекцией. Поскольку показания для госпитализации определяются особенностями организации медицинской помощи в той или иной стране, сам факт госпитализации не может являться точной характеристикой тяжести заболевания. Существенных различий в длитель-

ности госпитализации и снижении потребности в ИВЛ между группами не было. Результаты исследований демонстрируют, что число пациентов, которым нужно провести профилактический курс паливизумаба (5 инъекций) в течение сезона РСВ для того, чтобы предотвратить 1 случай госпитализации, связанной с РСВ инфекцией, в одном исследовании равно 17, во втором исследовании равно 23. Сомнительно, что такие показатели ЧБНЛ (число больных, которых нужно лечить, чтобы предотвратить 1 случай госпитализации) и использование вторичных конечных точек в качестве оцениваемых исходов, а также возможные неблагоприятные последствия могут оправдать профилактическое применение препарата у всей группы пациентов с риском развития тяжелой РСВ-инфекции. Данные постмаркетинговых исследований паливизумаба противоречивы и не позволяют сделать надежные выводы в отношении целесообразности клинического применения препарата, постмаркетинговые независимые контролируемые испытания надлежащего качества не были проведены.

В инструкции по применению препарата производитель отмечает, что при проведении исследований по применению препарата в профилактических целях побочные реакции у детей в контрольной группе и группе детей, получавших препарат, были сходными, преходящими, и степень их тяжести варьировала от легкой до умеренной. Подобная ин-

формация вводит в заблуждение, поскольку создает ложное впечатление о безопасности лекарства. Известно, что на этапе постмаркетингового наблюдения паливизумаба были выявлены серьезные неблагоприятные реакции, многие из которых характерны для МАТ.

Подобная профилактика паливизумабом затратна: стоимость сезонного профилактического курса из 5 инъекций для одного пациента составляет более 250 тысяч рублей. Надлежащего фармакоэкономического обоснования нет. Это прямо противоречит основным требованиям, предъявляемым мировым здравоохранением к любым профилактическим мерам, направленным на предотвращение инфекций, – требованиям их доступности для общества и максимальной безопасности.

Выводы. Введение паливизумаба в педиатрическую практику для самой уязвимой категории пациентов было проведено без надлежащей оценки эффективности, адекватного фармакоэкономического анализа и без предупредительных мер в отношении безопасности, при недостаточно развитой системе фармаконадзора. Более того, в 2012 году паливизумаб был включен в стандарт специализированной медицинской помощи детям при хронических болезнях органов дыхания, развившихся в перинатальном периоде, а в 2015 году – в Перечень жизненно-необходимых и важнейших лекарственных препаратов РФ.