

ВЕДОМОСТИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Том 8, № 2

Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции журнала.

К публикации принимаются статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов, размещенными на сайте журнала www.vedomostincesmp.ru

Все статьи проходят рецензирование двумя рецензентами. Используется модель двойного слепого рецензирования.

Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописи не взимается. Ускоренная публикация не допускается.

Труды заочных конференций не публикуются.

ISSN 1991–2919

ВЕДОМОСТИ
НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ
СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

Том 8, № 2

Апрель – июнь 2018

The BULLETIN
OF THE SCIENTIFIC CENTRE FOR EXPERT EVALUATION
OF MEDICINAL PRODUCTS

Peer-reviewed scientific and practical journal

Volume 8, No. 2

April – June 2018

«Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» — это рецензируемый научно-практический журнал, который ориентирован на разработчиков и производителей лекарственных средств, работников контрольно-разрешительной системы и государственного надзора в сфере обращения лекарственных средств, сотрудников научно-исследовательских институтов, преподавателей и студентов медицинских, фармацевтических вузов, врачей и провизоров.

К рассмотрению в журнале принимаются научные статьи, тематика которых соответствует следующим группам специальностей:

03.01.00 Физико-химическая биология,

14.01.00 Клиническая медицина,

14.03.00 Медико-биологические науки,

14.04.00 Фармация.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Олефир Юрий Витальевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Меркулов Вадим Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор

Романов Борис Константинович, доктор медицинских наук, доцент

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:

Корсун Лилия Владимировна, кандидат биологических наук

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:

Молчан Нина Валерьевна, кандидат фармацевтических наук

РЕДАКТОР:

Калиничев Сергей Анатольевич, кандидат фармацевтических наук

РЕДАКТОР ПЕРЕВОДА:

Губарева Ольга Николаевна, кандидат филологических наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Аляутдин Ренат Николаевич, доктор медицинских наук, профессор

Борисевич Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, профессор

Бунятян Наталья Дмитриевна, доктор фармацевтических наук, профессор

Горячев Дмитрий Владимирович, доктор медицинских наук

Дурнев Андрей Дмитриевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

Калаев Владислав Николаевич, доктор биологических наук, профессор

Ковалева Елена Леонардовна, доктор фармацевтических наук

Макарова Марина Николаевна, доктор медицинских наук

Попов Василий Николаевич, доктор биологических наук, профессор

Прокофьев Алексей Борисович, доктор медицинских наук, профессор

Саканян Елена Ивановна, доктор фармацевтических наук, профессор

Сюбаев Рашид Даутович, доктор медицинских наук

Сычев Дмитрий Алексеевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

Ягудина Роза Исмаиловна, доктор фармацевтических наук, профессор

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Алешкин Владимир Андрианович, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)

Бобизода Гуломқодир Муқаммал, доктор биологических наук, доктор фармацевтических наук, профессор (Душанбе, Таджикистан)

Звартау Эдвин Эдуардович, доктор медицинских наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Кукес Владимир Григорьевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Лепяхин Владимир Константинович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Муляр Александр Георгиевич, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Петров Владимир Иванович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор (Волгоград, Россия)

Свистунов Андрей Алексеевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Хохлов Александр Леонидович, доктор медицинских наук, профессор (Ярославль, Россия)

Шимановский Николай Львович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Яворский Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор (Пушино, Россия)

«The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» is a peer-reviewed scientific and practical journal which is primarily addressed to drug developers and manufacturers of medicines, control and permission system officers, state regulators in the sphere of medicinal products circulation, staff members of scientific research institutes, lecturers and students of medicine and pharmacy faculties, doctors and pharmacists.

Articles submitted for publication in the journal should pertain to one of the following specialist fields:
03.01.00 Physico-Chemical Biology, 14.03.00 Medico-Biological Sciences,
14.01.00 Clinical Medicine, 14.04.00 Pharmacy.

EDITOR-IN-CHIEF:

Yuri V. Olefir, Doctor of Medical Sciences, Senior Research Associate

DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF:

Vadim A. Merkulov, Doctor of Medical Sciences, Professor

Boris K. Romanov, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor

EXECUTIVE EDITOR:

Lilia V. Korsun, Candidate of Biological Sciences

SCIENCE EDITOR:

Nina V. Molchan, Candidate of Pharmaceutical Sciences

EDITOR:

Sergey A. Kalinichev, Candidate of Pharmaceutical Sciences

TRANSLATION EDITOR:

Olga N. Gubareva, Candidate of Philological Sciences

EDITORIAL BOARD:

Renad N. Alyautdin, Doctor of Medical Sciences, Professor

Igor V. Borisevich, Doctor of Medical Sciences, Professor

Natalia D. Bunyatyan, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

Dmitry V. Goryachev, Doctor of Medical Sciences

Andrey D. Durnev, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor

Vladislav N. Kalaev, Doctor of Biological Sciences, Professor

Elena L. Kovaleva, Doctor of Pharmaceutical Sciences

Marina N. Makarova, Doctor of Medical Sciences

Vasily N. Popov, Doctor of Biological Sciences, Professor

Alexey B. Prokofiev, Doctor of Medical Sciences, Professor

Elena I. Sakanyan, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

Rashid D. Syubaev, Doctor of Medical Sciences

Dmitry A. Sychev, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor

Roza I. Yagudina, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

EDITORIAL COUNCIL:

Vladimir A. Aleshkin, Doctor of Biological Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Gulomkodir M. Bobizoda, Doctor of Biological Sciences, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor (Dushanbe, Tajikistan)

Edwin E. Zvartau, Doctor of Medical Sciences, Professor (Saint Petersburg, Russia)

Vladimir G. Kukes, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Vladimir K. Lepakhin, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Alexander G. Mulyar, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Vladimir I. Petrov, Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Volograd, Russia)

Andrey A. Svistunov, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Alexander L. Khokhlov, Doctor of Medical Sciences, Professor (Yaroslavl, Russia)

Nikolay L. Shimanovsky, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Alexander N. Yavorsky, Doctor of Medical Sciences, Professor (Pushchino, Russia)

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

СОДЕРЖАНИЕ

Том 8, № 2 2018

ОБЗОРЫ

- Е. А. Сокова, В. В. Архипов, Р. А. Чилова, О. А. Демидова, Г. Ф. Проклова, Т. В. Пикуза**
Эффективность и безопасность противосудорожных лекарственных средств у беременных: фармакогенетические аспекты 72
- В. Э. Григорьева, О. В. Гунар, Н. Г. Сахно, Г. М. Булгакова, Н. В. Молчан**
Лекарственные средства, содержащие змеиный яд: история развития, номенклатура, оценка подлинности . . . 77
- Н. Г. Оленина, Н. С. Михеева, Н. М. Крутикова**
Особенности экспертизы «польза/риск» лекарственных растительных препаратов: анализ регистрационных досье 84
- Д. П. Ромодановский, Д. В. Горячев, А. П. Соловьева, Н. Н. Еременко**
Принципы статистической оценки исследований биоэквивалентности в рамках актуальных регуляторных требований и нормативно-правовых актов 92
- Д. П. Андреев, Е. М. Рычихина, А. В. Козлович, Б. К. Романов**
Информационная система экспертной оценки параметров взаимозаменяемости лекарственных препаратов . . 99
- К. А. Кошечкин**
Опыт создания информационной системы управления деятельностью испытательных лабораторий экспертного учреждения в сфере обращения лекарственных средств 103

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- А. В. Калатанова, А. Е. Кательникова, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров**
Апробация модифицированной техники выполнения интравитреального введения лекарственных средств в глаз кролика 109
- В. А. Вавилова, Е. В. Шекунова, В. А. Кашкин, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, А. Я. Хайменов**
Апробация метода оценки фототоксических эффектов лекарственных препаратов в условиях *in vivo* 115
- Е. С. Новик, А. В. Доренская, Н. А. Борисова, О. В. Гунар**
Особенности анализа лекарственных препаратов для парентерального применения методом электрочувствительных зон 123
- В. М. Шукин, Е. Ю. Северинова, Н. Е. Кузьмина, В. А. Яшкир, В. А. Меркулов**
Проблемы определения содержания иодид-ионов в поливитаминных препаратах методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой 128

Свидетельство о регистрации средства массовой информации: ПИ № ФС77-53169 от 14 марта 2013 г.

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес редакции: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2
E-mail: vedomosti@expmed.ru

Тел.: +7 (495) 234-61-04, доб. 63-33, 63-34

Журнал включен в наукометрическую базу данных Science Index

© ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2018

Подписано в печать: 14.05.2018

Формат 60×90/8. Усл. печ. л. 8,5

Бумага мелованная. Печать офсетная

Издатель: ООО «Ваше Цифровое Издательство»

Юридический адрес: 109263, Москва, ул. Шкулева, д. 9, к. 2

E-mail: isupport@neicon.ru

Тел./факс: +7 (499) 754-99-93

Сайт: <http://elpub.ru/>

VEDOMOSTI NAUCHNOGO TSENTRA EKSPERTIZY SREDSTV MEDITSINSKOGO PRIMENENIYA

[The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products]

CONTENTS

Volume 8, No. 2 2018

REVIEWS

- E. A. Sokova, V. V. Arkhipov, R. A. Chilova, O. A. Demidova, G. F. Proklova, T. V. Pikuza**
Efficacy and Safety of Antiepileptic Drugs During Pregnancy: Pharmacogenetic Aspects 72
- V. E. Grigorieva, O. V. Gunar, N. G. Sakhno, G. M. Bulgakova, N. V. Molchan**
Drugs Containing Snake Venom: History of Development, Nomenclature, Identification 77
- N. G. Olenina, N. S. Mikheeva, N. M. Krutikova**
Specific Aspects of Benefit–Risk Evaluation of Herbal Medicinal Products: Analysis of Registration Dossiers . . . 84
- D. P. Romodanovsky, D. V. Goryachev, A. P. Solovieva, N. N. Eremenko**
Principles of Statistical Evaluation of Bioequivalence Studies
in the Context of Current Regulatory Requirements and Legal Acts 92
- D. P. Andreev, E. M. Rychikhina, A. V. Kozlovich, B. K. Romanov**
Information System for Expert Evaluation of Medicines Interchangeability 99
- K. A. Koshechkin**
Creation of an Information System for Managing the Activities of Testing Laboratories
of an Expert Institution in the Sphere of Medicinal Products Circulation 103

ORIGINAL ARTICLES

- A. V. Kalatanova, A. E. Katelnikova, M. N. Makarova, V. G. Makarov**
Experimental Testing of the Modified Method of Intravitreal Injection in the Rabbit Eye 109
- V. A. Vavilova, E. V. Shekunova, V. A. Kashkin, M. N. Makarova, V. G. Makarov, A. Ya. Khaymenov**
Experimental Testing of an in vivo Method of Phototoxicity Evaluation 115
- E. S. Novik, A. V. Dorenskaya, N. A. Borisova, O. V. Gunar**
Aspects of Medicines Quality Evaluation by Electrical Sensing Zone Method 123
- V. M. Shchukin, E. Yu. Severinova, N. E. Kuz'mina, V. A. Yashkir, V. A. Merkulov**
Problems of Iodide Ions Determination in Multivitamins
by Inductively Coupled Plasma Atomic-Emission Spectrometry 128

Mass media registration certificate: ПИ № ФС77-53169
of March 14, 2013

Founder: Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre
for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of
Health of the Russian Federation

Postal address: 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051
E-mail: vedomosti@expmed.ru
Tel.: +7 (495) 234-61-04, ext. 63-33, 63-34
The journal is included in the Science Index scientometric
database
© FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, 2018

Passed for printing: 14 May 2018
Format 60×90/8. Conventional printed sheets: 8.5
Enamel-paper. Offset printing

Publisher: «Your Digital Publishing» LLC
Registered office: 9/2 Shkuleva Street, Moscow
109263, Russian Federation
E-mail: isupport@neicon.ru
Tel./fax: +7 (499) 754-99-93
Website: <http://elpub.ru/>



Эффективность и безопасность противозепилептических лекарственных средств у беременных: фармакогенетические аспекты

* Е. А. Сокова¹, В. В. Архипов¹, Р. А. Чилова², О. А. Демидова¹, Г. Ф. Проклова², Т. В. Пикуза²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет
имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Резюме. Проведен обзор данных научной литературы по проблеме фармакотерапии эпилепсии у беременных с позиции клинической фармакологии. Рассмотрены общие принципы проведения противозепилептической терапии у беременных. Показано, что оптимальным условием лечения эпилепсии во время беременности является монотерапия с применением минимальной дозы антиконвульсантов. Приведены особенности фармакокинетики противозепилептических препаратов (вальпроевая кислота, карбамазепин, ламотриджин, фенитоин, фенобарбитал и др.), которые определяют необходимость изменения режима дозирования под контролем терапевтического лекарственного мониторинга. Продемонстрировано, что носительство «медленных» аллельных вариантов *CYP2C9* ассоциируется с замедлением биотрансформации вальпроевой кислоты, карбамазепина, топирамата, фенитоина, окскарбазепина, диазепама, фенобарбитала, примидона в печени, следовательно, более высокими их концентрациями в плазме крови и высоким риском развития нежелательных реакций. Учитывая полиморфизм генов, кодирующих изоферменты метаболизма традиционных противозепилептических препаратов, беременным с эпилепсией, а также планирующим беременность целесообразно рекомендовать генотипирование. Показано, что полиморфизм гена *ABCB1* и генов других транспортных белков может изменять степень воздействия противозепилептических лекарственных средств на плод и, таким образом, увеличивать риск тератогенности.

Ключевые слова: беременность; противозепилептический препарат; фармакокинетика; фармакогенетика; безопасность; эффективность; транспортеры лекарственных средств; терапевтический лекарственный мониторинг

Для цитирования: Сокова ЕА, Архипов ВВ, Чилова РА, Демидова ОА, Проклова ГФ, Пикуза ТВ. Эффективность и безопасность противозепилептических лекарственных средств у беременных: фармакогенетические аспекты. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):72–76. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-72-76>

* **Контактное лицо:** Сокова Елена Андреевна; sokova2@rambler.ru

Efficacy and Safety of Antiepileptic Drugs During Pregnancy: Pharmacogenetic Aspects

* E. A. Sokova¹, V. V. Arkhipov¹, R. A. Chilova², O. A. Demidova¹, G. F. Proklova², T. V. Pikuza²

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
8/2 Trubetskaya Street, Moscow 119991, Russian Federation

Abstract. This paper summarises scientific literature on pharmacotherapy of epilepsy in pregnant women from the perspective of clinical pharmacology. It analyses general principles of antiepileptic therapy in pregnant women. It was demonstrated that the optimal conditions for treating epilepsy during pregnancy involve the use of the minimum dose of an anticonvulsant. The article describes specific pharmacokinetic parameters of antiepileptic drugs (valproic acid, carbamazepine, lamotrigine, phenytoin, phenobarbital) that require adjustment of the dose regimen based on therapeutic drug monitoring. It was demonstrated that carriership of «slow» allelic variants of *CYP2C9* is associated with a slowdown in hepatic biotransformation of valproic acid, carbamazepine, topiramate, phenytoin, oxcarbazepine, diazepam, phenobarbital, and primidone, and, consequently, with increased drug concentrations in blood plasma and an increased risk of adverse reactions. Taking into account polymorphism of genes encoding metabolic isoenzymes of traditional antiepileptic drugs, it is recommended for pregnant women and women planning a pregnancy to undergo genotyping. It was demonstrated that polymorphism of the *ABCB1* gene and genes of other transport proteins can modify the effect of antiepileptic drugs on the foetus, thus increasing the teratogenic risk.

Key words: pregnancy; antiepileptic drugs; pharmacokinetics; pharmacogenetics; safety; efficacy; drug transporters; therapeutic drug monitoring

For citation: Sokova EA, Arkhipov VV, Chilova RA, Demidova OA, Proklova GF, Pikuza TV. Efficacy and Safety of Antiepileptic Drugs During Pregnancy: Pharmacogenetic Aspects. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):72–76. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-72-76>

* **Contact person:** Elena A. Sokova; sokova2@rambler.ru

Распространенность эпилепсии среди всего населения достигает 1 %, при этом до 40 % пациентов являются женщинами детородного возраста. Заболевание может впервые проявиться во время беременности у 13–15 % женщин. Согласно обобщенным данным, обострение эпилепсии во время беременности наблюдается приблизительно в 10 % случаев, в 5 % происходит снижение частоты приступов, а в 85 % существенного изменения частоты приступов не отмечается [1].

Лечение эпилепсии во время беременности представляет определенные терапевтические трудности. Цель фармакотерапии у беременных — отсутствие судорожных приступов и минимальное влияние противоэпилептических препаратов (ПЭП) на плод [1]. Судорожные приступы являются фактором риска угрозы прерывания беременности и потенциально могут оказывать физиологическое и травматическое воздействие как на плод/новорожденного, так и на беременную [2]. Внутриутробное воздействие судорожных приступов увеличивает в 1,3 раза риск рождения детей с малым гестационным сроком и ассоциируется с низким коэффициентом интеллекта (IQ) у детей в возрасте 6 лет [2, 3]. При этом существует мнение, что прекращение приема ПЭП во время беременности увеличивает в 10 раз показатели смертности у беременных с эпилепсией [3].

Эффективность противоэпилептической терапии в виде полного выздоровления или уменьшения частоты приступов более чем наполовину достигается в 60–70 % случаев. Частота побочных эффектов и осложнений при применении ПЭП, по данным разных исследователей, составляет 7–25 %. Пренатальное воздействие ПЭП значительно повышает риск больших врожденных пороков плода с фонового уровня 1–2 % у здоровых женщин до 4–9 % у женщин с эпилепсией. Причины, почему у остальных 91–96 % новорожденных, подвергшихся воздействию ПЭП внутриутробно, отсутствуют тератогенные эффекты, до конца не ясны. Данные эффекты тесно связаны с дозой лекарственного средства (ЛС) и продолжительностью воздействия. В то же время индивидуальная чувствительность к тератогену зависит от генотипа матери и плода, то есть фармакогенетических особенностей пациента, которые предопределены особенностями функционирования системы биотрансформации и транспортеров в материнско-плацентарно-плодном комплексе [14, 16].

Цель работы — изучение основных принципов фармакотерапии, особенностей фармакокинетики и фармакогенетических аспектов применения противоэпилептических лекарственных препаратов при беременности.

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ И ПРИНЦИПЫ ФАРМАКОТЕРАПИИ ПЭП У БЕРЕМЕННЫХ

Применение традиционных ПЭП увеличивает риск возникновения больших и малых дефектов развития, задержки внутриутробного развития и функциональных нарушений развития ЦНС плода/новорожденного. Чаше остальных регистрируют дефекты нервной трубки, пороки лицевого

череп, расщелина губы/неба, куполообразное небо, редкие молочные зубы, широко расставленные глаза, низко расположенные уши, гипоплазию конечностей, отсутствие ногтей, пороки сердца, урогенитальные аномалии. Так, в исследовании Meador K. и соавт. было продемонстрировано, что частота возникновения больших пороков развития (БПР) практически в три раза выше у женщин с эпилепсией (7,08 %), чем у беременных без нее (2,28 %), в особенности при монотерапии вальпроевой кислотой (10,73 %) [1].

Риск значительно увеличивался при комбинированной терапии фенитоином, фенобарбиталом или вальпроевой кислотой. По данным EURAP (European Registry of Antiepileptic Drugs and Pregnancy, Европейский регистр противоэпилептических лекарственных средств и беременности), частота возникновения врожденных пороков развития (ВПР) носит дозозависимый характер [4] (табл. 1).

В Североамериканском регистре беременных при эпилепсии объединены исходы беременностей для 11 ПЭП. По данным Hernandez-Diaz S. и соавт., сведения, полученные из Североамериканского регистра беременных, принимающих ПЭП, свидетельствуют о высокой частоте тератогенного воздействия вальпроевой кислоты в I триместре беременности (до 10,7 %). Риск возникновения БПР составил 9,3 % для вальпроевой кислоты, 5,5 % для фенобарбитала, 4,2 % для топирамата, 3,0 % для карбамазепина, 2,9 % для фенитоина, 2,4 % для левитирацетама и 2,0 % для ламотриджина [5].

Согласно данным исследований, представленных в работе Mawhinney E. и соавт., классические ПЭП можно расположить по мере убывания тератогенного действия в следующем порядке: фенитоин → вальпроевая кислота → фенобарбитал → карбамазепин [6]. Из новых ПЭП к настоящему времени лучше всего изучен ламотриджин. Поскольку нет данных экспериментальных и клинических исследований, которые указывали бы на тератогенность данного препарата, при планировании беременности в качестве противоэпилептического средства следует рекомендовать именно ламотриджин, особенно в случае применения до беременности вальпроевой кислоты [7]. Подготовка женщин с эпилепсией к беременности осуществляется в тесном сотрудничестве пациентки и ее родственников,

Таблица 1

ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ ПРИ ТЕРАПИИ ПЭП

Наименование препарата	Дозировка препарата, мг/сут	Частота случаев развития пороков, %
Вальпроевая кислота	≥1500	24,2
	700	5,6
Карбамазепин	<400	3,4
	≥400 до <1000	5,3
	≥1000	8,7
Ламотриджин	<300	2,0
	>300	4,5

невролога, акушера-гинеколога и генетика. Основная цель, стоящая перед неврологом, заключается в достижении медикаментозной ремиссии эпилепсии. Общие рекомендации по проведению противосудорожной терапии при беременности состоят в следующем [7].

1. Если в условиях проведения противосудорожной терапии уже родился один ребенок с типичными аномалиями, перед следующей беременностью необходимо назначать другие ПЭП, поскольку существует повышенный повторный риск возникновения аномалий в результате специфической фармакогенетической предрасположенности матери и ребенка к данному ЛС.

2. Женщины репродуктивного возраста должны отказаться от вальпроевой кислоты, исключая особые случаи, например тяжелые формы заболевания, когда необходимо применить этот препарат.

3. Следует стремиться к проведению монотерапии, так как одновременное применение нескольких ПЭП достоверно повышает риск эмбриотоксического действия.

4. Средняя доза препарата должна быть низкой, насколько это возможно, в период органогенеза. Ежедневную дозу ПЭП следует принимать в 2–4 приема. В каждом триместре беременности один раз или чаще необходимо определять в крови матери концентрацию активного вещества, не связанного с белками. Вследствие повышения клиренса препарата во время беременности, особенно в случае применения ламотриджина и окскарбазепина, требуется повышение дозы.

5. Женщину детородного возраста с эпилепсией следует информировать о том, что риск больших пороков развития при противосудорожной терапии возрастает в среднем в 2–4 раза.

6. Противосудорожную фармакотерапию во время беременности прекращать нельзя.

7. Монотерапия, комбинированное лечение несколькими ПЭП или эпилепсия сами по себе не могут быть показаниями для прерывания беременности.

8. Для каждой беременной, получающей ПЭП, и для каждой беременной с эпилепсией, независимо от того, проводится лечение или нет, необходимо проведение расширенной дородовой диагностики с помощью УЗИ высокого разрешения.

Для исключения значительных колебаний концентрации препарата в крови рекомендуется более частый дробный прием либо применение ретардных форм (например, депакин хроно, финлепсин ретард).

Противосудорожное лечение требует определенной коррекции, которая заключается в переводе женщины на терапию одним препаратом и постепенном снижении его дозы (особенно в I триместре беременности). Рекомендуется применение препаратов первой линии выбора для данного типа припадка или эпилептического синдрома. По возможности рекомендуется избегать назначения таких комбинаций ПЭП, как вальпроаты, карбамазепины и фенбарбитал.

Одними из самых безопасных средств, применяемых в монотерапии, среди традиционных антиконвульсантов признаны препараты группы карбамазепинов. Если тип припадка требует применения вальпроатов, рекомендуется их дробный прием.

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ПЭП У БЕРЕМЕННЫХ

Исследования последних лет показали, что во время беременности отмечается изменение активности многих печеночных ферментов, участвующих в I и II фазах метаболизма ЛС, причем для ряда ферментов эта активность варьирует в зависимости от сроков беременности, что приводит к изменению их фармакокинетики, включая ПЭП, и предопределяет необходимость селективного выбора режима дозирования [8]. Концентрация ПЭП в плазме крови снижается во время беременности с различной скоростью и возвращается к уровню, который существовал до беременности, в послеродовом периоде для карбамазепина — на 40 %, фенитоина — на 56 %, фенбарбитала — на 55 % и этосуксимида — на 90 % соответственно.

Существует несколько механизмов, вызывающих снижение концентрации ПЭП: уменьшение всасывания, уменьшения связывания с белками плазмы (преимущественно альбуминами), повышение активности метаболизма, ингибирование ферментов метаболизма приемом сопутствующих ЛС.

Метаболизм ПЭП в основном осуществляется цитохромом P450 подсемейств CYP 1–3. CYP2C9 является основным ферментом метаболизма фенитоина. Известно, что клиренс маркерного препарата фенитоина у беременных увеличен в 1,5 раза на протяжении всего периода гестации по сравнению с небеременными [9].

Активность CYP2C19 снижена во время беременности. В исследовании McGready R. и соавт. была продемонстрирована низкая активность CYP2C19 во время гестации у «нормальных» и «медленных» метаболизаторов по сравнению с послеродовым периодом [10].

Глюкуронирование является наиболее важной реакцией II фазы метаболизма ЛС. Эта реакция катализируется надсемейством ферментов УДФ-глюкуронилтрансферазами (UGT). UGT1A4 метаболизирует вещества до глюкуронидных соединений, что приводит к увеличению их полярности, и облегчает растворимость в воде и элиминацию. Известно большое количество субстратов UGT1A4 — амитриптилин, имипрамин, ламотриджин и др. Увеличение активности UGT1A4 отмечено в I триместре беременности [11]. Возрастание клиренса субстратов UGT1A4 приводит к снижению их концентрации во время беременности и потенциально к снижению эффективности. Снижение концентрации ламотриджина, субстрата UGT1A4, назначенного в терапевтических дозах во время беременности, может приводить к учащению частоты судорожных эпизодов. Рекомендуется проведение терапевтического лекарственного мониторинга концентрации ПЭП в каждом триместре и коррекция дозы препарата [12].

ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПЭП У БЕРЕМЕННЫХ

У пациентов, которые являются носителями аллельных вариантов гена *CYP2C9*, происходит уменьшение клиренса фенитоина, и они подвергаются большему риску развития нежелательных реакций (НР) со стороны ЦНС, серьезных кожных НР при введении обычной дозировки фенитоина. Фармакогенетическое тестирование по *CYP2C9* целесообразно проводить всем пациентам, получающим фенитоин, с целью оптимизации его дозирования. Риск кумуляции вальпроевой кислоты в крови в 1,8; 2,1 и 5,5 раза выше у «медленных» метаболитов при генотипах *CYP2C9*1/*3*, *CYP2C9*1/*2* и *CYP2C9*2/*3* соответственно, чем у распространенных «нормальных» метаболитов при генотипе *CYP2C9*1/*1* [13]. Носительство «медленных» аллельных вариантов *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* ассоциируется с замедлением биотрансформации вальпроевой кислоты, карбамазепина, топирамата, фенитоина, окскарбазепина, диазепамы, фенобарбитала, примидона в печени, более высокими их концентрациями в плазме крови, более высоким риском развития НР [14]. Частота встречаемости генотипов *CYP2C19*, соответствующих «медленным» метаболитам (носительство аллельных вариантов *CYP2C19*2* и *CYP2C19*3*) в европейской популяции, составляет 13 %. Наличие «быстрого» аллельного варианта *CYP2C19*17* обуславливает отсутствие противосудорожного действия данных ЛС. Наличие «быстрого» аллельного варианта *CYP1A2*1F* приводит к отсутствию противосудорожного действия карбамазепина, вальпроевой кислоты, фенобарбитала, диазепамы. В связи с этим данные ЛС рекомендуется назначать в дозировках на 30–50 % выше регламентируемых инструкцией, а у беременных требуется еще большее увеличение дозы этих ПЭП под контролем их концентрации в плазме крови [14].

Воздействие ПЭП на плод связано с функционированием транспортеров ЛС в плаценте, включая Р-гликопротеин *ABCB1*, протеин, ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью *MRP1*, и протеин резистентности рака груди *BCRP* [15]. Необходимо учитывать, что ПЭП могут быть субстратами транспортеров ЛС (например, Р-гликопротеина). В то же время пациенты, принимающие ПЭП, могут быть носителями аллельных вариантов *ABCB1*, что может сказываться на эффективности лечения. Полиморфизм гена *ABCB1*, кодирующего гликопротеин Р (наиболее изучены полиморфные маркеры *C1236T* и *C3435T*), вносит определенный вклад в межиндивидуальную вариабельность концентрации его ЛС-субстратов. Полагают, что тип транспортеров в плаценте и изменение их активности и экспрессии во время беременности могут иметь значение в модуляции эффективности и токсичности воздействия ЛС на плод [8].

Подобная генетическая предрасположенность в первую очередь стала предметом обсуждения в отношении ПЭП, которые потенциально могут вызывать большие и малые пороки развития. Результаты мультицентрового исследования, проведенного в Англии и США, показали, что гибель плода не отмечалась у женщин, получавших карбамазепин, в 3,6 % случаев, фенитоин — также в 3,6 % случаев, вальпроевую кислоту — в 2,9 % случаев. У женщин, получавших ламотриджин, гибель плода не была отмечена [16]. К настоящему времени накопилось достаточно фактов, свидетельствующих о возможном взаимоотношении между протективной функцией плаценты и чувствительностью к порокам развития у некоторых плодов, матери которых получали ПЭП во время беременности. Полиморфизм генов *ABCB1*, *MRP1*, *BCRP*, кодирующих соответствующие транспортные белки, может изменять степень воздействия противоэпилептических ЛС и, таким образом, риск тератогенности [16–18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменение концентрации ПЭП во время беременности — один из важнейших факторов, оказывающих влияние на частоту припадков у беременной с эпилепсией. Концентрация ПЭП в плазме крови уменьшается во время беременности с различной скоростью и возвращается к уровню, который существовал до беременности, в послеродовом периоде. Оптимальным условием лечения эпилепсии во время беременности является применение монотерапии с применением минимальной дозы антиконвульсантов. Для проведения рациональной фармакотерапии рекомендуется проведение терапевтического лекарственного мониторинга концентрации ПЭП в каждом триместре и коррекция дозы препарата. Кроме того, учитывая полиморфизм генов, кодирующих изоферменты метаболизма традиционных ПЭП, целесообразно рекомендовать генотипирование беременным с эпилепсией, а также женщинам, планирующим беременность.

Пренатальное воздействие ПЭП значительно повышает риск больших врожденных пороков плода с фонового уровня 1–2 % у здоровых женщин до 4–9 % у женщин с эпилепсией. На сегодняшний день существует мнение, что, наряду с другими причинами тератогенности, изменение активности и экспрессии транспортеров ЛС, и в первую очередь Р-гликопротеина, в плаценте во время беременности может изменять степень воздействия ПЭП и, таким образом, риск тератогенности. Необходимы дальнейшие исследования, и не исключено, что в будущем применение фармакогенетического тестирования позволит прогнозировать тератогенное действие соответствующих ПЭП у пациенток и назначать им другие препараты при планировании и необходимости сохранения беременности.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Meador K, Reynolds MW, Crean S, Fahrbach K, Probst C. Pregnancy Outcomes in Women with Epilepsy: a Systematic Review and Meta-analysis of Published Pregnancy Registries and Cohorts. *Epilepsy Res.* 2008;81(1):1–13.
2. Chen YH, Chiou HY, Lin HC, Lin HL. Affect of Seizures During Gestation on Pregnancy Outcomes in Women with Epilepsy. *Arch Neurol.* 2009;66(8):979–84.
3. Adab N, Kini U, Vinten J, Ayres J, Baker G, Clayton-Smith J, et al. The Longer Term Outcome of Children Born to Mothers with Epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75(11):1575–83.
4. Chong DJ, Lerman AM. Practice Update: Review of Anticonvulsant Therapy. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2016;16(4):39.
5. Hernandez-Diaz S, Smith CR, Shen A, Mittendorf R, Hauser WA, Yerby M, et al. Comparative Safety of Antiepileptic Drugs During Pregnancy. *Neurology* 2012;78(21):1692–9.
6. Mawhinney E, Craig J, Morrow J, Russell A, Smithson WH, Parsons L, et al. Levetiracetam in Pregnancy: Results from the UK and Ireland Epilepsy and Pregnancy Registers. *Neurology* 2013;80(4):400–5.
7. Шефер К, Шпильманн Х, Феттер К. Лекарственная терапия в период беременности и лактации. М.: Логосфера; 2010. [Schaefer C, Spielmann H, Vetter K. Drug Therapy During Pregnancy and Lactation. Moscow: Logosfera; 2010 (In Russ.)]
8. Isoherranen N, Kenneth E. Drug Metabolism and Transport During Pregnancy: How Does Drug Disposition Change During Pregnancy and What are the Mechanisms That Cause Such Changes? *Drug Metab Dispos.* 2013;41(2):256–62.
9. Yerby MS, Friel PN, McCormick K, Koerner M, Van Allen M, Leavitt AM, et al. Pharmacokinetics of Anticonvulsants in Pregnancy: Alterations in Plasma Protein Binding. *Epilepsy Res.* 1990;5(3):223–8.
10. McGready R, Stepniewska K, Seaton E, Cho T, Cho D, Ginsberg A, et al. Pregnancy and Use of Oral Contraceptives Reduces the Bio-transformation of Proguanil to Cycloguanil. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003;59(7):553–7.
11. Tran TA, Leppik IE, Blesi K, Sathanandan ST, Rimmel R. Lamotrigine Clearance During Pregnancy. *Neurology* 2002;59(2):251–5.
12. Pennell PB, Newport DJ, Stowe ZN, Helmers SL, Montgomery JQ, Henry TR. The Impact of Pregnancy and Childbirth on the Metabolism of Lamotrigine. *Neurology* 2004;62(2):292–5.
13. Шнайдер НА, Дмитренко ДВ, Говорина ЮБ, Муравьева АВ, Котловский ЮВ, Бочанова ЕН и др. Влияние полиморфизмов гена CYP2C9 на уровень вальпроевой кислоты в крови у женщин репродуктивного возраста с эпилепсией. *Фармакогенетика и фармакогеномика* 2015;(2):24–8. [Shneyder NA, Dmitrenko DV, Govorina YuB, Muravieva AV, Kotlovsky YuV, Bochanova EN, et al. Effect of Polymorphisms in the CYP2C9 Gene on Valproic Acid Levels in the Blood of Women in a Reproductive Age with Epilepsy. *Pharmacogenetics and Pharmacogenomics* 2015;(2):24–8 (In Russ.)]
14. Докукина ТВ, Махров МВ, Гайдукевич ИВ, Гилеп АА, Голубева ТС, Хлебказов ФП и др. Возможности оптимизации терапии противозепилептическими средствами с использованием фармакогенетических биомаркеров. Эпилепсия и пароксизмальные состояния 2015;(4):22–8. [Dokukina TV, Makhrov MV, Gaydukevich IV, Gilep AA, Golubeva TS, Khlebokazov FP, et al. Opportunities to Optimize Antiepileptic Therapy with Use of Pharmacogenetic Biomarkers. *Epilepsy and Paroxysmal Conditions* 2015;(4):22–8 (In Russ.)]
15. Cerveny L, Pavek P, Malakova J, Stauf F, Fendrich Z. Lack of Interactions Between Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2) and Selected Antiepileptic Agents. *Epilepsia* 2006;47(3):461–8.
16. Atkinson D, Brice-Bennet S, D'Souza SW. Antiepileptic Medication During Pregnancy: Does Fetal Genotype Affect Outcome? *Pediatr Res* 2007;62(2):120–7.
17. Сокова ЕА. Мониторинг безопасности зарегистрированных лекарственных средств у беременных: фармакогенетические аспекты. Безопасность и риск фармакотерапии 2015;(3):30–5. [Sokova EA. Monitoring Post-Approval Drug Safety in Pregnancy: Pharmacogenetic Aspects. *Safety and Risk of Pharmacotherapy* 2015;(3):30–5 (In Russ.)]
18. Пастернак ЕЮ, Аляутдин РН, Романов БК. Трансформация взглядов на тератогенность противозепилептической терапии. Безопасность и риск фармакотерапии 2014;(4):12–7. [Pasternak EYu, Alyautdin RN, Romanov BK. Transformation of Views on the Teratogenic Effects of Antiepileptic Drugs. *Safety and Risk of Pharmacotherapy* 2014;(4):12–7 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Сокова Елена Андреевна. Ведущий научный сотрудник отдела взаимодействия лекарственных средств и рациональной фармакотерапии Центра клинической фармакологии, канд. мед. наук, доцент
Архипов Владимир Владимирович. Начальник отдела взаимодействия лекарственных средств и рациональной фармакотерапии Центра клинической фармакологии, д-р мед. наук, проф.
Демидова Ольга Александровна. Научный сотрудник отдела взаимодействия лекарственных средств и рациональной фармакотерапии Центра клинической фармакологии, канд. фарм. наук

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет). Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, д. 8, стр. 2
Чилова Раиса Алексеевна. Профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета, д-р мед. наук, проф.
Проклова Гузель Фаритовна. Лаборант кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета
Пикуза Татьяна Владимировна. Врач акушер-гинеколог Клиники акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева

Статья поступила 29.11.2017
Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Elena A. Sokova. Leading Research Associate of the Department of Drug Interactions and Rational Pharmacotherapy of the Clinical Pharmacology Centre. Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor
Vladimir V. Arkhipov. Head of the Department of Drug Interactions and Rational Pharmacotherapy of the Clinical Pharmacology Centre. Doctor of Medical Sciences, Professor
Olga A. Demidova. Research Associate of the Department of Drug Interactions and Rational Pharmacotherapy of the Clinical Pharmacology Centre. Candidate of Pharmaceutical Sciences

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Trubetskaya Street, Moscow 119991, Russian Federation

Raisa A. Chilova. Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1 of the Faculty of Medicine. Doctor of Medical Sciences, Professor
Guzel F. Proklova. Laboratory Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1 of the Faculty of Medicine
Tatiana V. Pikuza. Obstetrician and Gynecologist of V. F. Snegirev Clinic of Obstetrics and Gynecology

Article was received 29 November 2017
Accepted for publication 14 May 2018

Лекарственные средства, содержащие змеиный яд: история развития, номенклатура, оценка подлинности

* В. Э. Григорьева, О. В. Гунар, Н. Г. Сахно, Г. М. Булгакова, Н. В. Молчан

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Резюме. Представлены общие данные о химическом составе, свойствах ядов змей и истории их применения в медицинской практике. Рассмотрены отличия, характеризующие яд змей той или иной систематической группы. Отмечено, что яды продолжают оставаться ценным источником новых лекарств. Проведено сравнение существующих методов анализа ядов (иммунологического, хроматографического, электрофоретического, масс-спектрометрического). Особое внимание уделено методическим особенностям определения их подлинности в зависимости от объекта и цели анализа. Выполнено сравнение различных модификаций реакции преципитации между собой. Выявлены преимущества и недостатки существующих методов. Показано, что иммунологические методы ввиду своей доступности и простоты исполнения чаще всего применяются при анализе ядов в биологических средах для диагностики источника отравления. А инструментальные методы благодаря большей информативности незаменимы для детальных исследований состава ядов при их изучении и сравнении. Проведен ретроспективный анализ данных, полученных при испытании подлинности змеиных ядов за период с 2006 по 2017 г. Установлено, что нормативная документация на отдельные лекарственные средства в ряде случаев не содержит указаний на использование конкретного вида реакции преципитации или описание методик. Сделан вывод о целесообразности модификации существующего метода, выбора условий пробоподготовки или разработки альтернативных методов для определения подлинности змеиных ядов, входящих в состав лекарственных средств.

Ключевые слова: лекарственные средства; змеиный яд; экспертиза качества; подлинность; реакция преципитации
Для цитирования: Григорьева ВЭ, Гунар ОВ, Сахно НГ, Булгакова ГМ, Молчан НВ. Лекарственные средства, содержащие змеиный яд: история развития, номенклатура, оценка подлинности. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):77–83. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-77-83>
* **Контактное лицо:** Григорьева Виктория Эдуардовна; Grigorieva@expmed.ru

Drugs Containing Snake Venom: History of Development, Nomenclature, Identification

* V. E. Grigorieva, O. V. Gunar, N. G. Sakhno, G. M. Bulgakova, N. V. Molchan

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The article presents general data on the chemical composition and properties of snake venoms, as well as the history of their use in medical practice. It considers the differences characteristic of the venom of snakes belonging to different systematic groups. It demonstrates that venoms remain a valuable source of new medicines. The article compares existing methods of venom analysis (immunological, chromatographic, electrophoretic, mass spectrometric). Particular attention is paid to specific methodological aspects of identification testing depending on the object and purpose of the analysis. The article also compares different modifications of the precipitation reaction. It highlights the advantages and disadvantages of existing methods. The affordability and simplicity of immunological methods accounts for their wide use in the analysis of poisons in biological media which helps to determine the cause of poisoning. While greater informativeness of instrumental methods makes them a perfect toll for detailed examination of poison composition during poisons research and comparison. The authors of the article performed a retrospective analysis of data obtained in identification testing of snake venoms during the period from 2006 to 2017. It has been established that manufacturer specifications for individual medicinal products in some cases do not contain instructions on the use of a specific type of precipitation reaction or the description of test procedures. It was concluded that some modifications should be made to the existing method, the choice of conditions for sample preparation should be considered, or alternative methods for identification of snake venoms in medicinal products should be developed.

Key words: medicines; snake venom; quality evaluation; identification; precipitation reaction
For citation: Grigorieva VE, Gunar OV, Sakhno NG, Bulgakova GM, Molchan NV. Drugs Containing Snake Venom: History of Development, Nomenclature, Identification. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):77–83. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-77-83>
* **Contact person:** Viktoria E. Grigorieva; Grigorieva@expmed.ru

Змеиный яд — сложный комплекс биологически активных соединений, являющийся ценным сырьем для фармацевтической науки и промышленности. Применяется в производстве противоядных сывороток [1], а также в составе лекарственных препаратов (ЛП) в качестве болеутоляющего, противовоспалительного и местнораздражающего средства при заболеваниях периферической нервной системы.

Отдельные компоненты ядов (эндонуклеаза, фосфолипаза А₂, фосфодиэстераза, оксидаза L-аминокислот) выпускаются промышленностью и используются в качестве химических реактивов для диагностики заболеваний крови и нервной системы, для моделирования ряда патологических синдромов и изучения механизма свертывания крови [2, 3].

Некоторые яды послужили основой для разработки новых лекарственных средств. К наиболее ярким примерам таких препаратов можно отнести полученные путем химической модификации ядов пептиды:

- каптоприл, разработанный на основе фактора потенцирования брадикинина (ФПБ), который является пептидом в яде копьеголовой гадюки (*Bothrops jararaca*) [4];

- эпitifибатид, открытый случайно при анализе гемолитических компонентов яда карликовой южноазиатской гремучей змеи;

- тирофибан, полученный из яда песчаной эфы.

Кроме того, клинические и экспериментальные исследования в области иммунофармакологии и иммунотоксикологии показали важность изучения иммунологических характеристик змеиных ядов и исследования механизма их действия на иммунную систему и общую сопротивляемость организма. Возможной мишенью для селективной иммуномодуляции являются потенциал-управляемые калиевые каналы, которые способны ингибироваться под действием β-бунгаротоксина (компонента яда аспидовых змей *Bungarus multicinctus*) [5].

Протеолитические ферменты из яда гадюки обыкновенной представляют интерес в качестве природных модуляторов калиевых каналов в практике лечения сердечных патологий и онкологических заболеваний [6].

Изучение свойств и состава змеиных ядов уже многие десятилетия привлекает внимание специалистов различных профилей. Количество публикаций на эту тему за последние годы только увеличивается, а использование современных инструментальных методов, позволяющих выделять и идентифицировать отдельные компоненты ядов, открывает дальнейшие перспективы для новых исследований.

Цель работы — сравнительный анализ методов обнаружения и идентификации змеиных ядов в различных объектах и оценка их пригодности для определения подлинности ядов в лекарственных средствах.

ИСТОРИЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

Самые ранние из сохранившихся синопсисов о ядовитых животных восходят к Аристотелю (384—

322 гг. до н.э.). Однако первые научные (в современном понимании) исследования начали проводиться лишь в XVII—XVIII вв. Точный исторический период, когда люди начали использовать яд в медицинских целях, определить сложно. Многие врачи Древней Греции описывали действие отдельных змеиных ядов и их смесей. В Древнем Риме животные яды использовались при изготовлении лекарств от оспы, лепры, лихорадки, а также ранозаживляющих средств. Применение змеиного яда было широко распространено в Средние века, вплоть до XIX в. он являлся частью многих противоядий и антидотов, в том числе знаменитой смеси «териак». Начиная со второй половины XIX в. использование змеиных ядов в медицине еще больше расширилось. Так, например, сообщалось, что страдающие эпилептическими припадками пациенты излечивались после укуса гремучей змеи, а в 1934 г. было обнаружено, что яд кобры в малых дозах обладает потенциальным обезболивающим действием, во много раз превосходящим действие морфина. С того времени змеиный яд стал частью лекарственных средств от астмы, гипертензии и лепры. Однако обоснованное применение змеиных ядов в современной медицине началось только в XX в. после изучения их белкового состава [7].

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И КЛАССИФИКАЦИЯ

Современные методы фракционирования смесей органических соединений (электрофорез, ультрацентрифугирование, ультрафильтрация, фиксация на ионообменных смолах, хроматография и др.) позволили провести разделение белков, входящих в состав змеиных ядов, определить их биохимические свойства и токсичность.

Яд представляет собой сложную смесь гидролитических ферментов, неэнзиматических низко- и высокомолекулярных протеинов и небольшое число других органических и неорганических молекул (пигментов, минеральных компонентов и микроэлементов) [8]. Полная характеристика белков змеиного яда достаточно сложна даже при доступности современных физико-химических методов анализа из-за наличия множественных изоформ токсинов [9, 10].

Многие ферменты являются общими для ядов змей различных семейств, например фосфолипаза А₂, гиалуронидаза (мукополисахаридаза), оксидаза L-аминокислот, фосфодиэстераза, 5'-нуклеотидаза, и другие [11, 12], что отражает тесную филогенетическую связь ядовитых желез с экзокринными железами пищеварительного тракта.

В то же время существуют и отличия, характеризующие яд змей той или иной систематической группы [13]. Так, в состав яда аспидов и морских змей входят токсические полипептиды (нейротоксины), нарушающие передачу возбуждения в нервно-мышечных синапсах и тем самым вызывающие вялый паралич скелетной и дыхательной мускулатуры. Напротив, в ядах гадюковых и ямкоголовых змей ацетилхолинэстераза отсутствует, но зато широко представлены протеолитические ферменты

с трипсино-, тромбино- и калликреиноподобным действием [6, 14]. В результате отравления этими ядами развиваются геморрагические отеки, обусловленные как повышением сосудистой проницаемости, так и нарушениями в свертывающей системе крови. Для яда гюрзы, который по токсичности уступает только яду кобр, характерно присутствие эндопептидаз, гидролаз аргининовых эфиров, кининогеназ [15].

Условно яды змей могут быть классифицированы по их происхождению и характеру воздействия на организм человека (рис. 1).

Нейротоксические яды обладают курареподобным действием, останавливают нейромышечную передачу, в результате чего наступает смерть от паралича. Гемовазотоксические — вызывают сосудистый спазм, сосудистую проницаемость и отек тканей и внутренних органов [2].

В России известно 13 опасных и ядовитых для человека змей [16] (табл. 1). Змеи, относящиеся к этим семействам, отличаются по своей биологии, строению ядовитого аппарата, химическому составу яда и механизмам его токсического действия.

На сегодняшний день в Государственный реестр лекарственных средств (ГРЛС) включены:

- три фармацевтические субстанции (яд гадюки обыкновенной сухой, яд гадюки степной сухой, яд гюрзы);
- сыворотка против яда гадюки обыкновенной лошадиная очищенная концентрированная жидкая (в виде раствора для инъекций);
- шесть лекарственных препаратов в форме мазей, содержащие в своем составе яд гадюки (Випросал В®, Алвипсал®, Салвисар®), яд гюрзы (Випрапин, Випралгон) и яд кобры (Наятокс®).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

В настоящее время в мировой практике идентификацию змеиных ядов проводят с помощью методов иммунологического анализа [17–20], масс-спектрометрии [9, 11, 21–24], электрофореза [10, 22, 25, 26] или сочетания этих методов (табл. 2). Часто масс-спектрометрическому детектированию предшествует хроматографическое или электрофоретическое разделение компонентов яда или их частичный ферментативный гидролиз.

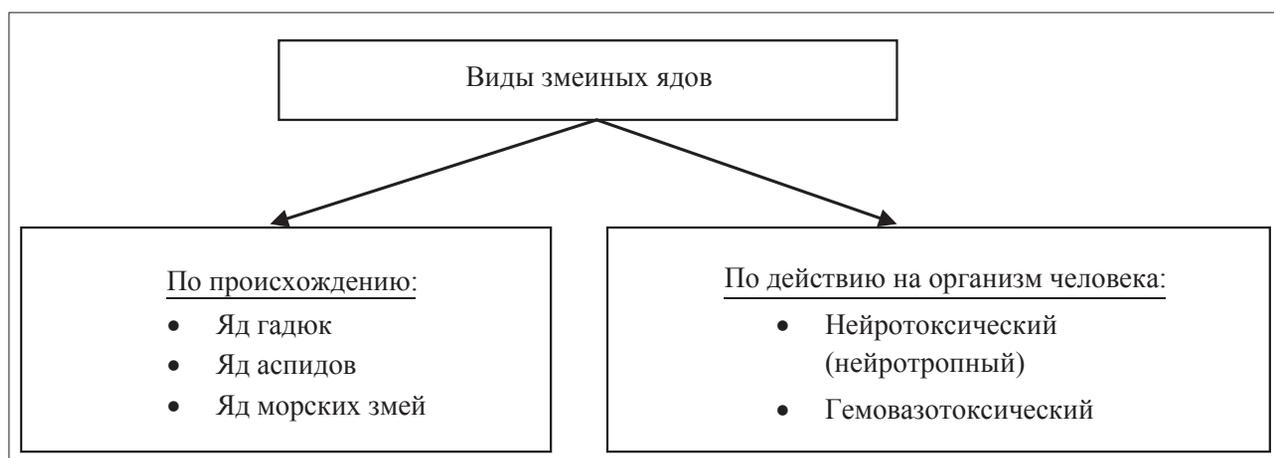


Рис. 1. Классификация змеиных ядов

Таблица 1

ВИДЫ ЯДОВИТЫХ ЗМЕЙ, ОБИТАЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Семейство	Ядовитые и опасные виды, принадлежащие фауне России
Ужеобразные (<i>Colubridae</i>)	- разноцветный полоз (<i>Coluber ravergieri</i>); - тигровый уж (<i>Rhabdophis tigrina</i>); - обыкновенная медянка (<i>Coronella austriaca</i>)
Гадюковые (<i>Viperidae</i>)	- гадюка обыкновенная (<i>Vipera berus</i>); - гадюка степная (<i>V. ursini</i>); - гадюка кавказская (<i>V. kaznakovi</i>); - гадюка малоазиатская (<i>V. xanthina</i>); - гадюка носатая (<i>V. ammodytes</i>); - гюрза (<i>V. lebetina</i>); - эфа (<i>Echis carinatus</i>)
Ямкоголовые (<i>Crotalidae</i>)	- обыкновенный щитомордник (<i>Agkistrodon halys</i>); - восточный щитомордник (<i>A. blomhoffi</i>)
Аспидовые (<i>Elapidae</i>)	- среднеазиатская кобра (<i>Naja oxiana</i>)

Таблица 2

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЗМЕИНЫХ ЯДОВ

Тип метода	Принцип	Преимущества
Иммунологический	Специфическая реакция «антиген-антитело»	- уникальная специфичность иммунохимической реакции - простота методов регистрации - низкая цена
Матрично-активированная лазерная десорбция (MALDI-ToF MS)	«Мягкая» ионизация лазерным излучением без деградации крупных биомолекул с последующим времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием	- скорость выполнения анализа - высокая производительность - эффективность метода для определения таксономической принадлежности разных видов и групп
Последовательный двухмерный гель-электрофорез (2-D electrophoresis)	Разделение белков по размеру и молекулярной массе	- способность фракционировать смеси, содержащие более 100 белков - разделение макромолекул по размеру, пространственной конфигурации, вторичной структуре, электрическому заряду

Таблица 3

МОДИФИКАЦИИ РЕАКЦИИ ПРЕЦИПИТАЦИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЗМЕИНЫХ ЯДОВ

Метод	Среда	Использование
Реакция двойной иммунодиффузии по Оухтерлони (рис. 2а)	- агаровый гель	- определение неизвестных антигенов или антител; - проверка сходства между различными антигенами
Реакция кольцепреципитации (рис. 2б)	- полужидкий гель агара; - агароза	- определение наличия антигенов в органах и тканях
Реакция радиальной иммунодиффузии (рис. 2в)	- агаровый гель	- изучение токсигенности
Иммуноэлектрофорез (рис. 2г)	- агаровый гель; - агароза	- количественное определение белков и их идентификация
Реакция флокуляции (по Рамону) (рис. 2д)	- сыворотка крови	- определение активности антитоксической сыворотки или анатоксина

При производстве фармацевтических препаратов на основе белков-индукторов системы гомеостаза входной контроль сырья, которым является яд змей рода *Agkistrodon*, проводят хроматографическими методами [27].

Для контроля качества сухого яда гадюки обыкновенной определяют активность протеолитических ферментов, токсичность и органолептические характеристики [28]. Подлинность змеиных ядов, входящих в состав лекарственных средств, подтверждают методом иммунодиффузии, основанным на реакции преципитации (РП) — образовании антителами в присутствии антигена нерастворимого осадка (преципитата). Существуют различные модификации РП, применимые для изучения змеиных ядов (табл. 3).

Иммунологические методы уступают инструментальным в точности и информативности, поскольку их применение не гарантирует в полной мере исключение ложноположительных или ложноотрицательных результатов [11, 29]. Однако их относительная простота для выполнения анализа, доступность и возможность обойтись без дорогостоящего оборудования делают иммунологические методы, и в частности метод иммунодиффузии, предпочтительными при определении подлинности змеиных ядов

в биологических средах, а также в лекарственных средствах.

За последние 11 лет (2006–2017 гг.) в лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России был выполнен анализ подлинности ядов в 16 сериях лекарственных препаратов. Нормативная документация на отдельные лекарственные средства в ряде случаев не содержит указаний на использование конкретного вида РП или описание методик. Испытания проводили методом двойной иммунодиффузии в модификации С. L. Oakley, A. J. Fulthorpe: гель, содержащий антитела, и раствор антигенов разделены столбиком чистого геля. В результате встречной диффузии антигенов и антител зоны их оптимального соотношения в промежуточном геле не смещаются, и формирующиеся полосы преципитации в процессе реакции не мигрируют (рис. 3). Обнаружение в слое нейтрального агара линий преципитации подтверждает подлинность змеиного яда в препарате. В отрицательной пробе смесь геля и раствора антигенов остается прозрачной.

В качестве отрицательного контроля вместо раствора образца использовали раствор натрия хлорида 0,9 %, при этом наличие колец преципитации не наблюдалось.

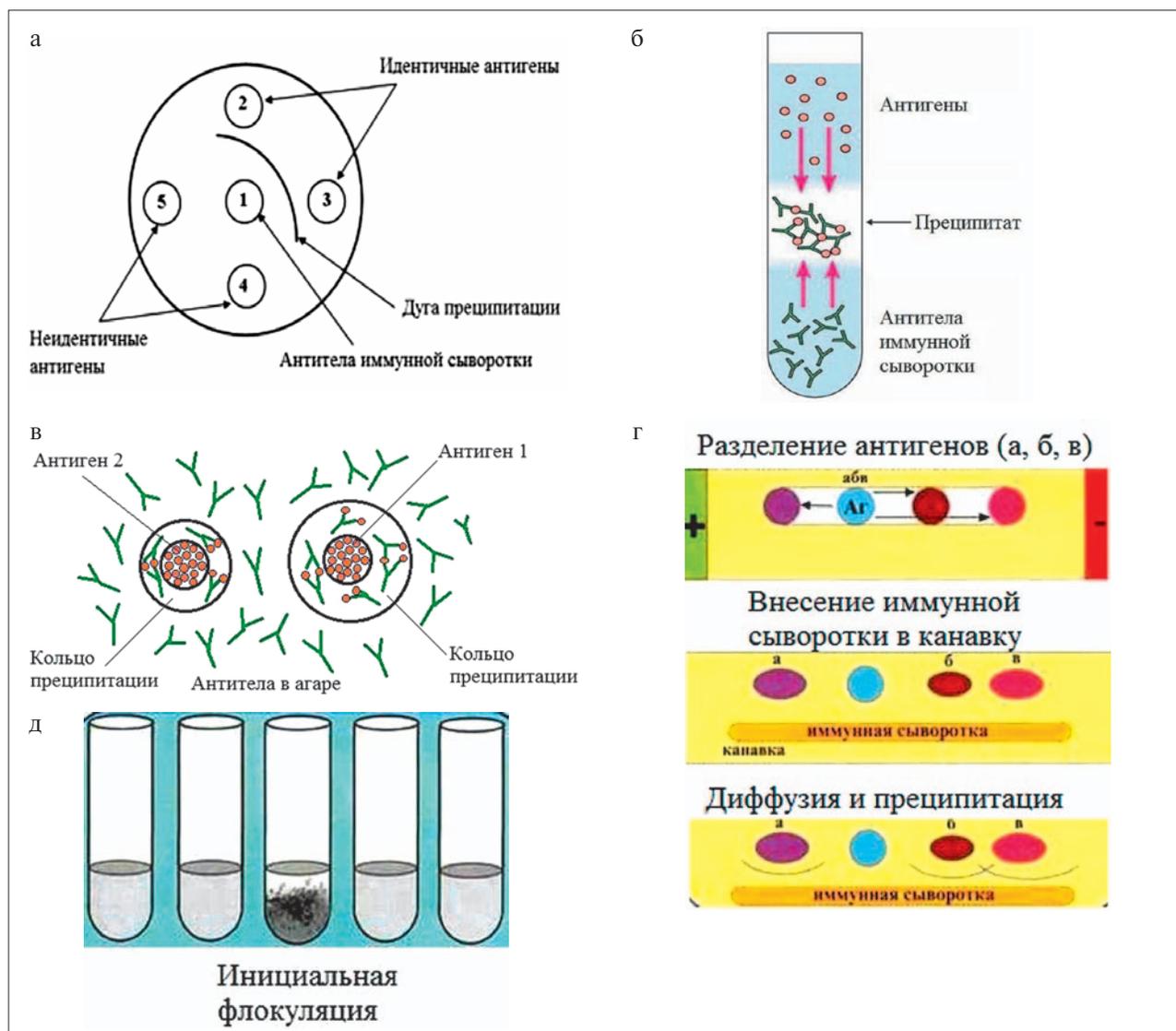


Рис. 2. Схемы модификаций реакции преципитации

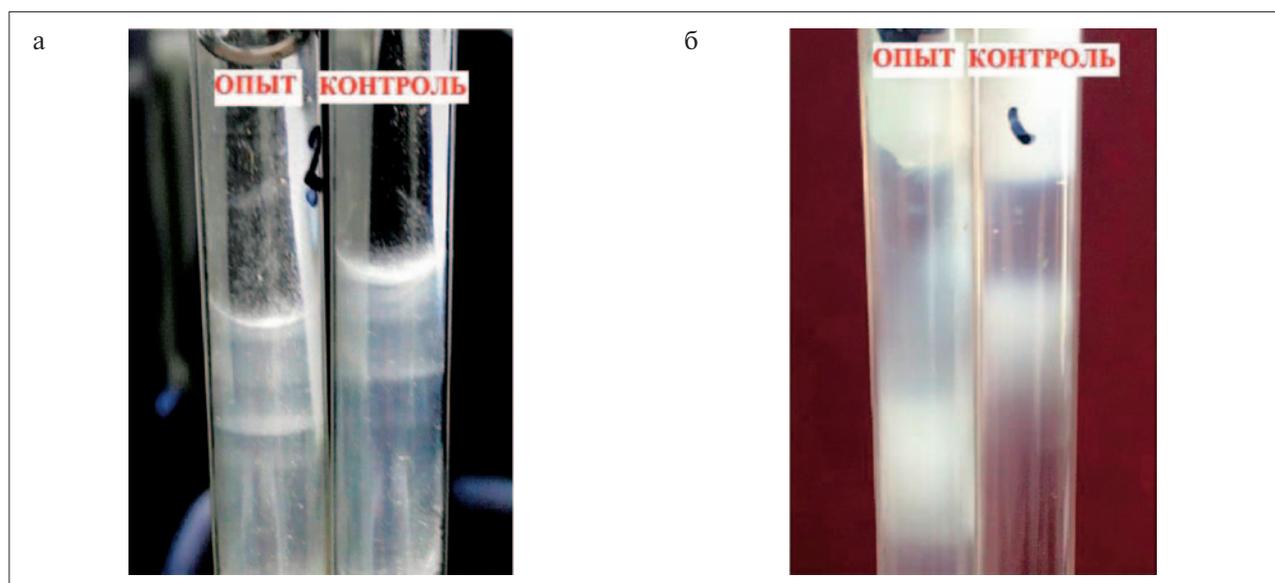


Рис. 3. Определение подлинности змеиного яда в субстанции яд гюрзы кавказской (а) и препарата в лекарственной форме мазь, с ядом гадюки в составе (б)

Таким образом, методы иммунодиффузии позволяют выявлять специфические антигены в таких сложных системах, как лекарственные средства. Однако их использование ограничено, так как они могут быть применены для анализа только растворимых антигенов и антител, при взаимодействии которых образуются преципитаты. Для визуальной регистрации результата РП необходимы высокие концентрации компонентов и длительное время проведения реакции. К тому же результаты такого анализа не всегда можно однозначно интерпретировать и в большинстве случаев они носят качественный или полуколичественный характер. Кроме того, визуальный учет результатов может быть затруднен в лекарственной форме «мазь» из-за мешающего влияния компонентов основы. Поэтому при разработке и/или пересмотре нормативной документации на мази, содержащие змеиный яд, следует уделить внимание выбору условий подготовки проб, чтобы повысить точность результатов анализа.

Вместе с тем необходимо признать, что иммунологические методы, и в частности реакция преципитации, в силу простоты исполнения имеют неоспоримое преимущество при рутинном контроле качества лекарственных средств по сравнению с инструментальными методами, которые больше подходят для решения исследовательских задач. Поэтому можно ожидать, что для совершенствования нормативной документации на препараты, содержащие змеиный яд, будут разрабатываться варианты иммунологических методов, например, иммуноферментный. Так, разработка чувствительных и специфичных тест-систем для определения ядов в биологических жидкостях, как описано в исследованиях [17, 18], могла бы решить вопрос не только диагностики отравлений, но и определения подлинности ядов в лекарственных препаратах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совершенствование методов оценки подлинности змеиных ядов в составе ЛП продолжает оставаться актуальной задачей при разработке нормативной документации на лекарственные средства. При этом представляется целесообразной разработка новых вариантов иммунологических методов, в частности иммуноферментного анализа.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Перелыгина ОВ, Комаровская ЕИ, Мухачева АВ, Саяпина ЛВ, Обухов ЮИ, Бондарев ВП. Гетерологичные сывороточные препараты в практике современной медицины. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017;17(1):41–7. [Perelygina OV, Komarovskaya EI, Mukhacheva AV, Sayarina LV, Obukhov Yul, Bondarev VP. Clinical Experience with Heterologous Serum Products. BIOpreparation. Prevention, Diagnosis, Treatment 2017;17(1):41–7 (In Russ.)]
2. Коноплева ММ. Лекарственное сырье животного происхождения и природные продукты. Вестник фармации 2012;(1):74–82. [Konopleva MM. The Medicinal Raw Materials of Animal Origin and Natural Products. Vestnik of Pharmacy 2012;(1):74–82 (In Russ.)]

3. Эгамбердиева ЛН. Иммуноактивные препараты животного происхождения. Журнал теоретической и клинической медицины 2017;(1):44–51. [Egamberdieva LN. Immunoactive Drugs of Animal Origin. Journal of Theoretical and Clinical Medicine 2017;(1):44–51 (In Russ.)]
4. Cushman DW, Ondetti MA. History of the Design of Captopril and Related Inhibitors of Angiotensin Converting Enzyme. Hypertension 1991;17(4):589–92.
5. Барнова ДВ, Шелухина ИВ, Кузьменков АИ, Кудрявцев ДС, Василевский АА, Фефанов АВ и др. Действие токсинов из ядов змей на потенциал-управляемые калиевые каналы. В кн.: Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии. М.; 2017. С. 88. [Barkova DV, Shelukhina IV, Kuzmenkov AI, Kudryatsev DS, Vasilevsky AA, Feofanov AV, et al. The Effect of Toxins from Snake Venoms on Potentially Controlled Potassium Channels. In: Prospective Directions of Physico-Chemical Biology and Biotechnology. Moscow; 2017. P. 88 (In Russ.)]
6. Мурзаева СВ, Маленев АЛ, Бакиев АГ, Миронова ГД. Перспективы использования ядов змей в медицинской практике. Успехи современного естествознания 2008;(7):104. [Murzaeva SV, Malenev AL, Bakiev AG, Mironova DG. Prospects for the Use of Snake Venoms in Medical Practice. Advances in Current Natural Sciences 2008;(7):104 (In Russ.)]
7. Корпачев ВВ. Целебная фауна. М.: Наука; 1989. [Korpachev VV. Healing Fauna. Moscow: Nauka; 1989 (In Russ.)]
8. Дханаджая БЛ, Д'Сауза КДЖМ. Общее представление о нуклеазах из яда змей: ДНКаза, РНКаза и фосфодиэстераза (обзор). Биохимия 2010;75(1):5–11. [Dhanadhaya BL, D'Souza CJM. An Overview on Nuclease Enzymes (DNase, RNase, and Phosphodiesterase) in Snake Venoms. Biochemistry 2010;75(1):5–11 (In Russ.)]
9. Chapeaurouge A, Reza MA, Mackessy SP, Carvalho PC, Valente RH, Teixeira-Ferreira A, et al. Interrogating the Venom of the Viperid Snake *Sistrurus Catenatus Edwardsii* by a Combined Approach of Electrospray and MALDI Mass Spectrometry. PLoS One 2015;10(5):e0092091.
10. Melani RD, Skinner OS, Fornelli L, Domont GB, Compton PD, Kelleher NL. Mapping Proteoforms and Protein Complexes From King Cobra Venom Using Both Denaturing and Native Top-down Proteomics. Mol Cell Proteomics 2016;15(7):2423–34.
11. Дубровский ЯА, Подольская ЕП. Определение токсинов пептидной природы методом MALDI-MS (обзор). Научное приборостроение 2010;20(4):21–35. [Dubrovsky YaA, Podolskaya EP. Peptide Toxins Identification by MALDI-MS Method. Nauchnoe Priborostroenie 2010;20(4):21–35 (In Russ.)]
12. Дубровский ПВ, Уткин ЮН. Цитотоксины кобр: структурная организация и антибактериальная активность. Acta Naturae (русскоязычная версия) 2014;6(3):12–9. [Dubovsky PV, Utkin YuN. Cobra Cytotoxins: Structural Organization and Antibacterial Activity. Acta Naturae (Russian edition) 2014;6(3):12–9 (In Russ.)]
13. Гелашвили ДБ, Крылов ВН, Романова ЕБ. Зоотоксикология: биоэкологические и биомедицинские аспекты. Нижний Новгород: Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского; 2015. [Gelashvili DB, Krylov VN, Romanova EB. Zootoxinology: Bioecological and Biomedical Aspects. Nizhny Novgorod: N. I. Lobachevsky National Research Nizhny Novgorod State University; 2015 (In Russ.)]
14. Горелов РА. Ядовитые змеи Самарской области и свойства их ядов. Тольятти: Кассандра; 2017. [Gorelov RA. Poisonous Snakes of the Samara Region and the Properties of their Poisons. Togliatti: Cassandra; 2017 (In Russ.)]
15. Исмаилова ЗС. Практическое значение горзы *Macrovipera lebetina* (Linnaeus, 1758) в Дагестане. Вестник Дагестанского государственного университета 2011;(6):175–7. [Ismailova ZS. The Practical Importance of the Gurez *Macrovipera lebetina* (Linnaeus, 1758) in Dagestan. Bulletin of Dagestan State University 2011;(6):175–7 (In Russ.)]
16. Ананьева НБ, Орлов НЛ, Халиков РГ, Даревский ИС, Рябов СА, Барабанов АВ. Атлас пресмыкающихся Северной Евразии: таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус. Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН; 2004. [Ananieva NB, Orlov NL, Khalikov RG, Darevsky IS,

- Ryabov SA, Barabanov AV. Atlas of Reptiles of Northern Eurasia: Taxonomic Diversity, Geographical Distribution and Environmental Status. Saint Petersburg: Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences; 2004 (In Russ.)]
17. Gao JF, Wang J, Qu YF, Ma XM, Ji X. Immunoreactivity Between Venoms and Commercial Antiserums in Four Chinese Snakes and Venom Identification by Species-specific Antibody. *J Immunol Methods* 2013;387(1–2):211–8.
 18. Shaikh IK, Dixit PP, Pawade BS, Waykar IG. Development of dot-ELISA for the Detection of Venoms of Major Indian Venomous Snakes. *Toxicol.* 2017;139:66–73.
 19. Brgles M, Kurtovic T, Kovacic L, Krizaj I, Barut M, Lang Balija M, et al. Identification of Proteins Interacting with Ammodytoxins in *Vipera ammodytes* Ammodytes Venom by Immuno-affinity Chromatography. *Anal Bioanal Chem.* 2014;406(1):293–304.
 20. Van Dong L, Quyen le K, Eng KH, Gopalakrishnakone P. Immunogenicity of Venoms from Four Common Snakes in the South of Vietnam and Development of ELISA Kit for Venom Detection. *J Immunol Methods* 2003;282(1–2):13–31.
 21. Рамазанова АС. Структурно-функциональные исследования новых токсичных белков яда гадюки *Vipera Nikolskii*: автореф. дис. ... канд. хим. наук. М.; 2011. [Ramazanova AS. Structural and Functional Studies of New Toxic Proteins of Venom *Vipera Nikolskii*. *Cand. Chem. Sci* [thesis]. Moscow; 2011 (In Russ.)]
 22. Bocian A, Urbanik M, Hus K, Lyskowski A, Petrilla V, Andrejczakova Z, et al. Proteomic Analyses of *Agkistrodon contortrix contortrix* Venom Using 2D Electrophoresis and MS Techniques. *Toxins* 2016;8(12):372.
 23. Brgles M, Bertosa B, Winkler W, Kurtovic T, Allmaier G, Marchetti-Deschmann M, et al. Chromatography, Mass Spectrometry, and Molecular Modeling Studies on Ammodytoxins. *Anal Bioanal Chem.* 2012;402(9):2737–48.
 24. Кухтина ВВ, Вайзе К, Осипов АВ, Старков ВГ, Титов МИ, Есипов СЕ и др. MALDI-масс-спектрометрия для идентификации новых белков в яде змей. *Биоорганическая химия* 2000;26(11):803–7. [Kukhtina VV, Vaize K, Osipov AV, Starkov VG, Titov MI, Esipov SE, et al. The MALDI Mass Spectrometry in the Identification of New Proteins in Snake Venoms. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 2000;26(11):721–4 (In Russ.)]
 25. Бакиев АГ, Гаранин ВИ, Гелашвили ДБ, Горелов РА, Доронин ИВ, Зайцева ОВ и др. Гадюки (*Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera*) Волжского бассейна. Ч. 3. Тольятти: Кассандра; 2015. [Bakiev AG, Gararin VI, Gelashvili DB, Gorelov RA, Doronin IV, Zaitseva OV, et al. *Vipers (Reptilia: Serpentes: Viperidae: Vipera)* of the Volga Basin. Part 3. Togliatti: Cassandra; 2015 (In Russ.)]
 26. Munawar A, Trusch M, Georgieva D, Hildebrand D, Kwiatkowski M, Behnken H, et al. Elapid Snake Venom Analyses Show the Specificity of the Peptide Composition at the Level of Genera *Naja* and *Notechis*. *Toxins* 2014;6(3):850–68.
 27. Краснобрижая ЕН, Волков ГЛ, Гаврилюк СП, Карбовский ВЛ, Буянбадрах Б, Бямбасурэн С и др. Контроль качества яда змей рода *Agkistrodon* на входном этапе технологического процесса. *Биофармацевтический журнал* 2009;1(4):42–8. [Krasnobrizhaya EN, Volkov GL, Gavrilyuk SP, Karbovskiy VL, Buyanbadrakh B, Byambasuren S, et al. The Incoming Quality Control of the Snake *Agkistrodon* Venom. *Biopharmaceutical Journal* 2009;1(4):42–8 (In Russ.)]
 28. Зайцева ОВ, Маленев АЛ, Бакиев АГ. Исследования свойств яда обыкновенной гадюки в Волжском бассейне: практическое значение полученных результатов. Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии 2011;20(1):180–4. [Zaitseva OV, Malenev AL, Bakiev AG. Research of Properties of the Common Viper's Venom in the Volga River Basin: Practical Value the Received Results. *Samara Bend: Problems of Regional and Global Ecology* 2011;20(1):180–4 (In Russ.)]
 29. Theakston RD, Laing GD. Diagnosis of Snakebite and the Importance of Immunological Tests in Venom Research. *Toxins* 2014;6(5):1667–95.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Григорьева Виктория Эдуардовна. Эксперт 2-й категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Гунар Ольга Викторовна. Начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д-р фарм. наук

Сахно Надежда Геннадьевна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук

Булгакова Галина Михайловна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Молчан Нина Валерьевна. Научный редактор отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности Центра планирования и координации НИР, канд. фарм. наук

Статья поступила 22.02.2017

Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Viktoria E. Grigorieva. 2nd Professional Category Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Olga V. Gunar. Head of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Doctor of Pharmaceutical Sciences

Nadezhda G. Sakhno. Leading Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences

Galina M. Bulgakova. Leading Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Nina V. Molchan. Scientific Editor of the Department for Editorial and Publishing Activities, and Intellectual Property Protection of the Centre for Planning and Coordination of Scientific Activities. Candidate of Pharmaceutical Sciences

Article was received 22 February 2017

Accepted for publication 14 May 2018



Особенности экспертизы «польза/риск» лекарственных растительных препаратов: анализ регистрационных досье

* Н. Г. Оленина, Н. С. Михеева, Н. М. Крутикова

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Резюме. Применение лекарственных растений в лечебных целях (фитотерапия) остается актуальным и в настоящее время. Целью работы является анализ поступивших на экспертизу регистрационных досье на лекарственные растительные препараты в соответствии с требованиями, предъявляемыми к их формированию на основе действующего российского законодательства и методологических подходов к экспертизе отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственных растительных препаратов. Представлены особенности структуры общего технического документа, формируемого для регистрации лекарственных растительных препаратов, в отношении документации по доклиническим и клиническим исследованиям. Рассмотрены современные требования, предъявляемые к оценке безопасности и эффективности лекарственных растительных препаратов в Российской Федерации. Проанализированы особенности проведения доклинических (токсикологических, фармакокинетических и фармакологических) и клинических исследований препаратов. На основании результатов анализа выявлены основные ошибки в подготовке необходимых документов при формировании регистрационного досье на лекарственный растительный препарат, а именно: отсутствие полной информации по доклиническому токсикологическому изучению заявляемого препарата; наличие несоответствий в отражении состава препарата, указанного в различных документах; отсутствие статистического анализа результатов проведенных исследований; ошибки в разработке проектов инструкции по медицинскому применению лекарственного растительного препарата. Представленные материалы являются актуальными и будут способствовать надлежащему формированию заявителями регистрационных досье на лекарственные растительные препараты.

Ключевые слова: лекарственное растительное сырье; лекарственный растительный препарат; регистрационное досье; безопасность; эффективность; доклинические исследования; клинические исследования

Для цитирования: Оленина НГ, Михеева НС, Крутикова НМ. Особенности экспертизы «польза/риск» лекарственных растительных препаратов: анализ регистрационных досье. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):84–91. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-84-91>

* **Контактное лицо:** Оленина Надежда Геннадьевна; Olenina@expmed.ru

Specific Aspects of Benefit-Risk Evaluation of Herbal Medicinal Products: Analysis of Registration Dossiers

* N. G. Olenina, N. S. Mikheeva, N. M. Krutikova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The use of medicinal plants for therapeutic purposes (herbal medicine) is still popular nowadays. The aim of the present paper was to analyse registration dossiers for herbal medicines submitted for expert evaluation in accordance with the current national legal requirements for dossier compilation and methodological approaches to the examination of the benefit-risk ratio of herbal medicinal products. The article describes specific features of the preclinical and clinical sections of the common technical document for herbal medicinal products. The article also considers current national requirements for safety and efficacy evaluation of herbal medicinal products. It analyses specific aspects of preclinical (toxicological, pharmacokinetic and pharmacological) and clinical trials of medicines. Based on the results of the analysis the authors elucidate the main mistakes in the preparation of the necessary documents for registration dossiers for herbal medicinal products, namely: lack of complete information on the pre-clinical toxicological study of the product; inconsistencies in the product composition as specified in different documents; lack of statistical analysis of the results of studies; errors in draft patient information leaflets for herbal medicinal products. The materials presented in the article are high on the agenda and will help applicants properly compile registration dossiers for herbal medicinal products.

Key words: herbal drug; herbal medicinal product; registration dossier; safety; efficacy; preclinical studies; clinical studies

For citation: Olenina NG, Mikheeva NS, Krutikova NM. Specific Aspects of Benefit-Risk Evaluation of Herbal Medicinal Products: Analysis of Registration Dossiers. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):84–91. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-84-91>

* **Contact person:** Nadezhda G. Olenina; Olenina@expmed.ru

Лекарственные растения служили целям практической медицины с древних времен. Применение лекарственных растений в лечебных целях (фитотерапия) остается актуальным и в настоящее время. В России препараты растительного происхождения составляют приблизительно 40 % общего количества используемых в практической медицине лекарственных средств [1]. Каждый третий лекарственный препарат (ЛП) на мировом рынке — растительного происхождения. В странах Евросоюза препараты на основе лекарственных растений составляют до 10 % общего объема рынка лекарственных средств. В Японии и странах Юго-Восточной Азии этот показатель достигает 40 % [2]. В таких государствах, как Индия, Китай, Пакистан, Шри-Ланка, Мали, Танзания, лекарственные растительные препараты (ЛРП) имеют даже большее распространение, чем лекарственные средства синтетического происхождения.

Повышение доли фитопрепаратов в современной терапии целого ряда заболеваний в последние десятилетия обусловлено прежде всего тем, что с появлением в двадцатом столетии лекарственных препаратов синтетического происхождения и не всегда обоснованным их назначением появилась и новая нозологическая форма заболевания, получившая название «лекарственная болезнь». В настоящее время, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), 2,5–5 % госпитализированных составляют пациенты с осложнениями, вызванными применением ЛП.

Преимуществами большинства лекарственных растений являются их малая токсичность, комплексность воздействия, обусловленная широким спектром фармакологического действия, возможность длительного применения без существенных побочных явлений, наблюдаемых при длительной терапии лекарственными средствами синтетического происхождения. Наиболее эффективно фитотерапия может быть использована для профилактики и лечения хронических, рецидивирующих заболеваний, особенно при патологии желудочно-кишечного тракта, мочевыводящих путей, органов дыхания, кожи, при функциональных нарушениях нейроэндокринной системы. Фитотерапия с успехом может также применяться для лечения многих хронических заболеваний у пациентов пожилого возраста, для лечения детей, а также в восстановительный период после тяжелых истощающих заболеваний, обширных хирургических вмешательств. Рациональное комбинированное применение ЛРП с синтетическими препаратами позволяет повысить эффективность и безопасность проводимой терапии, в том числе за счет возможности назначения минимальных дозировок препаратов, полученных методами химического синтеза [2].

Цель работы — анализ регистрационных досье на ЛРП в соответствии с требованиями, предъявляемыми к их формированию на основе действующего российского законодательства и методологических подходов к экспертизе отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения ЛРП.

Государственная регистрация ЛП для медицинского применения в России осуществляется на основании Федерального закона Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (далее — Федеральный закон № 61-ФЗ) по результатам экспертизы его качества и экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску его применения [3].

Регистрационное досье на ЛП для медицинского применения должно быть представлено в форме общего технического документа (ОТД), включающего следующие разделы:

- 1) раздел документации административного характера (содержащий, в том числе инструкцию по медицинскому применению ЛП);
- 2) раздел химической, фармацевтической и биологической документации;
- 3) раздел фармакологической, токсикологической документации;
- 4) раздел клинической документации.

Экспертиза ожидаемой пользы к возможному риску применения ЛП осуществляется на основании анализа разделов фармакологической, токсикологической, клинической документации ОТД и инструкции по медицинскому применению ЛП [4].

Согласно Федеральному закону № 61-ФЗ к ЛРП относятся монокомпонентные или многокомпонентные (сборы) препараты, произведенные или изготовленные из одного вида лекарственного растительного сырья (ЛРС) или нескольких видов такого сырья и реализуемые в расфасованном виде во вторичной (потребительской) упаковке. К ЛРС относят свежие или высушенные растения либо их части, используемые для промышленного производства лекарственных средств или изготовления ЛП аптечными организациями, ветеринарными аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность [3].

Регистрационное досье для ЛРП формируется по общим требованиям, так как законодательством не предусмотрены особые процедуры регистрации данной группы ЛП.

Однако по сравнению с препаратами синтетического происхождения ЛРП обладают рядом отличительных особенностей. ЛРП содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ), определяющий широту их фармакологического действия. Для ЛРС характерна определенная вариабельность химического состава, в том числе основных действующих веществ. Качество и эффективность ЛРП во многом определяются технологией их получения, в том числе условиями заготовки (сбор, сушка) и хранения ЛРС и дальнейшей его обработкой (измельчение, фасовка и упаковка). Стандартизация, в том числе по действующим веществам, позволяет обеспечить воспроизводимость заявляемых фармакологических эффектов и уровня безопасности ЛРП [5, 6]. Конечный продукт (отвар, настой) потребитель готовит из ЛРП самостоятельно, поэтому особое значение приобретает наличие соответствующего

ющей информации в инструкции по медицинскому применению ЛРП.

Перечисленные особенности ЛРП определяют требования к объему необходимой информации, содержащейся в соответствующих разделах регистрационного досье на препарат. Объем доклинических и клинических исследований, необходимых для регистрации ЛРП, зависит от того, к какой группе относится ЛРП.

1. Новые (оригинальные) монокомпонентные ЛРП, созданные на основе нового (неофициального) вида лекарственного растительного сырья.

2. Новые (оригинальные) комплексные ЛРП:

а) имеющие в своем составе неофициальные виды ЛРС;

б) имеющие в своем составе официальные виды ЛРС (новые комбинации);

3. Известные моно- и комплексные ЛРП:

а) заявленные по новым показаниям;

б) заявленные при новом пути введения;

в) заявленные для применения в новой дозе;

г) препараты-аналоги (воспроизведенные ЛРП).

РАЗДЕЛ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ, ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ

Данный раздел включает в себя отчеты о результатах доклинических исследований лекарственного средства для медицинского применения, в том числе:

1) отчет о фармакодинамических исследованиях;

2) отчет о фармакокинетических исследованиях;

3) отчет о токсикологических исследованиях.

Правовой основой проведения доклинических исследований являются Федеральный закон № 61-ФЗ, Межгосударственный стандарт ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 199н, «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» [3, 7, 8].

В отличие от ЛП синтетического происхождения, ЛРП содержат в своем составе сложный комплекс БАВ, что делает невозможным проведение фармакокинетических исследований. В связи с этим в регистрационном досье на ЛРП вместо отчетов по результатам фармакокинетического доклинического исследования обычно заявители представляют обоснование невозможности проведения данного исследования.

В настоящее время доклиническое изучение нового ЛРП включает проведение фармакологических и токсикологических исследований, объем которых определяется прежде всего его происхождением, химическим составом, наличием сведений об эффективности и безопасности применения ЛРС в мировой медицинской практике, видом заявляемой специфической активности.

Обязательным условием при проведении доклинических фармакологических и токсикологических исследований ЛРП является соблюдение всех правил приготовления изучаемого образца готового продукта (настоя или отвара) в соответствии со способом приготовления, который в дальнейшем будет вклю-

чен в инструкцию по медицинскому применению, или в соответствии с общей фармакопейной статьей 1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» в Государственной фармакопее Российской Федерации XIII издания [9]. Данное условие позволяет получить образец, в котором содержание БАВ в виде сухого остатка и/или количества экстрактивных (действующих) веществ соответствует норме, регламентируемой нормативно-технической документацией [10].

ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Проведение доклинических исследований по изучению фармакологической активности ЛП необходимо осуществлять после разработки методов их стандартизации. Фармакологическую активность (общую и специфическую) новых ЛРП изучают в соответствии с действующими методическими рекомендациями для отдельных фармакотерапевтических групп. Исследования проводят на различных видах лабораторных животных с использованием моделей патологических состояний, а также в условиях *in vitro* [6].

Изучение общей фармакологической и специфической активности в полном объеме проводят:

- для новых монокомпонентных ЛРП на основе ранее не зарегистрированных в России видов ЛРС;

- для новых комплексных ЛРП на основе ранее не зарегистрированных в России видов ЛРС.

Изучение фармакологической активности в ограниченном объеме с использованием основных методов, подтверждающих заявляемое фармакологическое действие препарата, проводят:

- для новых композиций, имеющих в своем составе официальные виды ЛРС;

- для ЛРП на основе неофициального ЛРС, но широко используемого в народной медицине или пищевой промышленности;

- для моно- и комплексных зарегистрированных ЛРП, заявляемых по новым показаниям, при новом пути введения, для применения в новых дозировках.

Для ЛРП, содержащих новую, ранее не применявшуюся комбинацию видов ЛРС, необходимо проводить доклиническое исследование, доказывающее оптимальность новой комбинации по сравнению с активностью отдельных компонентов, зарегистрированных ранее в виде монопрепаратов.

При воспроизводстве известных, в том числе зарубежных, ЛРП должна быть документально подтверждена идентичность сырья и лекарственной формы воспроизведенного ЛРП референтному препарату и представлен обзор научных работ, содержащий все аспекты фармакологической активности референтного препарата [11].

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

При оценке безопасности представляемых на регистрацию ЛРП, содержащих неофициальные виды ЛРС или их комбинации, токсиколо-

гическое изучение предусматривает проведение исследований в полном объеме в соответствии с действующим законодательством и методическими рекомендациями. При этом проводится изучение общетоксического действия ЛРП в условиях острых, подострых и хронических экспериментов на различных видах лабораторных животных, а также специфических видов токсичности: возможные мутагенные, алергизирующие, иммунотоксические свойства, канцерогенность, репродуктивная и онтогенетическая токсичность. Для комплексного ЛРП представляются также сведения о токсических свойствах отдельных компонентов (общая и специфическая токсичность входящего в его состав ЛРС) с учетом возможного токсикологического взаимодействия [6].

Для ЛРП на основе неофициального ЛРС, но широко используемого в народной медицине или пищевой промышленности, необходимо:

- изучение общетоксических свойств;
- представление результатов исследований специфической токсичности препарата или сведений и данных об изучении токсичности, опубликованных в специализированных печатных изданиях.

При оценке безопасности ЛРП на основе официальных видов ЛРС допустим ограниченный объем токсикологических исследований при условии, что дозы основных действующих веществ, входящих в состав препаратов, не превышают доз, ранее разрешенных к медицинскому применению, и имеются данные научной литературы об изучении специфических видов токсичности ЛРП. Для таких ЛРП объем необходимых токсикологических исследований включает изучение острой, хронической токсичности, алергизирующих и местнораздражающих свойств; при необходимости — исследование других специфических видов токсичности (при отсутствии информации в научной литературе) и изучение на молодых развивающихся животных (при разработке лекарственных препаратов для детей).

Для ЛРП, содержащих новую, ранее не применявшуюся комбинацию официальных видов ЛРС, необходимый объем токсикологических исследований включает изучение острой, хронической токсичности, алергизирующих и местнораздражающих свойств, репродуктивной токсичности.

Для ЛРП, заявляемых на регистрацию по новым показателям, необходимо представлять анализ результатов ранее проведенных токсикологических исследований при условии отсутствия изменений ранее разрешенного способа применения и режима дозирования. Для ЛРП, заявляемых при новом пути введения, в досье должны быть представлены результаты изучения острой и хронической токсичности, алергизирующего и местнораздражающего действия с учетом нового пути введения препарата. Для ЛРП, заявляемых для применения в новых дозировках, необходимо представить токсикологическое обоснование безопасности применения ЛРП в рекомендуемой дозе, в том числе, при необходимости, результаты дополнительных токсикологических исследований.

Для воспроизведенных ЛРП целесообразно изучение острой и подострой токсичности в сравнении с референтным препаратом, представление сведений и данных об изучении специфической токсичности референтного ЛРП, опубликованных ранее в научной литературе [11].

ОСОБЕННОСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ФОРМЕ ВЫПУСКА ПОРОШОК В ФИЛЬТР-ПАКЕТАХ

В настоящее время ЛРП выпускаются в цельном, измельченном виде и в виде порошка в фильтр-пакетах. Преимуществом формы выпуска порошок в фильтр-пакетах является более точное дозирование препарата (одна доза препарата содержится в одном фильтр-пакете), удобство использования (для получения настоя фильтр-пакет заливают необходимым количеством кипятка и настаивают 15–20 минут вместо традиционного достаточно длительного и трудоемкого приготовления водного извлечения из измельченного сырья на водяной бане).

На качество водных извлечений оказывает влияние ряд факторов, в том числе измельченность сырья, морфологическая группа сырья, его химический состав, соотношение количества сырья и экстрагента, режим настаивания. Для фильтр-пакетов важным фактором является также сорт материала (бумаги), используемого для их производства. В связи с этим исследования по разработке оптимального способа получения водных извлечений из фильтр-пакетов необходимо проводить в каждом конкретном случае индивидуально.

С целью подтверждения эквивалентности содержания количества действующих веществ в водных извлечениях, полученных традиционным способом из измельченного сырья и из порошка в фильтр-пакетах, заявителем при регистрации ЛРП в форме выпуска порошок в фильтр-пакетах должны быть предоставлены результаты сравнительного экспериментального изучения содержания действующих веществ в водных извлечениях, полученных из сырья в этих формах выпуска. Данные исследования должны проводиться только после разработки нормативной документации на препарат в указанной лекарственной форме [12]. Отчет помещается в раздел доклинической документации.

РАЗДЕЛ КЛИНИЧЕСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ

Данный раздел включает в себя отчеты о результатах клинических исследований ЛРП для медицинского применения, в том числе:

- 1) отчеты об исследованиях биодоступности и биоэквивалентности, исследованиях, устанавливающих корреляцию результатов, полученных в условиях *in vitro* и *in vivo*;
- 2) отчеты о фармакокинетических исследованиях;
- 3) отчеты о фармакодинамических исследованиях;
- 4) отчеты о клинических исследованиях эффективности и безопасности;
- 5) отчет о пострегистрационном опыте применения (при наличии).

Проведение клинических исследований биоэквивалентности (фармакокинетических исследований) для ЛРП, как было указано выше, невозможно. Для данной группы препаратов могут быть проведены только клинические исследования терапевтической эквивалентности.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Правовой основой проведения клинических исследований являются Федеральный закон № 61-ФЗ, Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 52379–2005 «Надлежащая клиническая практика» и Приказ Минздрава России от 1 апреля 2016 № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики» [3, 13, 14].

Проведение клинических исследований эффективности и безопасности ЛРП возможно после получения разрешения на проведение данного клинического исследования, выдаваемого Минздравом России на основании результатов экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения препарата на основе документов и данных, представляемых в регистрационном досье: результатов доклинического экспериментального изучения, проекта протокола клинического исследования и брошюры исследователя.

Клинические исследования новых моно- или многокомпонентных ЛРП, содержащих неофициальные виды сырья, проводят поэтапно в установленном порядке в соответствии с общими принципами проведения клинических исследований, включая определение переносимости ЛРП на здоровых добровольцах, определение терапевтических доз на ограниченном контингенте пациентов на начальных этапах клинических исследований и клинические исследования на достаточно большом количестве пациентов на конечном этапе перед регистрацией препарата [6].

Для новых ЛРП, представляющих собой композиции из известного растительного сырья, уже применяющегося в медицинской практике, возможно проведение последнего этапа предрегистрационных клинических исследований эффективности и безопасности.

Для воспроизведенных ЛРП, разрешенных к медицинскому применению и находящихся на фармацевтическом рынке в России более 20 лет, клинические исследования эффективности и безопасности не проводятся.

Для доказательства наличия терапевтической эффективности применения заявляемого к регистрации ЛРП оптимальным считается проведение «плацебо-контролируемого» исследования при условии соблюдения этических норм в отношении пациентов контрольной группы. В случае включения исследуемого ЛРП в состав стандартной комплексной терапии при лечении заболевания в качестве контроля для оценки фармакодинамических параметров могут быть использованы стандартная комплексная терапия или плацебо на фоне стандартной терапии.

Обязательно проведение клинических исследований зарегистрированных ЛРП при изменении состава, включая активные компоненты и применение новых, ранее незарегистрированных вспомогательных компонентов; расширение возрастных границ для применения препарата (проводятся клинические исследования в педиатрии); при новом пути введения препарата; при применении ЛРП в новой дозировке. Данные клинические исследования проводятся в рамках II–III или III фазы клинических исследований [6].

Особые требования предъявляются к проведению клинических исследований в педиатрии. Как правило, клинические исследования ЛРП с участием пациентов детского возраста проводят только после получения положительных результатов проведенных клинических исследований эффективности и безопасности ЛРП у взрослых пациентов. При этом планирование и проведение клинического исследования начинают с пациентов старшей возрастной группы. В случае предназначения препарата для применения только у детей проведение клинических исследований начинают с пациентов старшей возрастной группы.

Для зарегистрированных ЛРП проводятся пострегистрационные клинические исследования. Применение препарата в таких исследованиях проводят в соответствии с утвержденной инструкцией по медицинскому применению (ИМП) данного ЛРП [6].

В соответствии с ч. 9 ст. 18 Федерального закона № 61-ФЗ в отношении ЛРП, разрешенных для медицинского применения в Российской Федерации более двадцати лет, допускается включение в состав раздела фармакологической, токсикологической документации и раздела клинической документации вместо отчета разработчика о результатах собственных доклинических исследований ЛРП обзора научных работ о результатах доклинических исследований лекарственных средств и клинических исследований данных ЛРП, в том числе, включая опыт их пострегистрационного применения [3].

Согласно положениям Приказа Минздрава России от 12 июля 2017 г. № 409н, при государственной регистрации воспроизведенных ЛРП допускается включение в состав раздела фармакологической, токсикологической документации и раздела клинической документации вместо отчета разработчика о результатах собственных доклинических исследований лекарственных средств обзора научных работ о результатах доклинических исследований референтного ЛРП и представление вместо клинических исследований в полном объеме, установленном разделом клинической документации, отчета о результатах клинических исследований терапевтической эквивалентности воспроизведенного ЛРП [15].

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ ИНСТРУКЦИИ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

В настоящее время требования к инструкции по медицинскому применению ЛРП регламентированы Приказом Минздрава России от 21 сентября 2016 г. № 724н [16].

Основными отличиями инструкций по медицинскому применению ЛРП являются:

1. В заголовке ИМП на монокомпонентные ЛРП после торгового наименования в скобках указывается его латинское название.

2. Отсутствие международных непатентованных наименований. В обязательном разделе инструкции «Международное непатентованное или группировочное наименование» должно быть указано группировочное наименование ЛРП.

3. Группировочные наименования ЛРП формируются из научных названий производящего лекарственного растения, как правило, из родового и видового названий и указываются на русском языке. При этом если при производстве ЛРП используется только один вид производящего растения, то группировочное наименование (ГН) формируется из родового и видового наименований производящего растения на русском языке в сочетании с названием морфологической группы сырья. Если предусмотрено использование нескольких видов одного и того же рода производящего растения, ГН формируется только из его родового названия и названия морфологической группы сырья. Для многокомпонентных ЛРП группировочное наименование составляется из ГН отдельных компонентов, расположенных по алфавиту, с символом «+» между ними.

4. Для монокомпонентных ЛРП в ИМП должен быть включен раздел «Характеристика», содержащий информацию о химическом составе ЛРС.

5. Сведения по фармакокинетике основных действующих веществ ЛРП указываются только при наличии данной информации. В связи с этим в большинстве ИМП ЛРП отсутствует раздел «Фармакокинетика» или в разделе указано «Данные отсутствуют» с/без обоснования отсутствия сведений по изучению фармакокинетических свойств препарата.

6. В связи с тем что водные извлечения на основе ЛРП готовятся пациентом в домашних условиях, в разделе «Способ применения и дозы» подробно указывается способ приготовления настоя/отвара из ЛРС, с учетом морфологических особенностей ЛРС, его химического состава и формы выпуска (порошок, цельное или измельченное сырье).

7. В разделе «Условия хранения» дополнительно указываются условия хранения приготовленного водного извлечения (настоя/отвара) из ЛРС [16, 17].

ОСНОВНЫЕ ОШИБКИ, ДОПУСКАЕМЫЕ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ РЕГИСТРАЦИОННОГО ДОСЬЕ НА ЛЕКАРСТВЕННЫЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Проведенный анализ поступивших на экспертизу регистрационных досье на ЛРП с учетом особенностей оценки ожидаемой пользы к возможному риску их применения позволил выявить основные ошибки, допускаемые заявителем при формировании регистрационных досье на ЛРП.

1. Доклиническое токсикологическое исследование выполнено не в полном объеме: отсутствуют научные данные по ряду специфических видов токсичности ЛРП, таких как репродуктивная и онтогенетическая токсичность, канцерогенность,

аллергизирующее действие, местнораздражающее действие, иммунотоксичность.

2. В отчетах по доклиническому изучению ЛРП не представлен состав изученного в эксперименте препарата.

3. В брошюре исследователя, проекте протокола клинического исследования и отчете по доклиническому изучению состав препарата изложен в разной редакции, имеет качественные и количественные отличия.

4. В проекте протокола клинического исследования препарата отсутствует статистическое обоснование мощности исследования.

5. В отчетах по клиническому изучению эффективности и безопасности ЛРП отсутствуют фактические данные по результатам исследования заданных протоколом параметров, не указаны методы статистической обработки полученных результатов, отчет носит описательный характер.

6. Обзоры литературы, представленные в досье на ЛРП, разрешенные для медицинского применения в России более 20 лет, подготовлены на основе научно-популярных изданий, а не научной литературы, и/или не содержат фактических научных данных по результатам доклинических и клинических исследований препаратов.

7. Проект инструкции по применению ЛРП не соответствует современным требованиям к оформлению инструкции (название инструкции, наличие необходимых разделов, названия разделов) и содержанию актуальной информации по эффективности и безопасности применения препарата (применение у особых групп пациентов, включая возрастные ограничения, взаимодействие с другими лекарственными препаратами и т.д.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регистрационное досье на ЛРП имеет ряд особенностей, обусловленных специфическими характеристиками ЛРС, в том числе: сложный комплекс БАВ, определенная вариабельность химического состава, широкий спектр фармакологической активности, технология получения и значимость стандартизации ЛРП для воспроизводства заявляемых фармакологической эффективности и уровня безопасности.

Объем необходимых доклинических и клинических исследований ЛРП определяется в зависимости от официальной ЛРС, на основе которого они разрабатываются и наличия научных данных, позволяющих наиболее полно оценить фармакотерапевтическую эффективность и безопасность ЛРП.

На основании проведенного анализа поступивших на экспертизу регистрационных досье на ЛРП, особенностей методологических подходов к их изучению и оценке безопасности и эффективности в свете требований действующего российского законодательства выделены основные ошибки в формировании регистрационного досье на ЛРП.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Григорян ЭР. Методический подход к оптимизации ассортимента лекарственных растительных препаратов, используемых в условиях санаторно-курортного реабилитационного комплекса Кавказских Минеральных Вод: дис. ... канд. фарм. наук. Пятигорск; 2015. [Grigoryan ER. Methodical Approach to Optimization of Assortment of the Medicinal Plant Preparations Used in the Conditions of Sanatorium and Resort Rehabilitation Complex of the Caucasian Mineral Waters. Cand. Pharm. Sci. [dissertation]. Pyatigorsk; 2015 (In Russ.)]
2. Миронов АН, Сакаева ИВ, Саканян ЕИ, Корсун ЛВ, Мочкина ОА. Современные подходы к вопросу стандартизации лекарственного растительного сырья. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2013;(2):52–6. [Mironov AN, Sakaeva IV, Sakanyan EI, Korsun LV, Mochikina OA. Current Approaches to Standardization of Herbal Substances. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2013;(2):52–6 (In Russ.)]
3. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation, April 12, 2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (In Russ.)]
4. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 24 августа 2017 г. № 558н «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и особенности экспертизы отдельных видов лекарственных препаратов для медицинского применения (референтных лекарственных препаратов, воспроизведенных лекарственных препаратов, биологических лекарственных препаратов, биоаналоговых (биоподобных) лекарственных препаратов (биоаналогов), гомеопатических лекарственных препаратов, лекарственных растительных препаратов, комбинаций лекарственных препаратов) форм заключений комиссии экспертов». [Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, August 24, 2017, No. 558n «On Approval of Rules of Carrying out Examination of Medicines for Medical Use and Features of Examination of Separate Types of Medicinal Preparations for Medical Application (Reference Medicinal Preparations, the Reproduced Medicinal Preparations, Biological Medicinal Preparations, Bioanalogue (Biosimilar) Medicinal Preparations (Bio-analogues), Homeopathic Medicinal Preparations, Medicinal Vegetable Preparations, Combinations of Medicinal Preparations) of forms of the conclusions of the commission of experts» (In Russ.)]
5. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств, разрабатываемых на основе природного сырья. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012. С. 829–33. [Guidelines for Preclinical Study of Drugs Derived from Natural Raw Materials. In: Guideline on Preclinical Evaluation of Medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012. P. 829–33 (In Russ.)]
6. Планирование доклинических и клинических исследований лекарственных средств растительного происхождения. В кн.: Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 3. М.: Полиграф-Плюс; 2014. С. 179–216. [Planning Preclinical and Clinical Trials of Drugs of Plant Origin. In: Guideline on Examination of Medicines. V. 3. Moscow: Poligraf-Plus; 2014. P. 179–216 (In Russ.)]
7. Межгосударственный стандарт ГОСТ 33044–2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ; 2014. [Interstate Standard GOST 33044–2014. Principles of Good Laboratory Practice. Moscow: Standartinform; 2014 (In Russ.)]
8. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». [The Order of the Ministry of Health of the Russian Federation, April 1, 2016, No. 199n «On the Approval of the Rules of Good Laboratory Practice» (In Russ.)]
9. Общая фармакопейная статья 1.4.1.0018.15 Настои и отвары. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 2. М.; 2015. [General Monograph 1.4.1.0018.15 Infusions and Broths. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 2. Moscow; 2015 (In Russ.)] Available from: <http://www.femb.ru/feml>
10. Крепкова ЛВ, Бортникова ВВ, Сокольская ТА. Некоторые аспекты токсикологического изучения лекарственных препаратов, созданных на основе лекарственного растительного сырья. Фундаментальные исследования 2013;(9–2):256–8. [Krepkova LV, Bortnikova VV, Sokolskaya TA. Some Aspects of Toxicological Study of Medicinal Preparations Based on Medicinal Plants. Fundamental Research 2013;(9–2):256–8 (In Russ.)]
11. Дополнение № 1. Рекомендуемый объем изучения фармакологической активности и токсикологических свойств лекарственных средств природного происхождения в зависимости от инновационности. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012. С. 834–7. [Supplement No. 1. The Recommended Amount of the Study of Pharmacological Activity and Toxicological Properties of Drugs of Natural Origin, Depending on the Innovation. Guidelines on Preclinical Evaluation of Medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012. P. 834–7 (In Russ.)]
12. Дополнение № 2. Особенности доклинического изучения новой лекарственной формы, разрабатываемой из лекарственного растительного сырья, — сырье растительное порошок в фильтр-пакетах. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012. С. 838–41. [Supplement No. 2. Features of Preclinical Study of a New Dosage Form, Developed From Medicinal Plant Raw Materials, Raw Vegetable Powder in Filter Bags. Guidelines on Preclinical Evaluation of Medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012. P. 838–41 (In Russ.)]
13. ГОСТ Р 52379–2005. Надлежащая клиническая практика. М.: Стандартинформ; 2005. [State Standard R 52379–2005. Good Clinical Practice. Moscow: Standartinform; 2005 (In Russ.)]
14. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики». [The Order of the Ministry of Health of the Russian Federation, April 1, 2016, No. 200n «On Approval of the Rules of Good Clinical Practice» (In Russ.)]
15. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 12 июля 2017 г. № 409н «Об утверждении порядка формирования регистрационного досье на лекарственный препарат и требований к документам в его составе, требований к объему информации, предоставляемой в составе регистрационного досье, для отдельных видов лекарственных препаратов для медицинского применения и порядка представления документов, из которых формируется регистрационное досье на лекарственный препарат для медицинского применения в целях его государственной регистрации». [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation, July 12, 2017, No. 409n «On Approval of Procedure of Formation of the Registration Dossier of the Medicinal Product and Document Requirements into it Requirements for the Amount of Information Provided as Part of the Registration Dossier, for Certain Types of Medicines for Medical Application and Submission of Documents From which it is Generated the Registration Dossier of the Medicinal Product for Medical Use for its State Registration» (In Russ.)]
16. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21 сентября 2016 г. № 724н «Об утверждении требований к инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов». [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation, September 21, 2016, No. 724n «On Approval of Requirements to Instructions for Medical Use of Drugs» (In Russ.)]
17. Лякина МН, Ковалева ЕЛ, Николаева ОБ, Крутикова НМ, Оленина НГ, Колганов ЛА. Группировочные наименования лекарственных растительных средств: необходимость введения, рациональность формирования. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016;(3):9–11. [Lyakina MN, Kovaleva EL, Nikolaeva OB, Krutikova NM, Olenina NG, Kolganov LA. Group Names for Herbal Remedies: the Need for Introduction and Rationale for Establishing. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2016;(3):9–11 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Оленина Надежда Геннадьевна. Ведущий эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Михеева Наталья Сергеевна. Ведущий эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. фарм. наук

Крутикова Наталья Макарьевна. Ведущий эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. биол. наук

Статья поступила 12.10.2017

Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Nadezhda G. Olenina. Leading Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products

Natalia S. Mikheeva. Leading Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Pharmaceutical Sciences

Natalia M. Krutikova. Leading Expert of Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Biological Sciences

Article was received 12 October 2017

Accepted for publication 14 May 2018



Принципы статистической оценки исследований биоэквивалентности в рамках актуальных регуляторных требований и нормативно-правовых актов

* Д. П. Ромодановский, Д. В. Горячев, А. П. Соловьева, Н. Н. Еременко

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Резюме. Проведен анализ нормативных документов и регуляторных требований к статистическим принципам планирования и оценки результатов исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов. Описаны существующие в настоящее время актуальные статистические подходы к оценке биоэквивалентности и соответствующие рекомендации к планированию исследований лекарственных препаратов, в том числе, высоковариабельных препаратов, препаратов с узким терапевтическим диапазоном и препаратов — аналогов эндогенных соединений. В статье рассмотрены такие статистические подходы, как биоэквивалентность в среднем (Average Bioequivalence (ABE)), биоэквивалентность в среднем с расширением границ признания (Average Bioequivalence with Expanding Limits (ABEL)), биоэквивалентность в среднем с масштабированием границ (Reference-Scaled Average Bioequivalence (RSABE)). Изложены особенности статистического анализа в отношении малоизученных лекарственных препаратов. Описаны приемлемые с регуляторной точки зрения алгоритмы планирования и проведения двухэтапных дизайнов исследований биоэквивалентности, так как в подобных исследованиях присутствует необходимость множественного тестирования гипотезы биоэквивалентности, что приводит к повышению вероятности ошибки первого рода (риска потребителя). Сформулированы рекомендации по выбору статистических подходов и описаны некоторые особенности статистических методов анализа в зависимости от дизайна исследования и типа воспроизведенного лекарственного средства.

Ключевые слова: исследование биоэквивалентности; статистические модели; внутрииндивидуальная вариабельность; высоковариабельные препараты; препараты с узким терапевтическим диапазоном; эндогенные соединения; фармакокинетика

Для цитирования: Ромодановский ДП, Горячев ДВ, Соловьева АП, Еременко НН. Принципы статистической оценки исследований биоэквивалентности в рамках актуальных регуляторных требований и нормативно-правовых актов. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):92–98. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-92-98>

* **Контактное лицо:** Ромодановский Дмитрий Павлович; Romodanovsky@expmed.ru

Principles of Statistical Evaluation of Bioequivalence Studies in the Context of Current Regulatory Requirements and Legal Acts

* D. P. Romodanovsky, D. V. Goryachev, A. P. Solovieva, N. N. Eremenko

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The article analyses regulatory documents and requirements for statistical principles of planning and evaluation of results of bioequivalence studies. It describes current statistical approaches to bioequivalence evaluation and relevant recommendations for the planning of studies of conventional medicinal products, medicinal products with a narrow therapeutic range, and analogues of endogenous compounds. The article analyses such statistical approaches as Average Bioequivalence (ABE), Average Bioequivalence with Expanding Limits (ABEL), Reference-Scaled Average Bioequivalence (RSABE). It describes specific aspects of statistical analysis of insufficiently studied medicinal products. The article also describes acceptable algorithms of planning and performing two-stage bioequivalence study designs, since such studies call for multiple testing of the bioequivalence hypothesis which leads to an increased probability of type I error (consumer risk). The article offers recommendations for the choice of statistical approaches and describes some aspects of statistical analysis methods depending on the design of the study and the type of generic medicines.

Key words: bioequivalence study; statistical models; intra-individual variability; highly variable medicinal products; medicinal products with a narrow therapeutic range; endogenous compounds; pharmacokinetics

For citation: Romodanovsky DP, Goryachev DV, Solovieva AP, Eremenko NN. Principles of Statistical Evaluation of Bioequivalence Studies in the Context of Current Regulatory Requirements and Legal Acts. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):92–98. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-92-98>

* **Contact person:** Dmitry P. Romodanovsky; Romodanovsky@expmed.ru

В России, согласно законодательству (Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» в действующей редакции [1–3]), исследования биоэквивалентности лекарственного препарата — это основной вид клинических исследований для воспроизведенных препаратов, задачей которого является оценка эквивалентности в сравнении с референтным препаратом по основным фармакокинетическим параметрам (максимальная концентрация в крови (C_{\max}) и площадь под кривой «концентрация–время» (AUC)) при минимальных финансовых затратах на исследование, но в приемлемом диапазоне риска для потребителя.

В зависимости от типа изучаемого лекарственного препарата и дизайна исследования имеются особенности по выбору оптимальной статистической модели исследования, удовлетворяющей требованиям руководящих документов и желанию разработчика минимизировать затраты на исследование [4]. Таким образом, исследование биоэквивалентности — это «компромисс» регуляторных требований и возможностей разработчика, позволяющий вывести на рынок воспроизведенный препарат, эквивалентный референтному препарату в предустановленных допустимых границах признания.

Правильный выбор приемлемой статистической модели и подхода к оценке исследования является одной из первоочередных задач разработчика при планировании исследования биоэквивалентности [5]. Также при планировании исследования необходимо предусматривать различные факторы, которые могут повлиять на статическую оценку результатов исследования.

Цель работы — разработать рекомендации по выбору статистического подхода к оценке биоэквивалентности и выявить особенности статистических методов анализа в зависимости от дизайна исследования и типа воспроизведенного лекарственного средства (в том числе высоковариабельных препаратов, препаратов с узким терапевтическим диапазоном и препаратов — аналогов эндогенных соединений).

БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ В СРЕДНЕМ (Average Bioequivalence (ABE))

В настоящее время выделяют следующие основные статистические подходы для доказательства эквивалентности в исследованиях биоэквивалентности лекарственных препаратов: биоэквивалентность в среднем, популяционная биоэквивалентность и индивидуальная биоэквивалентность [4].

Биоэквивалентность в среднем — это основной подход к оценке биоэквивалентности, признанный оптимальным ведущими регуляторными органами. Основное сравнение — разность арифметических средних \log -трансформированных фармакокинетических параметров или отношение геометрических средних в исходных значениях.

Популяционная и индивидуальная биоэквивалентность сравнивает отношение популяционных или индивидуальных разностей, то есть

оценок разности фармакокинетических параметров для исследуемого и референтного препаратов и разности фармакокинетических параметров для референтного препарата, принятого в разные периоды.

Статистическая гипотеза в исследовании биоэквивалентности отличается от таковых для сравнительных клинических исследований. Нулевая гипотеза (H_0) в исследованиях биоэквивалентности предполагает наличие, а не отсутствие различий между препаратами, то есть бионеэквивалентность, и соответственно нулевая гипотеза должна быть отклонена в пользу альтернативной (H_A) — о наличии эквивалентности [5].

Поскольку исследование биоэквивалентности — это прежде всего сравнительное фармакокинетическое исследование с учетом подхода оценки биоэквивалентности в среднем — гипотезы формулируются для отношения геометрических средних соответствующих фармакокинетических параметров (C_{\max} и AUC) исследуемого и референтного препаратов — μ_T/μ_R .

Нулевая гипотеза:

$$H_0: \mu_T/\mu_R < Q_1 \text{ или } \mu_T/\mu_R > Q_2,$$

где Q_1 и Q_2 — нижняя и верхняя принятые допустимые границы биоэквивалентности.

Альтернативная гипотеза:

$$H_A: Q_1 \leq \mu_T/\mu_R \leq Q_2.$$

После логарифмирования гипотезы принимают вид:

$$H_0: (\mu_T - \mu_R) < Q_1 \text{ или } (\mu_T - \mu_R) > Q_2,$$

$$H_A: Q_1 \leq (\mu_T - \mu_R) \leq Q_2.$$

В соответствии со стандартной терминологией в статистике выделяют ошибку первого рода и ошибку второго рода. Ошибка первого рода (α) связана с риском потребителя (выходом на рынок некачественного препарата) и жестко закреплена на уровне не более 5 %. Ошибка второго рода (β) связана с риском производителя — невыход на рынок эквивалентного препарата (не менее 20 %). Величина $(1 - \beta)$ называется мощностью исследования и обычно устанавливается на уровне 80 %. Соответственно при большом числе испытаний каждое пятое исследование биоэквивалентности ($1/0,2 = 5$) может закончиться неудачей по чистой случайности.

Между статистической гипотезой и ошибками I и II рода имеется определенная взаимосвязь (табл. 1).

Ввиду того что задачей исследования биоэквивалентности является подтверждение альтернативной гипотезы, можно сформулировать базовое уравнение оценки биоэквивалентности в среднем:

$$Q_1 \leq (\mu_T - \mu_R) \leq Q_2. \quad (1)$$

Это уравнение эквивалентно уравнению:

$$(\mu_T - \mu_R)^2 \leq \ln \theta_A^2, \quad (2)$$

где $\theta_A = Q_2 = \exp(-\ln Q_1)$.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ГИПОТЕЗОЙ И ОШИБКАМИ ПЕРВОГО И ВТОРОГО РОДА В ИССЛЕДОВАНИЯХ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ

Результат исследования	Нулевая гипотеза отклонена	Нулевая гипотеза не отклонена
Препараты биоэквивалентны	Верно	Ошибка второго рода (β)
Препараты небоэквивалентны	Ошибка первого рода (α)	Верно

Границы Q_1 и Q_2 для большинства лекарственных препаратов регуляторно установлены в диапазоне 80,00–125,00 %. Оптимальным типом дизайна для большинства препаратов является простой перекрестный в двух группах и двух последовательностях ($2 \times 2 \times 2$). При длительном периоде полувыведения лекарственного препарата можно использовать параллельный дизайн. Для препаратов с узким терапевтическим диапазоном данные границы должны быть сужены до 90,00–111,11 % [6–9].

БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ В СРЕДНЕМ С РАСШИРЕНИЕМ ГРАНИЦ ПРИЗНАНИЯ (Average Bioequivalence with Expanding Limits (ABEL))

Данный подход является модификацией подхода биоэквивалентности в среднем (ABE), рекомендуемой для высоковариабельных препаратов в руководствах Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA), Евразийского экономического союза (ЕАЭС) и в руководстве по экспертизе лекарственных средств [7–9]. Требуемый дизайн исследования — полный или неполный репликативный. Расширение границ применимо только для параметра C_{\max} .

Его суть заключается в модификации базового уравнения (2) путем добавления дополнительной переменной — внутрииндивидуальной вариабельности референтного препарата σ_{WR} и регуляторной константы k :

$$(\mu_T - \mu_R)^2 / \sigma_{WR}^2 \leq \ln \theta_A^2 / \sigma_0^2, \quad (3)$$

где σ_0 и σ_W по сути служат для варьирования границ признания биоэквивалентности ($\sigma_0 = 0,294$ — константа; σ_{WR} — оценка внутрииндивидуальной вариабельности C_{\max} референтного препарата, отношение θ_A / σ_0 или $0,223 / 0,294$ обозначают k ($k = 0,76$)).

Соответствующим образом видоизменяется и статическая гипотеза:

$$H_0: (\mu_T - \mu_R)^2 / \sigma_{WR}^2 > \ln(\theta_A^2 / \sigma_0^2),$$

$$H_A: (\mu_T - \mu_R)^2 / \sigma_{WR}^2 \leq \ln(\theta_A^2 / \sigma_0^2).$$

Для упрощения при расширении границ можно пользоваться следующим уравнением:

$$[L, U] = \exp(\pm k \sigma_{WR}). \quad (4)$$

Расширение границ биоэквивалентности возможно до определенного значения, равного 69,84–143,19 %, что эквивалентно коэффициенту внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}) до 50 %. При этом точечная оценка отношения геометрических средних для C_{\max} должна находиться в пределах 80,00–125,00 %.

БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ В СРЕДНЕМ С МАСШТАБИРОВАНИЕМ ГРАНИЦ (Reference-Scaled Average Bioequivalence (RSABE))

Данный подход принят в Управлении по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) и очень близок к ранее описанному подходу ABEL, так как позволяет масштабировать границы признания биоэквивалентности, основываясь на внутрииндивидуальной вариабельности референтного препарата σ_{WR} и регуляторной константе Q_2 / σ_0 [4]. Требуемый дизайн исследования — полный или неполный репликативный (для препаратов с узким терапевтическим диапазоном дизайн должен быть полным в двух последовательностях) [10]. Масштабирование границ применимо и для параметра C_{\max} и для AUC. Подход применим для высоковариабельных препаратов [11] и препаратов с узким терапевтическим диапазоном [10].

Базовое уравнение аналогично уравнению (3), но незначительно видоизменяется с учетом масштабирования:

$$(\mu_T - \mu_R)^2 - \sigma_{WR}^2 \theta_S \leq 0, \quad (5)$$

где $\theta_S = Q_2^2 / \sigma_0^2$; Q_2 — верхняя граница доверительного интервала (для высоковариабельных значение — 1,25, так как базовая граница признания биоэквивалентности, от которой ведется масштабирование, составляет 80,00–125,00 %, для препаратов с узким терапевтическим диапазоном — 1,1111, потому что базовая граница признания биоэквивалентности, от которой ведется масштабирование, 90,00–111,11 %); σ_0^2 — константа, для высоковариабельных препаратов равна 0,25; для препаратов с узким терапевтическим диапазоном — 0,1.

Статистическая гипотеза при данном подходе выглядит следующим образом:

$$H_0: (\mu_T - \mu_R)^2 - \sigma_{WR}^2 \ln \theta_S > 0,$$

$$H_A: (\mu_T - \mu_R)^2 - \sigma_{WR}^2 \ln \theta_S \leq 0.$$

Проверка этой гипотезы заключается в том, чтобы получить $1 - \alpha$ (то есть 95 %), верхний доверительный предел для величины $(\mu_T - \mu_R)^2 - \theta \times \sigma_{WR}^2$, и отклонить H_0 в пользу H_A , если этот доверительный предел окажется меньше или равен нулю. Способом получения верхнего доверительного предела является аппроксимация I по Хой (Howe's approximation I) [4, 10–12].

Для высоковариабельных препаратов такой подход применим только если вариабельность референтного препарата (σ_{WR}^2) будет выше 0,294.

Для препаратов с узким терапевтическим диапазоном также необходимо подтвердить биоэквивалентность в стандартных границах признания 80,00–125,00 % и подтвердить, что граница 90 % доверительного интервала для отношения внутрииндивидуальных стандартных отклонений σ_{WT}/σ_{WR} меньше или равна 2,5 (сравнение σ_{WT}/σ_{WR} осуществляют с помощью *F*-теста) [4, 10].

ОСОБЕННОСТИ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В ОТНОШЕНИИ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

В случае если лекарственный препарат является аналогом эндогенных соединений, требуется в ста-

статистический анализ фармакокинетических параметров включить поправку на эндогенное содержание данного вещества. Метод коррекции параметров фармакокинетики на эндогенную концентрацию должен быть обоснован и подробно описан в протоколе исследования биоэквивалентности. Если не предусмотрено иное, стандартным методом признано вычитание эндогенной концентрации: вычитается либо средняя концентрация эндогенного вещества (в каждой временной точке), определенная до приема исследуемого препарата с дальнейшим расчетом C_{max} и *AUC*, либо средняя *AUC*_{энд} (площадь под кривой «эндогенная концентрация–время») [7].

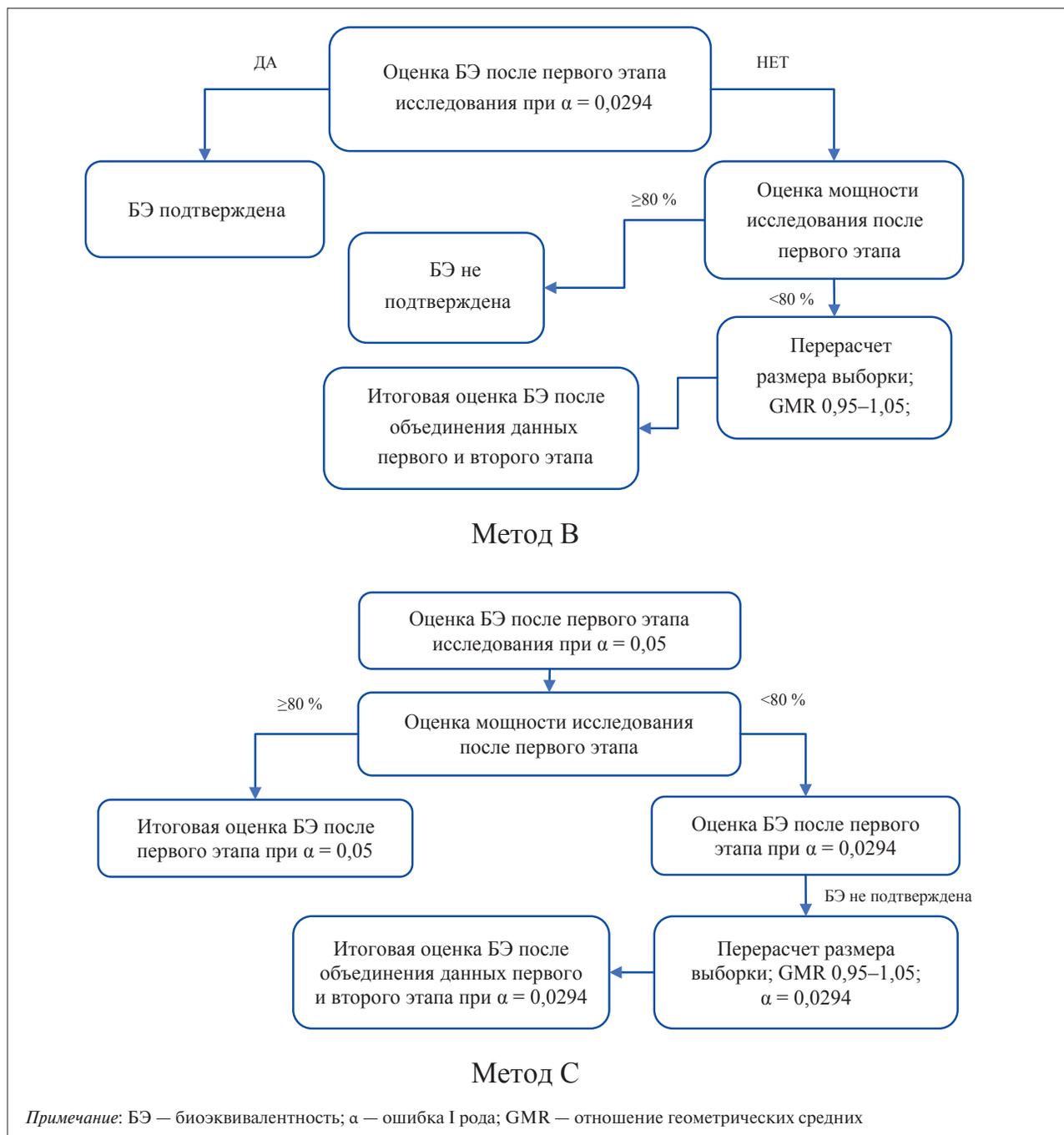


Рис. 1. Алгоритм оценки биоэквивалентности в случае адаптивного дизайна, методы В и С [13]

В случае если планируется исследование биоэквивалентности малоизученного лекарственного вещества, и в литературе не описаны результаты ранее проведенных исследований биоэквивалентности, необходимо предусмотреть проведение пилотного исследования или запланировать исследование биоэквивалентности с двухэтапным дизайном (адаптивным дизайном), который приводит к необходимости множественного тестирования гипотезы биоэквивалентности (отрицания «нулевой гипотезы»), что ведет к повышению вероятности ошибки первого рода (риска потребителя). В связи с этим требуется коррекция ошибки первого рода. Для этого были разработаны различные подходы [13, 14]. Наиболее часто используемыми и приемлемыми с точки зрения регулирующих органов являются подходы В, С по D. Potvine и др. (рис. 1).

Так, при подходе В необходимо оценить биоэквивалентность на 1 этапе, используя скорректированное значение ошибки I рода ($\alpha = 0,0294$), независимо от достигнутой мощности исследования. Если биоэквивалентность подтверждена, исследование останавливается после первого этапа. Если биоэквивалентность не подтверждена, необходимо оценить мощность исследования на основе данных о внутрииндивидуальной вариабельности оцененной на этапе 1 и уровне $\alpha = 0,0294$. Если мощность после 1-го этапа будет более 80 %, то исследование останавливается, биоэквивалентность не подтверждена. Если мощность окажется менее 80 %, то необходимо рассчитать размер выборки на основе данных о внутрииндивидуальной вариабельности, оцененной на этапе 1 и уровне $\alpha = 0,0294$, и перейти ко 2-му этапу исследования. Оценить результаты исследования биоэквивалентности на этапе 2 необходимо с использованием данных обоих этапов при уровне $\alpha = 0,0294$. Независимо от достигнутой мощности биоэквивалентность либо подтверждена, либо нет.

При подходе С необходимо оценить мощность исследования после 1-го этапа исследования, используя данные о полученной внутрииндивидуальной вариабельности при $\alpha = 0,05$. Если мощность больше или равна 80 %, оценить биоэквивалентность при $\alpha = 0,05$. Биоэквивалентность либо подтверждена, либо исследование провалено. Если мощность окажется меньше 80 %, необходимо оценить биоэквивалентность при $\alpha = 0,00294$. Если биоэквивалентность подтверждена, исследование останавливается после первого этапа исследования. В случае если биоэквивалентность не подтверждена, необходимо рассчитать размер выборки на основе данных о внутрииндивидуальной вариабельности, оцененной на этапе 1 и уровне $\alpha = 0,0294$, и перейти ко 2-му этапу исследования. Оценить результаты исследования биоэквивалентности на этапе 2 необходимо с использованием данных обоих этапов при уровне $\alpha = 0,0294$. Независимо от достигнутой мощности биоэквивалентность либо подтверждена, либо нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, для большинства лекарственных средств, для которых в литературе описаны

результаты ранее проведенных исследований биоэквивалентности, можно рекомендовать стандартный двухпериодный, перекрестный дизайн исследований в двух группах и двух последовательностях (2×2). Статистический подход к оценке биоэквивалентности — АВЕ.

Данный статический подход, с учетом регуляторных ограничений, предъявляет определенные критерии для расчета размера выборки при планировании исследования.

1. Допустимые границы доверительного интервала для рассматриваемого фармакокинетического параметра (Q_1, Q_2).

Границы допустимого диапазона для отношений этих параметров в большинстве случаев составляют 80,00–125,00 %.

2. Потребительский риск (α).

Риск потребителя должен быть не более 5 % ($\alpha = 0,05$).

3. **Мощность исследования (β).** Мощность обычно устанавливается на уровне 80 %, что означает, что риск разработчика (производителя) составляет 20 %. Устанавливать значение мощности выше 90 % при оценке выборки неэтично, поскольку в этом случае требуется значительно больший объем выборки.

4. **Предполагаемая точечная оценка (point estimation, PE).** Отношения значений рассматриваемого фармакокинетического параметра, или соответствующая величина отклонения тестируемого препарата от референтного (Δ). Как правило, если нет дополнительной информации, точечную оценку предполагают равной 95 или 90 % ($\Delta = 0,05$ или $\Delta = 0,1$).

5. **Внутрииндивидуальная вариабельность (CV_{intra}).** рассматриваемого фармакокинетического параметра. Значение коэффициента внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}) фармакокинетических параметров оценивают по данным аналогичных исследований или по данным пилотного исследования. Коэффициент вариабельности рассчитывают из соответствующего значения остаточной вариабельности после проведения дисперсионного анализа. В научных публикациях часто не приводится значение CV_{intra} , однако указываются границы доверительных интервалов. Зная границы доверительных интервалов, дизайн исследования и число добровольцев в последовательностях, можно определить соответствующий коэффициент вариабельности [5].

В случае необходимости проведения исследования с параллельным дизайном (длительный период полувыведения, требования к безопасности участников исследования) вместо коэффициента внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}) следует использовать общий коэффициент вариабельности CV_{total} :

$$CV_{total} = 100(\exp((MSE_b + MSE_w)/2) - 1)^{1/2}, \quad (6)$$

где MSE_w — остаточная вариация, MSE_b — межиндивидуальная вариация (от параметра «Субъекты в последовательности»), полученные в результате выполнения дисперсионного анализа [5].

В случае высоковариабельных препаратов следует использовать репликативный (повторный)

дизайн исследования. Исследования с полным повторным дизайном могут быть с четырьмя («2×4×4» — TRTR, RTTR, RTTR и TRRT) или двумя последовательностями («2×2×4» — TRTR, RTTR); исследования с частично повторным дизайном могут быть с тремя («2×3×3» — TRR, RTR и RRT) или двумя («2×2×3» — TRT, RTR) последовательностями. Следует использовать статистические подходы ABEL или RSABE. Размер выборки определяется по тем же принципам, что и при подходе ABE, но с учетом повтора можно значительно сократить требуемый размер выборки [5].

В случае препаратов с узким терапевтическим диапазоном следует использовать стандартный двухпериодный, перекрестный дизайн исследований в двух группах и двух последовательностях (2×2×2). Статистический подход к оценке биоэквивалентности — ABE, но границы признания биоэквивалентности сужены до 90,00–111,11 %. Расчет размера выборки следует проводить с учетом суженных границ. Также возможно использование полного репликативного (повторного) дизайна исследования в двух последовательностях («2×2×4» — TRTR, RTTR). Следует использовать статистический подход RSABE. Размер выборки определяется по тем же принципам, что и при подходе RSABE для высоковариабельных препаратов, но с учетом суженной базовой границы признания 90,00–111,00 %.

Для препаратов — аналогов эндогенных соединений перед статистическим анализом требуется коррекция фармакокинетических параметров на базовую эндогенную концентрацию соединения.

Для недостаточно изученных лекарственных средств при планировании исследования с двухэтапным дизайном следует предусмотреть коррекцию ошибки первого рода. Количество субъектов для второго этапа исследования не может быть заранее оценено до завершения первого этапа исследования и получения данных о коэффициенте внутрииндивидуальной вариабельности.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation, April 12, 2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (In Russ.)]
2. Федеральный закон Российской Федерации от 22 декабря 2014 г. № 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation, December 22, 2014, No. 429-FZ «On Amendments to the Federal Law «On Circulation of Medicines» (In Russ.)]
3. Федеральный закон Российской Федерации от 13 июля 2015 г. № 241-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» и Федеральный закон «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation, July 13, 2015, No. 241-FZ «On Amendments to the Federal Law 'On Circulation of Medicines' and the Federal Law 'On Amendments to the Federal Law 'On Circulation of Medicines'» (In Russ.)]
4. Yu LX, Li BV, eds. FDA Bioequivalence Standards. New York: Springer; 2014
5. Хохлов АЛ, ред. Теоретические и практические основы проведения исследований воспроизведенных лекарственных препаратов: монография. Москва–Ярославль–Прага: Фотолайф; 2017. [Khokhlov AL, ed. Theoretical and Practical Basis for Carrying out Studies of Reproduced Drugs: Monograph. Moscow–Yaroslavl–Prague: PhotoLife; 2017 (In Russ.)]
6. Guideline on Investigation of Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf
7. Смирнов АС, Шнайдер А, Фролов МЮ, Петров ВИ. Современные критерии исследований биоэквивалентности лекарственных средств: гармонизация национальных стандартов. Химико-фармацевтический журнал 2014;48(5):3–10. [Smirnov AS, Schneider A, Frolov MYu, Petrov VI. Modern Criteria of Bioequivalence of Pharmaceuticals: Harmonization of National Standards. Pharmaceutical Chemistry Journal 2014;48(5):3–10 (In Russ.)]
8. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013. [Guidance on Evaluation of Medicines. V. 1. Moscow: Grif i K; 2013 (In Russ.)]
9. Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза. [Rules for Bioequivalence Studies of Drugs of the Eurasian Economic Union (In Russ.)] Available from: [http://www.eurasiancommission.org/ru/act/txnreg/deptexreg/konsultComitet/Documents/%D0%9F%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%BB%D0%B0%20%D0%91%D0%AD%D0%98%20%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B3%20%20%20%20%20%D0%BD%D0%B0%20%D1%81%D0%B0%D0%B9%D1%82.pdf](http://www.eurasiancommission.org/ru/act/txnreg/deptexreg/konsultComitet/Documents/%D0%9F%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%BB%D0%B0%20%D0%91%D0%AD%D0%98%20%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B3%20%20%20%20%20%20%D0%BD%D0%B0%20%D1%81%D0%B0%D0%B9%D1%82.pdf)
10. Jiang W, Makhlof F, Schuirmann DJ, Zhang X, Zheng N, Conner D, et al. A Bioequivalence Approach for Generic Narrow Therapeutic Index Drugs: Evaluation of the Reference-Scaled Approach and Variability Comparison Criterion. AAPS J 2015;17(4):891–901.
11. Davit BM, Chen ML, Conner DP, Haidar SH, Kim S, Lee CH, et al. Implementation of a Reference-Scaled Average Bioequivalence Approach for Highly Variable Generic Drug Products by the US Food and Drug Administration. AAPS J 2012;14(4):915–24.
12. Howe WG. Approximate Confidence Limits on the Mean of X+Y Where X and Y are Two Tabled Independent Random Variables. Journal of the American Statistical Association 1974;69(347):789–94.
13. Potvin D, Diliberti CE, Hauck WW, Parr AF, Schuirmann DJ, and RA Smith. Sequential Design Approaches for Bioequivalence Studies with Crossover Designs. Pharmaceutical Statistics 2008;7(4):245–62.
14. Талибов ОБ. Использование адаптивного дизайна в исследованиях биоэквивалентности (обзор). Вестник Росздравнадзора 2015; (2): 31–4. [Talibov OB. Adaptive Design in Bioequivalence Studies (a Review). The Bulletin of Roszdravnadzor 2015;(2):31–4 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Ромодановский Дмитрий Павлович. Главный эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук

Горячев Дмитрий Владимирович. Директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, д-р мед. наук

Соловьева Анна Петровна. Главный эксперт управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств

Еременко Наталья Николаевна. Главный эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, канд. мед. наук

Статья поступила 01.11.2017

Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Dmitry P. Romodanovsky. Chief Expert of the Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences

Dmitry V. Goryachev. Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences

Anna P. Solovieva. Chief Expert of the Division No. 2 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products

Natalia N. Eremenko. Chief Expert of the Division No. 1 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products. Candidate of Medical Sciences

Article was received 1 November 2017

Accepted for publication 14 May 2018

Информационная система экспертной оценки параметров взаимозаменяемости лекарственных препаратов

* Д. П. Андреев, Е. М. Рычихина, А. В. Козлович, Б. К. Романов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Резюме. Проведены исследования по разработке и внедрению компьютеризированной информационной системы для автоматизации работы эксперта при оценке параметров взаимозаменяемости лекарственных препаратов. Представлены результаты анализа применения процессно-ориентированного подхода к решению задачи по созданию и внедрению разработанного алгоритма оценки параметров взаимозаменяемости лекарственных препаратов в уполномоченном экспертном учреждении. Сформулированы поэтапные задачи, решаемые в процессе разработки информационной системы для автоматизации исполнения стандартных операционных процедур и поддержки принятия регуляторно обоснованных экспертных решений. Представлен комплекс основной нормативно-правовой и научно-технической информации, необходимый для разработки системного проекта развития единой интранет-среды экспертного учреждения, обеспечивающей автоматизацию всех основных технологических процессов, построенных на основе единых системных подходов и принципов. Обосновано, что внедрение в деятельность учреждения разработанной информационной системы обеспечивает высокое качество исполнения стандартной операционной процедуры при определении взаимозаменяемости лекарственных препаратов.

Ключевые слова: лекарственное средство; лекарственный препарат; взаимозаменяемость; информационная система; автоматизация; экспертиза; параметры взаимозаменяемости

Для цитирования: Андреев ДП, Рычихина ЕМ, Козлович АВ, Романов БК. Информационная система экспертной оценки параметров взаимозаменяемости лекарственных препаратов. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):99–102. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-99-102>

* **Контактное лицо:** Андреев Данила Павлович; andreevdp@expmed.ru

Information System for Expert Evaluation of Medicines Interchangeability

* D. P. Andreev, E. M. Rychikhina, A. V. Kozlovich, B. K. Romanov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The article dwells upon the development and implementation of a computerised information system for automation of expert work related to evaluation of medicines interchangeability parameters. The article analyses the results of application of a process-oriented approach to the development and implementation of an interchangeability evaluation algorithm in an expert institution. The article suggests step-by-step solutions for the development of an information system that will make it possible to automate standard operating procedures and help substantiate expert conclusions. The article provides basic legal and regulatory as well as scientific and technological information necessary for the creation of an information systems project for the development of a single intranet environment of an expert institution ensuring the automation of all key technological processes that rest upon single systematic approaches and principles. It was demonstrated that introduction of the designed information system in the institution ensures efficient implementation of standard operating procedures when assessing medicines interchangeability.

Key words: medicinal product; medicine; interchangeability; information systems; automation; evaluation; interchangeability parameters

For citation: Andreev DP, Rychikhina EM, Kozlovich AV, Romanov BK. Information System for Expert Evaluation of Medicines Interchangeability. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):99–102. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-99-102>

* **Contact person:** Danila P. Andreev; andreevdp@expmed.ru

В настоящее время со стороны уполномоченных экспертных организаций в сфере обращения лекарственных средств (ЛС) уделяется особое внимание использованию информационных систем, обеспечивающих специалистам получение оперативного полного доступа к необходимой информации, оптимизации исполнения стандартных операционных процедур, а также помогающих экспертам ограничить риск методических ошибок и субъективизма при принятии решения [1].

Инициация работ по созданию российской информационной системы поддержки стандартной операционной процедуры экспертной оценки параметров взаимозаменяемости лекарственных препаратов (ЛП) для медицинского применения напрямую связана со вступлением в силу за последние два года изменений и дополнений к Федеральному закону Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [2].

Объекты исследования — процессы регистрации и анализа данных, поступающих в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в форме «Оценки взаимозаменяемости лекарственного препарата».

Цель работы — разработка и внедрение в интранет-среду экспертного учреждения компьютеризированной информационной системы для обеспечения оптимизации исполнения стандартной операционной процедуры при оценке параметров взаимозаменяемости ЛП.

Для достижения поставленной цели был реализован процессно-ориентированный подход к внедрению результатов решения задачи по выстраиванию алгоритма проведения оценки параметров взаимозаменяемости ЛП в экспертной организации. При разработке информационной системы учтены рекомендации экспертов по автоматизации всех этапов определения параметров взаимозаменяемости ЛП [3].

Процесс определения взаимозаменяемости лекарственного средства базируется на информации, которая описывает ЛП, в связи с чем эффективность информационной системы определяется актуальностью и полнотой оперативно получаемых официальных данных о лекарственном препарате.

Сравнение параметров взаимозаменяемости впервые регистрируемых ЛП для медицинского применения осуществляется комиссией экспертов. Выводы комиссии экспертов о взаимозаменяемости или невзаимозаменяемости ЛП для медицинского применения, полученные в результате этого сравнения, оформляются в виде приложения к заключению комиссии экспертов.

Взаимозаменяемость ЛП для медицинского применения определяется в порядке, установленном Постановлением Правительства Российской Федерации от 28 октября 2015 г. № 1154 «О порядке определения взаимозаменяемости ЛП для медицинского применения» [4]. Экспертиза документов, подготовка заключения комиссией экспертов и направление данного заключения в Минздрав России осуществляются в срок, не превышающий 110 рабочих дней со дня получения ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава

России задания и необходимых документов в электронной форме или на бумажных носителях.

Ускоренная экспертиза документов, подготовка заключения комиссией экспертов и направление заключения в Минздрав России осуществляются в срок, не превышающий 60 рабочих дней со дня получения ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России задания о проведении ускоренной экспертизы и необходимых документов в электронной форме или на бумажных носителях.

При экспертизе документов, поступивших в рамках исполнения задания с целью определения взаимозаменяемости или невзаимозаменяемости ЛП, каждым экспертом, входящим в состав комиссии экспертов, проводится экспертная оценка и формулируются выводы с учетом следующих условий:

- определению взаимозаменяемости подлежат поступившие на экспертизу воспроизведенные ЛП для медицинского применения и биоаналогичные ЛП, заявления о государственной регистрации которых приняты Минздравом России с 01.07.2015;

- определению взаимозаменяемости не подлежат референтные ЛП, лекарственные растительные препараты, гомеопатические лекарственные препараты и ЛП, которые разрешены для медицинского применения в Российской Федерации более 20 лет и в отношении которых невозможно проведение исследования их биоэквивалентности;

- в качестве референтного ЛП при определении взаимозаменяемости ЛП, заявления о государственной регистрации которых приняты Минздравом России в период 01.07–31.12.2015, должен рассматриваться оригинальный ЛП.

Взаимозаменяемость ЛП устанавливается на основании результатов экспертной оценки следующих шести параметров:

- эквивалентность (для биоаналогичных (био-подобных) ЛП (биоаналогов) — сопоставимость) качественных и количественных характеристик фармацевтических субстанций;

- эквивалентность лекарственной формы;

- эквивалентность или сопоставимость состава вспомогательных веществ ЛП для медицинского применения;

- идентичность способа введения и применения;

- отсутствие клинически значимых различий при проведении исследования биоэквивалентности ЛП или, в случае невозможности проведения этого исследования, отсутствие клинически значимых различий показателей безопасности и эффективности ЛП при проведении исследования терапевтической эквивалентности (для биоаналогов — отсутствие клинически значимых различий безопасности, эффективности и иммуногенности при проведении клинических исследований);

- соответствие производителя ЛС требованиям надлежащей производственной практики.

Решение по результатам определения взаимозаменяемости принимается комиссией экспертов в случае положительной оценки всех шести параметров.

По результатам экспертизы документов формулируется общий вывод комиссии экспертов о взаи-

мозаменяемости или невзаимозаменяемости регистрируемого ЛП.

Первый этап работы по автоматизации труда экспертов, работающих с оценкой параметров определения взаимозаменяемости ЛС, включал в себя изучение нормативной документации, формулировку требований к информационной системе, а также создание алгоритма оценки параметров взаимозаменяемости и подготовку технического задания на разработку и внедрение информационной системы.

На первом этапе, после изучения нормативной и технической документации, были проведены анализ исходного алгоритма действий экспертов и оценка необходимых изменений, возникающих в результате добавления в обязанности ответственных лиц определения взаимозаменяемости ЛС. Опрос экспертов и изучение нормативной документации позволили создать опытную модель операционной процедуры, которая описывает деятельность специалистов, занимающихся вопросами взаимозаменяемости ЛС. Проведенные на первом этапе работы позволили сформулировать предложения по дальнейшей оптимизации первоначально предложенного варианта стандартной операционной процедуры. В результате было подготовлено техническое задание на разработку и внедрение информационной системы.

На втором этапе работы проводилось проектирование информационной системы поддержки экспертной работы с пошаговой реализацией исполнения оптимизированной операционной процедуры в соответствии с условиями информационной среды и требованиями к интеграции создаваемой системы с теми системами, которые уже эксплуатировались в организации.

Третий этап разработки включал в себя практическую реализацию требований технического задания и тестирование проекта системы. На этом этапе разрабатывались необходимые программные компоненты, структура базы данных, производились настройка и проверка работы всех компонентов информационной системы.

На четвертом этапе работы осуществлялась опытно-промышленная эксплуатация в рамках первичной реализации и первоначального внедрения информационной системы. Результатами реализации работ на этом этапе стали разработка эксплуатационной документации и достижение успешного проведения опытной эксплуатации системы в течение определенного времени. Этапы проведенных работ по разработке информационной системы представлены в таблице 1.

Разработанная информационная система позволяет автоматизировать следующие виды экспертной деятельности, связанные с определением взаимозаменяемости ЛП:

- организационно-административные;
- документооборот подразделения;
- работа с информацией о ЛП;
- оформление экспертного заключения;
- разработка сопроводительной документации.

Таблица 1

ЭТАПЫ РАЗРАБОТКИ ИНФОРМАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ

Этап	Содержание проведенных работ
1	Анализ нормативного и технического регулирования для создания опытной модели и формулировки требований к информационной системе, разработка технического задания
2	Проектирование информационной системы
3	Разработка, внедрение и тестирование информационной системы
4	Разработка эксплуатационной документации и проведение опытно-промышленной эксплуатации внедренной информационной системы

Информационная система интегрирована в единую информационную среду экспертного учреждения. При этом значения ряда оцениваемых атрибутов берутся из справочников, созданных ранее для других информационных систем ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России и автоматизирующих иные области его профильной деятельности. Оцифрованные формы документов поступают из обособленного электронного архива [5].

При разработке информационной системы были использованы технологии, обеспечивающие необходимый уровень:

- информационного взаимодействия экспертов с отделами, обеспечивающими техническую и информационную поддержку;

- сохранности документальных материалов и данных;

- интерактивного взаимодействия системы и пользователя;

- автоматического формирования типовой отчетной документации;

- мониторинга выполнения работ и загруженности экспертов.

На созданную информационную систему было получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ [6].

Разработанная информационная система проектировалась на основе актуальных на момент создания принципов, правил и алгоритмов и будет модернизироваться для формирования типовой логики работы на идентичных аппаратно-программных комплексах.

Все информационные системы, проектируемые в составе единой информационной среды экспертного учреждения, планируются как функционально и информационно автономные и независимые. Выход из строя любой из них не должен влиять на работоспособность остальных подсистем и всей системы в целом.

Единая информационная среда учреждения будет функционально объединять уже имеющиеся системы автоматизации и информатизации, работающие в подразделениях ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Для этого в максимальной степени используется имеющийся опыт разработки и эксплуатации информационных систем в подразделениях ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

Создание информационной системы является одним из ключевых шагов на этапе реализации концепции внедрения CALS/PLM-технологий [8].

CALS-технологии (Continuous Acquisition and Lifecycle Support) — это средства непрерывной информационной поддержки поставок и жизненного цикла продукции.

PLM (Product Lifecycle Management) — это технологии управления жизненным циклом продукции, представляющие собой организационно-техническую систему, обеспечивающую управление всей информацией о продукции и связанными с ней процессами на протяжении всего ее жизненного цикла, начиная от исследования и производства до снятия с продаж [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На разработанную компьютеризированную информационную систему получено Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ [6].

Внедрение в деятельность экспертного учреждения разработанной информационной системы обеспечивает высокое качество исполнения стандартной операционной процедуры при определении взаимозаменяемости ЛП для медицинского применения и позволяет реализовать концепцию внедрения CALS/PLM-технологий в единую информационную среду экспертного учреждения.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chaudhry B, Wang G, Wu S, Maglione M, Mojica W, Roth E, et al. Systematic Review: Impact of Health Information Technology on Quality, Efficiency, and Cost of Medical Care. *Ann Intern Med.* 2006;144(10):742–52.
2. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation, April 12, 2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (In Russ.)]
3. Романов БК, Бунятян НД, Олефир ЮВ, Бондарев ВП, Прокофьев АВ, Ягудина РИ и др. Рекомендации по порядку определения взаимозаменяемости лекарственных препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2015;(2):3–8. [Romanov BK, Bunyatyan ND, Olefir YuV, Bondarev VP, Prokofiev AV, Yagudina RI, et al. Recommendations on the Proce-

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Андреев Данила Павлович. Начальник отдела системного анализа и сопровождения информационных систем Управления информатизации *Рычихина Екатерина Михайловна.* Начальник Контрольно-организационного управления, канд. биол. наук

Козлов Алексей Викторович. Заместитель начальника отдела системного анализа и сопровождения информационных систем Управления информатизации

Романов Борис Константинович. Заместитель генерального директора по научной работе, д-р мед. наук, доцент

Статья поступила 15.06.2017
Принята к печати 14.05.2018

4. Постановление Правительства Российской Федерации от 28 октября 2015 г. № 1154 «О порядке определения взаимозаменяемости лекарственных препаратов для медицинского применения». [Decree of the Government of the Russian Federation, October 28, 2015, No. 1154 «On the Procedure for Determining the Interchangeability of Medicinal Products for Medical Use» (In Russ.)]
5. Меркулов ВА, Бунятян НД, Кошечкин КА, Сбоев ГА. Современное состояние и перспективы развития единого информационного пространства ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2013;(4):38–41. [Merkulov VA, Bunyatyan ND, Koshechkin KA, Sboev GA. Current Status and Future Development of Single Information Space of the FSBI «SCEMAP» of the Russian Ministry of Health. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2013;(4):38–41 (In Russ.)]
6. Рычихина ЕМ, Кошечкин КА, Аляутдин РН, Авчуринский СВ, Бойцов МВ, Коптелов КВ и др. Информационная система «Оценка взаимозаменяемости» на интранет-портале. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016662206; 2016. [Rychikhina EM, Koshechkin KA, Alyautdin RN, Avchurinsky SV, Boytsov MV, Koptelov KV, et al. Information System «Assessment of interchangeability» on the Intranet Portal. Certificate of State Registration of the Computer Program No. 2016662206; 2016 (In Russ.)]
7. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 23 сентября 2016 г. № 731н «О внесении изменения в порядок ведения Государственного реестра лекарственных средств для медицинского применения, утвержденный приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 9 февраля 2016 г. № 80н». [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation, September 23, 2016, No. 731n «On Amendments to the Procedure for Maintaining the State Register of Medicinal Products for Medical Use, Approved by Order of the Ministry of Health of the Russian Federation, February 9, No. 80n» (In Russ.)]
8. Кошечкин КА, Олефир ЮВ, Меркулов ВА. Управление информационным сопровождением жизненного цикла лекарственных средств. Концепции применения элементов CALS/PLM-технологий для информационной поддержки жизненного цикла лекарственных средств. М.: Полиграф-Плюс; 2015. [Koshechkin KA, Olefir YuV, Merkulov VA. Management of Information Support of the Life Cycle of Medicines. Concepts of Using Elements of CALS/PLM-technologies for Information Support of the Life Cycle of Medicines. Moscow: Polygraph-Plus; 2015 (In Russ.)]
9. Кошечкин КА. Перспективы применения CALS/PLM-технологий в фармацевтической отрасли Российской Федерации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения* 2014;(1):47–50. [Koshechkin KA. Perspectives of Using CALS/PLM-technologies in the Pharmaceutical Industry of the Russian Federation. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2014;(1):47–50 (In Russ.)]

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Danila P. Andreev. Head of the Department for Systems Analysis and Information Systems Support of the Information Technology Division
Ekaterina M. Rychikhina. Head of the Management and Control Division. Candidate of Biological Sciences

Aleksey V. Kozlovich. Deputy Head of the Department for Systems Analysis and Information Systems Support of the Information Technology Division

Boris K. Romanov. Deputy General Director for Scientific Research. Doctor of Medical Sciences, Assistant Professor

Article was received 15 June 2017
Accepted for publication 14 May 2018

Опыт создания информационной системы управления деятельностью испытательных лабораторий экспертного учреждения в сфере обращения лекарственных средств

* К. А. Кошечкин

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Резюме. В статье описаны результаты внедрения информационной системы управления деятельностью испытательных лабораторий в экспертном учреждении сферы обращения лекарственных средств. Перед автором стояла цель оценить целесообразность применения решений для цифрового сопровождения деятельности лабораторий и функциональные возможности информационной системы федеральным государственным бюджетным учреждением «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации с точки зрения охвата функциональных возможностей различных классов лабораторного программного обеспечения. Внедрение систем автоматизации обусловлено действующими нормативно-правовыми нормами и соответствует общемировым подходам к организации системы менеджмента качества. Организовано управление образцами лекарственных средств, распределение заданий по исполнителям, хранение и управление документацией и автоматизирована подготовка результатов испытаний. Создана возможность прямой интеграции с лабораторным оборудованием для формирования аналитических протоколов без ручного переноса данных. Внедренное решение полностью отвечает требованиям и стандартам, предъявляемым к функционалу лабораторной информационной системы. Аналогичная система подходит для внедрения в химических, фармакологических, медицинских или биохимических лабораториях, ее внедрение позволяет обеспечить соблюдение как национальных, так и международных стандартов. Данные нововведения являются частью концепции внедрения CALS/PLM-технологий, которые находят свое применение в рамках управления деятельностью учреждения.

Ключевые слова: лабораторная информационная система; ЛИМС; автоматизация лаборатории; информационные технологии; система менеджмента качества; информатизация фармации

Для цитирования: Кошечкин КА. Опыт создания информационной системы управления деятельностью испытательных лабораторий экспертного учреждения в сфере обращения лекарственных средств. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):103–108. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-103-108>

* **Контактное лицо:** Кошечкин Константин Александрович; Koshechkin@expmed.ru

Creation of an Information System for Managing the Activities of Testing Laboratories of an Expert Institution in the Sphere of Medicinal Products Circulation

* К. А. Koshechkin

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. This article describes the results of Laboratory Information Management System implementation in an expert institution dealing with medicines evaluation. The purpose of the study was to evaluate the feasibility of providing digital support to the laboratories of the Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation and to assess the functionality of the information system in terms of coverage of functional capabilities of various classes of laboratory software. The implementation of laboratory automation systems is required by the current regulations and is in line with international approaches to organisation of the quality management. The information system implementation made it possible to computerize management of drug samples, distribution of assignments among responsible employees, storage and management of documents, and reporting of test results. It created opportunities for direct integration with laboratory equipment allowing for creation of analytical protocols without manual data transfer. The implemented solution meets all requirements and standards for the functional capabilities of laboratory information systems. A similar system could be used in chemical, pharmacological, medical and biochemical laboratories, its implementation will make it possible to meet both national and international standards. These innovations are part of the concept of CALS/PLM technologies integration into institutions management programmes.

Key words: laboratory information management system; LIMS; laboratory automation; information technology; quality management system; pharmacoinformatics

For citation: Koshechkin KA. Creation of an Information System for Managing the Activities of Testing Laboratories of an Expert Institution in the Sphere of Medicinal Products Circulation. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):103–108. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-103-108>

* **Contact person:** Konstantin A. Koshechkin; Koshechkin@expmed.ru

Высокое качество проводимой экспертной работы является основным требованием к лабораторным испытаниям, выполняемым федеральным государственным бюджетным учреждением «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее — ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). Роль учреждения является ключевой в оценке возможности выхода лекарственного препарата на фармацевтический рынок Российской Федерации [1]. Для обеспечения обоснованной экспертизы качества, пользы и риска применения лекарственного средства при проведении работ должны быть соблюдены все необходимые процедуры, позволяющие гарантировать соблюдение так называемой «надлежащей практики экспертизы». Особое значение играет применение цифровых технологий при выполнении работ. Эксперт, проводящий лабораторную фармацевтическую экспертизу, должен иметь полную и актуальную информацию об испытуемом образце, используемом оборудовании, применяемых материалах, нормативно-правовой документации, регламентирующей выполнение работ, и возможность фиксации полученных при проведении экспертизы результатов. В ходе проводимых в учреждении инспекций Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и Европейского директората по качеству лекарственных средств и здравоохранения (European Directorate for the Quality of Medicines, далее — EDQM) неоднократно отмечалась важность надежной фиксации первичных данных, регистрируемых лабораторным оборудованием, и возможности прослеживания их обработки при формировании протоколов испытаний [2].

Цель работы — оценить целесообразность применения решений для цифрового сопровождения деятельности лабораторий и реализованные возможности информационной системы ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России с точки зрения охвата функций различных классов лабораторного программного обеспечения.

Для соблюдения современных требований к управлению информацией, получаемой в ходе проведения лабораторных испытаний, необходимо применение систем автоматизации. В настоящее время в Российской Федерации действуют ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (далее — GLP) [3], который вступил в действие с 1 августа 2015 года, а также ГОСТ Р 52249–2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств» (далее — GMP) [4], который вступил в действие с 1 января 2010 года. В данных документах приводятся требования к жизненному циклу информации, получаемой при проведении лабораторных испытаний. В последние годы применение стандартов надлежащей практики включено в законодательные требования. Статья 11, пункт 2 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» устанавливает, что «Доклиническое исследование лекарственного средства для медицинского применения проводится в соответствии с правилами над-

лежащей лабораторной практики, утвержденными уполномоченным федеральным органом исполнительной власти» [1]. Этот же закон вводит требования к соблюдению стандарта GMP для получения лицензии на производство.

В настоящий момент оценку соответствия испытательных лабораторий и центров принципам надлежащей лабораторной практики выполняет Федеральная служба по аккредитации на основании постановления Правительства Российской Федерации от 17 декабря 2013 г. № 1172 «О признании и об оценке соответствия испытательных лабораторий (центров) принципам надлежащей лабораторной практики, соответствующим принципам надлежащей лабораторной практики организации экономического сотрудничества и развития» [5, 6]. После вступления в силу соответствующих требований сертификат об аккредитации был получен всего для 12 испытательных центров, включая региональные филиалы.

Необходимо учесть, как обстоит ситуация с получением заключений о соответствии стандарту GMP. На основании «Правил организации и проведения инспектирования производителей лекарственных средств на соответствие требованиям правил надлежащей производственной практики(...)», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 1314 от 3 декабря 2015 г. «Об определении соответствия производителей лекарственных средств требованиям правил надлежащей производственной практики» [7], и на основании Приказа Министерства промышленности и торговли Российской Федерации «Об определении федерального бюджетного учреждения «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Министерства промышленности и торговли Российской Федерации уполномоченным учреждением на проведение инспектирования» № 4184 от 21 декабря 2015 г. федеральное бюджетное учреждение «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» проводит инспектирование производителей лекарственных средств для медицинского применения [8]. На настоящий момент в реестре указано 250 отечественных и 654 зарубежные организации, имеющих заключения о соответствии требованиям GMP¹. При этом общее количество производителей лекарственных средств, зарегистрированных в государственном реестре, составляет около 3000 организаций. Использование информационных систем на предприятиях фармацевтической отрасли для обеспечения качества работы испытательных лабораторий является одним из путей создания на производстве системы менеджмента качества, соответствующей требованиям GMP, и, как следствие, ускорения получения необходимого для работы положительного заключения.

Кроме российских требований к управлению лабораторной информацией необходимо учитывать и международные стандарты. Основными из них являются Title 21 CFR (Code of Federal Regulations) Part 11 FDA (Food and Drug Administration) (Раздел 21

¹ http://minpromtorg.gov.ru/activities/services/licensing/1_11/1_11_4/

Кодекса федеральных правил часть 11 Управления по контролю за продуктами и лекарствами) «Требования к электронным подписям и электронным записям» [9], PIC/S Руководство PI 011 выпускается в рамках Конвенции о фармацевтической инспекции, и схема сотрудничества в области фармацевтической инспекции (PIC/S — Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme) [10], Good automated manufacturing practice (GAMP) «Требования к управлению качеством на автоматизированном производстве» [11]. Соблюдение этих стандартов проверяется международными инспекторатами при проведении аккредитаций.

Отечественные и международные стандарты требуют, чтобы применяемые компьютерные информационные системы были валидированы. Проведение валидации позволяет создать достоверные свидетельства соответствия работы системы требованиям, которые предъявлялись к ней при ее разработке и внедрении. Организация соблюдения этих требований является неотъемлемой частью действий, необходимых для вывода на международный уровень отечественной фармацевтической продукции. Также их соблюдение контролируется при оценке специалистами ВОЗ и EDQM работы с электронными данными в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

Для соблюдения принципов надлежащей лабораторной практики в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в 2011–2015 гг. выполнялись комплексные работы по созданию и внедрению лабораторной информационной системы управления деятельностью в испытательных лабораториях (ИСУ НЦЭСМП). Необходимо отметить, что внедрение системы цифрового управления лабораторным комплексом требовалось в аккредитованных ВОЗ подразделениях. Лабораторная информационная система обеспечивает для Испытательных центров ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России управление проведением фармацевтической лабораторной экспертизы лекарственных средств в соответствии с требованиями национальных стандартов GMP/GLP, а также в соответствии с международными требованиями ВОЗ и EDQM. При этом осуществляется сбор и анализ информации об испытаниях, учет реактивов и материалов, организация закупки и распределения реактивов и материалов по лабораториям, управление нормативно-справочной информацией, контроль соблюдения технологических процессов учреждения.

Система ИСУ НЦЭСМП включает функциональные возможности нескольких классов лабораторных информационных систем. Собственно, Laboratory Information Management System (LIMS, Система управления лабораторной информацией) включает себя базовые элементы управления лабораторией [12]. Например, в функционал, взятый от данного класса систем, входит управление образцами. Для соблюдения требований стандартов обеспечения качества образцы должны быть промаркированы, места их хранения обозначены

и введены в систему. Их расход и передача аналитикам в работу должны контролироваться сопровождаться соответствующими электронными записями.

Другой функциональной возможностью является управление хранением спецификаций для анализируемой продукции, в соответствии с которыми проводятся испытания (в частности нормативной документации на лекарственные препараты). Также в системе может быть выполнено распределение заданий по исполнителям. Это позволяет контролировать исполнение и равномерно распределять нагрузку по экспертам. При этом системой автоматически учитывается квалификация аналитиков и их присутствие на рабочем месте. Получаемые в ходе исследований результаты передаются на двухуровневую систему утверждения. Каждый аналитический лист утверждает начальник лаборатории, а в дальнейшем начальник испытательного центра утверждает сводный протокол испытаний, содержащий общий итог проведенного исследования. При этом документооборот может быть настроен в зависимости от изменения кадрового состава испытательного центра с учетом командировок и отпусков сотрудников. Встроенный компонент audit trail позволяет отслеживать жизненный цикл проводимого исследования, начиная от получения первичных данных, регистрируемых лабораторным оборудованием, включая используемые для испытаний реактивы и стандартные образцы, и заканчивая перечнем лиц, участвовавших в получении результата и его подтверждении.

Ряд функциональных возможностей системы относится к другому классу лабораторного программного обеспечения: Electronic Laboratory Notebook (ELN, Электронный лабораторный журнал) [13]. Основное назначение таких систем — это получение данных с лабораторного оборудования и их интерпретация. Их применение позволяет исключить фиксацию результатов и расчеты на бумаге или в Microsoft Excel. Отдельно данный класс программного обеспечения используется в исследовательских лабораториях, занимающихся научными разработками. Однако и в испытательных лабораториях часть функций систем этого класса более чем востребована. ИСУ НЦЭСМП от данного типа лабораторных информационных систем унаследовала возможность прямой интеграции с лабораторным оборудованием. При этом используется связь между персональным компьютером, где установлена ИСУ НЦЭСМП, и испытательным оборудованием по порту RS232 или через подключение по локальной выделенной вычислительной сети лаборатории с использованием протокола TCP/IP. Например, эта возможность позволяет напрямую получать данные с высокоэффективных жидкостных хроматографов (ВЭЖХ), минуя стадию ручного переноса полученных значений времени удерживания и интенсивности светопоглощения. Затем данные автоматически попадают в электронный аналитический лист, на котором выполняются все необходимые расчеты. Полученные результаты сохраняются в системе.

Следующий класс систем, функциональные возможности которых объединяет ИСУ НЦЭСМП, — это Scientific Data Management System (SDMS, Система управления научной информацией) [14]. Окружение, в котором работают испытательные лаборатории, подчиняющиеся требованиям GMP/GLP, включает в себя огромное количество документации как регуляторного, так и научного характера, которая определяет процедуры и регламент выполняемых работ. Наиболее часто для хранения такой информации используются файловые каталоги на общих сетевых ресурсах. Однако данный подход не относится к решениям надлежащей практики. Основными его минусами является то, что велика вероятность устаревания документов. Также очень часто документы из этих каталогов копируются на локальные рабочие места сотрудников лаборатории, что нарушает связь между обновляемым каталогом нормирующих документов и используемым файлом. Аналогичные затруднения возникают при распечатке документации и использовании ее бумажных копий. Решения SDMS предназначены для хранения и распространения подобной документации в контролируемой форме. При этом обеспечивается использование только актуальных версий документов и исключается возможность их копирования на локальные рабочие места. Особое значение данная возможность имеет для документации системы менеджмента качества: положения, регламенты, стандартные операционные процедуры (СОП) и рабочие инструкции (РИ).

Функционал, схожий с SDMS, создан в рамках ИСУ НЦЭСМП и позволяет как работать с научной документацией, связанной с деятельностью испытательных лабораторий, так и проводить обучение на ее основе. При этом каждый сотрудник ставит отметку в системе об изучении направленного ему документа. В дальнейшем эта информация используется как контрольная точка для анализа квалификации персонала при распределении заданий на проведение испытаний. В этот функционал также включены компоненты, позволяющие отслеживать историю изменений документов, что является немаловажным, учитывая периодически возникающие потребности в ретроспективном анализе проведенных исследований.

В ходе внедрения ИСУ НЦЭСМП интегрирована с другими информационными системами учреждения. Задания на проведение испытаний поступают из системы электронного документооборота учреждения. Сведения о закупленных реактивах связываются с заявками, сформированными в системе, и в качестве источника информации при этом выступает система управленческого учета. Информация об имеющемся в исправном состоянии лабораторном оборудовании поступает из системы, обеспечивающей работу метрологического подразделения учреждения.

Также системой соблюдается ряд базовых принципов управления информацией, например контроль изменений, который подразумевает

ведение журнала истории всех событий в рамках выполняемого исследования. Первичные данные, поступающие в систему с лабораторного оборудования, хранятся в течение всего необходимого срока в соответствии с установленными правилами работы лаборатории. При этом не допускается внесение изменений в первичную информацию ни сотрудниками, проводящими испытания, ни их руководителями.

Внедрение ИСУ НЦЭСМП значительно повлияло на систему обмена информацией. Оборота бумажных носителей не позволяет оперативно передавать экспертам необходимые данные, способствует искажению информации и часто приводит к возникновению конфликтов между специалистами. Вместе с тем решение о максимально возможном переходе лаборатории на электронную форму ведения документооборота требует пересмотра ряда СОП и РИ по правилам регистрации и оформления действий эксперта. ИСУ НЦЭСМП изменила алгоритм работы экспертов за счет наличия электронного документооборота. Вся необходимая нормативная документация находится в ИСУ НЦЭСМП в электронном виде, что позволяет отслеживать версии документов и сократить время поиска необходимой эксперту информации.

Также изменился алгоритм работы с отчетной документацией. Без использования лабораторной информационной системы эксперту приходилось по нескольку часов в день оформлять различные журналы и отчеты. При использовании ИСУ НЦЭСМП предоставляется возможность автоматизированного формирования отчетной документации, а ведение журналов осуществляется автоматически в электронной форме. Эксперту требуется только задать необходимые параметры и запустить процесс формирования отчета.

Необходимо отметить, что возникли изменения и в проведении исследований. Без использования системы автоматизации эксперту приходилось распечатывать результаты исследований и все дальнейшие манипуляции с результатами производить в бумажном виде. После внедрения системы автоматизации лаборатории все данные могут быть переданы напрямую с анализатора в ИСУ НЦЭСМП. Это обеспечивает надежную и моментальную передачу информации. Данные нововведения являются частью концепции внедрения CALS/PLM технологий [15], которые находят свое применение в рамках управления деятельностью учреждения.

Система менеджмента качества, внедренная в учреждении, гарантирует достоверность данных, полученных в ходе проводимых исследований. ИСУ НЦЭСМП является неотъемлемой частью этой системы и обеспечивает поддержку процессов управления качеством: отслеживает сроки действия лабораторных стандартов, обеспечивает последовательность действий персонала лабораторий, документирует и сообщает об отклонениях в работе лабораторий, интегрируется с оборудованием, уменьшая ошибки, связанные с человеческим фактором, выполняет комплексный документированный аудит

всего, что происходит в лаборатории. Система используется для сопровождения десятков тысяч исследований ежегодно, которые проводятся по ряду различных показателей на автоматизированном измерительном оборудовании в целях определения соответствия исследуемых образцов заданным нормативам. Основной задачей проводимой экспертизы является оценка воспроизводимости предложенных производителем лекарственного препарата методик оценки его качества на основании лабораторного анализа представленных образцов. Это обуславливает многообразие аналитических методов, которые должны поддерживаться системой в ходе ее эксплуатации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, требования, предъявляемые в рамках национальных стандартов GLP, GMP и международных инспекторов ВОЗ и EDQM, могут быть выполнены за счет внедрения цифровых систем. Широкие возможности ИСУ НЦЭСМП отвечают необходимым требованиям и стандартам, предъявляемым к функционалу лабораторной информационной системы. ИСУ НЦЭСМП способна удовлетворить все нужды лабораторий испытательных центров учреждения в плане автоматизации деятельности по экспертизе качества лекарственных препаратов и фармацевтических субстанций, заявляемых для государственной регистрации. Система сочетает в себе функциональные возможности нескольких семейств программного обеспечения и позволяет обеспечить цифровое сопровождение ключевых задач в лаборатории. Аналогичная система может быть внедрена и успешно использоваться для автоматизации лабораторных испытаний в химических, фармакологических, медицинских или биохимических лабораториях для соблюдения требований надлежащего качества лабораторной экспертизы. Перевод экспериментальных и аналитических лабораторий на электронные системы управления деятельностью позволяет обеспечить новый, современный уровень качества выполняемых работ.

Автор не заявил о конфликте интересов
The author does not declare a conflict of interest

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation, April 12, 2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (In Russ.)]
2. Меркулов ВА, Сакаева ИВ, Кошечкин КА, Сбоев ГА. Опыт создания системы управления качеством в лабораториях на примере практики внедрения Лабораторной информационной системы. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2012;(4):11–22. [Merkulov VA, Sakaeva IV, Koshechkin KA, Sboev GA. The Experience in Establishing Quality Management System in Laboratories as Exemplified by Introducing Laboratory Information System. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2012;(4):11–22 (In Russ.)]
3. ГОСТ Р 33044–2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ; 2015. [State Standard R 33044–2014. Principles of Good Laboratory Practice. Moscow: Standartinform; 2015 (In Russ.)]
4. ГОСТ Р 52249–2009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. М.: Стандартинформ; 2009. [State Standard R 52249–2009. Rules for the Production and Quality Control of Medicinal Products. Moscow: Standartinform; 2009 (In Russ.)]
5. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 8 ноября 2013 г. № 2067-р «Об утверждении перечня документов в области стандартизации, соблюдение требований которых испытательными лабораториями (центрами) при проведении лабораторных исследований обеспечивает соответствие указанных испытательных лабораторий (центров) принципам надлежащей лабораторной практики Организации экономического сотрудничества и развития». [Order of the Government of the Russian Federation, November 8, 2013, No. 2067-r «On Approval of the List of Documents in the Field of Standardization, Compliance with the Requirements of which the Testing Laboratories (Centers) in Conducting Laboratory Research Ensures that the Specified Testing Laboratories (Centers) Comply with the Principles of Good Laboratory Practice of the Organization for Economic Cooperation and Development» (In Russ.)]
6. Постановление Правительства Российской Федерации от 17 декабря 2013 г. № 1172 «О признании и об оценке соответствия испытательных лабораторий (центров) принципам надлежащей лабораторной практики, соответствующим принципам надлежащей лабораторной практики организации экономического сотрудничества и развития». [Decree of the Government of the Russian Federation, December 17, 2013, No. 1172 «On the Recognition and Assessment of the Conformity of Testing Laboratories (Centers) to the Principles of Good Laboratory Practice, Consistent with the Principles of Good Laboratory Practice of Organizing Economic Cooperation and Development» (In Russ.)]
7. Постановление Правительства Российской Федерации от 3 декабря 2015 г. № 1314 «Об определении соответствия производителей лекарственных средств требованиям правил надлежащей производственной практики». [Decree of the Government of the Russian Federation, December 3, 2015, No. 1314 «On Determining the Conformity of Drug Manufacturers to the Requirements of the Rules of Good Manufacturing Practice» (In Russ.)]
8. Приказ Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 21 декабря 2015 г. № 4184 «Об определении федерального бюджетного учреждения «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Министерства промышленности и торговли Российской Федерации уполномоченным учреждением на проведение инспектирования». [Order of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation, December 21, 2015, No. 4184 «On the Definition of the Federal Budgetary Institution «State Institute of Medicines and Good Practices» of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation as an Authorized Institution for Inspections» (In Russ.)]
9. CFR — Code of Federal Regulations Title 21. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=11>
10. PIC/S Guidance. Good Practices for Computerised Systems in Regulated «GxP» Environments. Available from: <https://www.picscheme.org/layout/document.php?id=155>
11. GAMP 5: A Risk-Based Approach to Compliant GxP Computerized Systems. Available from: <https://www.ispe.org/publications/guidance-documents/gamp-5>
12. Решение для лаборатории и всего предприятия — Лабораторная информационная система STARLIMS. [Solution for the Laboratory and the Whole Enterprise — STARLIMS Laboratory Information System (In Russ.)] Available from: <http://12news.ru/doc5453.html>
13. Myers JD. Collaborative Electronic Notebooks as Electronic Records: Design Issues for the Secure Electronic Laboratory Notebook (ELN). Proc. 2003 Western MultiConf, The Society for Modeling and Simulation, 2003. P. 13–22.
14. Shah K. Elevating Laboratory Informatics to Assist Decision-Making. Pharmaceutical Technology Europe 2009; 21(5). Available from: <http://www.pharmtech.com/elevating-laboratory-informatics-assist-decision-making>
15. Кошечкин КА, Олефир ЮВ, Меркулов ВА. Управление информационным сопровождением жизненного цикла лекар-

ственных средств. Концепции применения элементов CALS/PLM-технологий для информационной поддержки жизненного цикла лекарственных средств. М.: Полиграф-Плюс; 2015. [Koshechkin KA, Olefir YuV, Merkulov VA. Management of Infor-

mation Support of the Life Cycle of Medicines. Concepts of Using Elements of CALS/PLM-technologies for Information Support of the Life Cycle of Medicines. Moscow: Polygraph-Plus; 2015 (In Russ.)]

ОБ АВТОРЕ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2
Кошечкин Константин Александрович. Начальник Управления информатизации, канд. биол. наук

Статья поступила 10.11.2017
Принята к печати 14.05.2018

AUTHOR

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation
Konstantin A. Koshechkin. Head of the Information Technology Division. Candidate of Biological Sciences

Article was received 10 November 2017
Accepted for publication 14 May 2018

Апробация модифицированной техники выполнения интравитреального введения лекарственных средств в глаз кролика

* А. В. Калатанова¹, А. Е. Кательникова², М. Н. Макарова², В. Г. Макаров²

¹Закрытое акционерное общество «Санкт-Петербургский институт фармации»,
Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район,
г.п. Кузьмолловский, Заводская ул., д. 3, к. 245

²Общество с ограниченной ответственностью «Институт доклинических исследований»,
Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район,
г.п. Кузьмолловский, Заводская ул., д. 3, к. 245

Резюме. В статье рассмотрены теоретические основы и успешный опыт апробации модифицированной методики интравитреальной инъекции (ИВИ) в глаз кролика в условиях лаборатории. Необходимость модификации данной методики была обусловлена тем, что в доступных методических рекомендациях, описывающих выполнение ИВИ, в процессе предоперационной подготовки использовались недоступные для работы в условиях вивария на территории Российской Федерации лекарственные средства. Методика ИВИ была модифицирована путем применения воспроизводимой на территории России схемы наркотизации кроликов и доступных в России офтальмологических лекарственных препаратов. В качестве средств для наркоза были выбраны Золетил 50® («Вирбак», Франция) в дозе 1,1 мг/кг и Рометар («Биовета», Чехия) в дозе 5,6 мг/кг при однократном внутривенном введении. Для дополнительной анальгезии однократно внутримышечно кроликам вводили Кетонал® («Лек д.д.», Словения) в дозе 5 мг/кг. В качестве местноанестезирующего средства использовали лекарственный препарат для офтальмологического применения Инокаин®, глазные капли («Промед Экспортс Pvt. Ltd.», Индия), в качестве антисептического средства — разбавленный водой 1:10 Бетадин® (ЗАО «Фармацевтический завод ЭГИС», Венгрия). Проанализированы результаты клинического осмотра животных после проведения ИВИ на этапе самостоятельной отработки навыков лаборантами-исследователями. Оценку параметров развития нежелательных реакций, вызванных ИВИ, выражали в баллах с заполнением первичных карт. Предложенная методика показала хорошую воспроизводимость, в связи с чем может быть рекомендована для использования в доклинических исследованиях офтальмологических лекарственных препаратов на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: интравитреальная инъекция; доклинические исследования; офтальмологические лекарственные средства; безопасность; кролики

Для цитирования: Калатанова АВ, Кательникова АЕ, Макарова МН, Макаров ВГ. Апробация модифицированной техники выполнения интравитреального введения лекарственных средств в глаз кролика. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):109–114. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-109-114>

* **Контактное лицо:** Калатанова Анна Вячеславовна; kalatanova.av@doclinika.ru

Experimental Testing of the Modified Method of Intravitreal Injection in the Rabbit Eye

* A. V. Kalatanova¹, A. E. Katelnikova², M. N. Makarova¹, V. G. Makarov¹

¹Closed Joint Stock Company «St. Petersburg Institute of Pharmacy»,
3/245 Zavodskaya Street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district,
Leningrad region 188663, Russian Federation

²Limited Liability Company «Institute of preclinical research»,
3/245 Zavodskaya Street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district,
Leningrad region 188663, Russian Federation

Abstract. The article describes theoretical foundations and successful experimental testing of a modified method of intravitreal injection (IVI) in the rabbit eye performed in the laboratory. The method needed modification because preoperative preparation described in available guidelines on IVI requires the use of medicines that are not suitable for use in vivariums in the Russian Federation. The IVI procedure for rabbits was modified by using an anesthetic regime reproducible in Russia and available eye preparations. The anesthetics used were Zoletil 50® («Virbac», France) at a dose of 1.1 mg/kg and Rometar («Bioveta, a.s.», Czech Republic) at a single intravenous dose of 5.6 mg/kg. Additional analgesia was achieved by a single intramuscular injection of Ketonal® («Lek d.d.», Slovenia) at a dose of 5 mg/kg. The local anesthetic used was Inokain® eye drops («Promed Exports Pvt. Ltd.», India), the antiseptic used was Betadine® (JSC «EGIS Pharmaceutical plant», Hungary) diluted with water in the proportion of 1:10. The results of clinical examination of animals following IVI performed by lab researchers during unassisted skill training were analysed, and the results of assessment of adverse reactions associated with IVI were expressed as scores and reflected in primary records. The suggested method demonstrated good reproducibility and, therefore, may be recommended for use in preclinical studies of ophthalmic drug products in Russia.

Key words: intravitreal injection; preclinical studies; ophthalmic drugs; safety; rabbits

For citation: Kalatanova AV, Katelnikova AE, Makarova MN, Makarov VG. Experimental Testing of the Modified Method of Intravitreal Injection in the Rabbit Eye. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):109–114. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-109-114>

* **Contact person:** Anna V. Kalatanova; kalatanova.av@doclinika.ru

Неотъемлемой частью разработки лекарственных средств (ЛС) является их доклиническое изучение, которое должно включать в себя оценку токсических свойств при многократном введении экспериментальным животным с использованием пути введения, запланированного для человека в клинической практике. При доклинических исследованиях офтальмологических ЛС применяются такие пути введения, как аппликация на кожу век, нанесение на роговицу, введение/закладывание в конъюнктивальный мешок, инъекции в ткани глаза (стекловидное тело, переднюю камеру глаза) и окружающие ткани. Среди всех современных способов введения ЛС при необходимости доставки их к тканям глаза наибольшая концентрация и, как следствие, терапевтическое воздействие создаются при интравитреальной инъекции (ИВИ).

Задний участок стекловидного тела, куда проникает ЛС в течение первых суток после правильно выполненной ИВИ, находится в непосредственном контакте с сетчаткой. Сетки фибриллярных волокон расходятся от сетчатки и проникают в стекловидное тело или включаются в него. Около 50 % действующих веществ после ИВИ остается в стекловидном теле, при этом в сетчатку и сосудистую оболочку проникает до 13 % введенной дозы. При других способах введения, например субконъюнктивальном, в стекловидное тело, сетчатку и сосудистую оболочку проникает не более 5 % введенной дозы [1].

Эффективность ЛС при ИВИ подтверждена результатами большого количества исследований [2–4], и этот метод активно применяется в клинической практике. В открытой части общей базы данных PubMed за последние пять лет было опубликовано 5348 статей, в которых упоминается использование ИВИ в качестве основного пути введения для офтальмологических лекарственных препаратов, имплантов/капсул с модифицированным высвобождением, а также индукторов патологии роговицы у экспериментальных животных.

Наиболее востребованным ЛС для ИВИ является ранибизумаб. Данный путь введения применим также для препаратов дексаметазона, фибринолитиков и антибиотиков. Применение ИВИ позволяет достигнуть высоких терапевтических результатов, поэтому число ЛС, введение которых подразумевает ИВИ, может быть расширено.

При проведении доклинических исследований воспроизведенных и биоаналоговых ЛС необходимо проводить комплексное поэтапное изучение свойств нового ЛС в сравнении с референтным [5].

Все исследования препаратов в условиях *in vivo*, разрабатываемых для интравитреального введения, в том числе ингибиторов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), как референтных, так и биоаналоговых, рационально проводить с применением ИВИ на животных, что позволяет наиболее полноценно интерпретировать полученные результаты для человека.

Наиболее адекватным видом животных для исследований офтальмологических ЛС являются человекообразные обезьяны, однако их использо-

вание ограничено биоэтическими нормами. В качестве биологической тест-системы часто используют крыс, мышей и кроликов [6, 7]. Инъекция в стекловидное тело грызунам требует точного микродозирования препарата и использования особого увеличительного оборудования как для выполнения самой ИВИ, так и для оценки местного влияния препарата на ткани глазного яблока. В исследованиях офтальмологических ЛС наиболее оправдано использование кроликов, поскольку они имеют достаточный размер глазного яблока для качественного выполнения ИВИ. Кроме того, строение, физиология и фармакокинетические процессы при введении растворов в глаз кролика идентичны таковым у человека [8]. Использование кроликов также позволяет проводить офтальмоскопию и измерять внутриглазное давление.

Для интравитреального введения ЛС необходимы соответствующие манипуляционные и хирургические инструменты, иглы, аксессуары и четкое соблюдение техники оперативного вмешательства. Кроме того, инвазивный характер введения препарата предполагает риск развития осложнений, таких как эндофтальмит (до 1,0 %), увеит (до 1,3 %), отслойка сетчатки (до 0,7 %), разрыв сетчатки (до 2,1 %), кровоизлияние в сетчатку (до 7,2 %), витреальное кровоизлияние (до 0,6 %), развитие катаракты (до 1,4 %) [9].

В отечественных и зарубежных научных работах подробно описана методика ИВИ человеку [10–12]. Методика ИВИ кроликам изложена только в зарубежных статьях [13, 14], однако предложенные методики анестезии, аналгезии и выбор ЛС для офтальмологического применения при воспроизведении в России требуют адаптации.

Цель работы — модификация и апробация метода ИВИ в глаз кролика для дальнейшего обучения лаборантов-исследователей и использования ИВИ в доклинических исследованиях офтальмологических лекарственных препаратов.

Задачи работы:

1. Адаптация с последующей апробацией методов подготовки животного к инъекции:

1.1. Выбор, апробация и отработка навыка введения кролика в общий наркоз нужной глубины и продолжительности;

1.2. Выбор, апробация и отработка навыка размещения животного на операционном столе и обеспечения оптимального доступа к глазу для проведения инъекции;

1.3. Выбор местноанестезирующего средства для офтальмологического применения и отработка метода обезболивания глаза;

1.4. Выбор и апробация антисептического средства для офтальмологического применения, отработка навыка.

2. Апробация методики ИВИ с учетом адаптированной предоперационной подготовки (модификация не проводилась). Освоение навыка лаборантами-исследователями.

3. Отработка навыка послеоперационного ухода за животными.

4. Оценка квалифицированными специалистами качества проведения инъекции, выполненной обучающимися на этапе освоения навыков и контроля обучения, с применением следующих методов:

4.1. Клинический осмотр видимых структур глаза;

4.2. Пальпаторное измерение внутриглазного давления;

4.3. Прямая офтальмоскопия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выполнения методики инъекции в стекловидное тело в качестве тест-системы использовали семь половозрелых самцов кроликов Калифорнийской породы, полученных в питомнике АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», г.п. Кузьмоловский, Ленинградская область. Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях [15].

Кролики получали «Комбикорм для кормления кроликов ПК 90-1-475», изготовленный ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», в соответствии с ГОСТ Р 51166-98. В качестве дополнения в рацион также входило сено.

Все манипуляции, связанные с наркотизацией животных, были проведены в утреннее время до раздачи корма. Животным давали воду, очищенную и нормированную по основным показателям согласно ГОСТ 51232-98 «Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества», доступ к воде не ограничивали.

В связи с тем что животных использовали для отработки методики ИВИ неоднократно и всем им вводили воду для инъекций, разделение на экспериментальные группы не проводили. Инъекции в каждый глаз проводились многократно с минимальным интервалом между повторными инъекциями в течение 14 суток.

Запланированная апробация методики была одобрена на биоэтической комиссии (протокол биоэтической комиссии № 6.2/16 от 22 января 2016 г.). Было учтено, что ИВИ является болезненной процедурой: по классификации, предложенной в Директиве 2010/63/EU [15], она относится к процедурам умеренной степени тяжести, в связи с чем для профилактики боли и дистресса животных на время ИВИ вводили в общий наркоз. Дополнительно для местного обезболивания глаза во время предоперационной подготовки использовали местноанестезирующее средство для офтальмологического применения Инокаин®, глазные капли («Промед Экспортс Pvt. Лтд.», Индия) в дозе 1 капля/глаз кролика однократно.

В процессе апробации модифицированной методики ИВИ было обучено шесть лаборантов-исследователей.

Отработка навыка внутриглазных инъекций включала теоретическую и практическую части. Те-

оретическая часть освоения метода включала следующие темы:

1) анатомия глаза;

2) правила асептики, антисептики при работе с глазом;

3) общая и местная анестезия;

4) предоперационная подготовка;

5) послеоперационный уход.

Далее специалисты осваивали практические навыки, включающие следующие этапы:

1) демонстрация навыка квалифицированным специалистом (ветеринарный офтальмолог);

2) самостоятельное выполнение инъекции с офтальмоскопическим контролем глубины введения иглы;

3) оценка клинического состояния животного, осмотр глаза, офтальмоскопия, измерение внутриглазного давления — не менее семи суток после выполнения ИВИ;

4) анализ ошибок и их устранение;

5) контроль навыка после успешного выполнения не менее семи инъекций.

Техника проведения ИВИ включала три основных этапа: предоперационная подготовка, введение и уход за животными после проведения ИВИ.

1. Предоперационная подготовка

1.1. Введение животного в общий наркоз. В качестве средств для наркоза были выбраны доступные на территории России ЛС для ветеринарного применения следующего состава и режима дозирования: Золетил 50® («Вирбак», Франция) в дозе 1,1 мг/кг и Рометар («Биовета», Чехия) в дозе 5,6 мг/кг при однократном внутривенном введении. Для дополнительной аналгезии однократно внутримышечно вводили Кетонал® («Лек д.д.», Словения) в дозе 5 мг/кг.

1.2. Размещение животного на операционном столе. Анатомическое строение черепа кролика не позволяет точно воспроизвести положение человека на операционном столе во время проведения ИВИ — «лежа на спине», поэтому для введения инъекции кролику использовали альтернативный способ фиксации — в положении «лежа на боку» таким образом, чтобы глаз животного был обращен вверх.

1.3. Использование местноанестезирующего и антисептического средства. В качестве местноанестезирующего средства был выбран лекарственный препарат для офтальмологического применения Инокаин®, глазные капли («Промед Экспортс Pvt. Лтд.», Индия), в качестве антисептического средства — разбавленный водой 1:10 Бетадин®, раствор для местного и наружного применения 10 % (ЗАО «Фармацевтический завод ЭГИС», Венгрия), далее — 1 % раствор бетадина). Подготовку глаза кролика к инъекции осуществляли путем последовательного промывания поверхности роговицы стерильным физиологическим раствором, внесением 1 капли Инокаин® в конъюнктивный мешок на 3 мин, промыванием поверхности роговицы стерильным физиологическим раствором, внесением

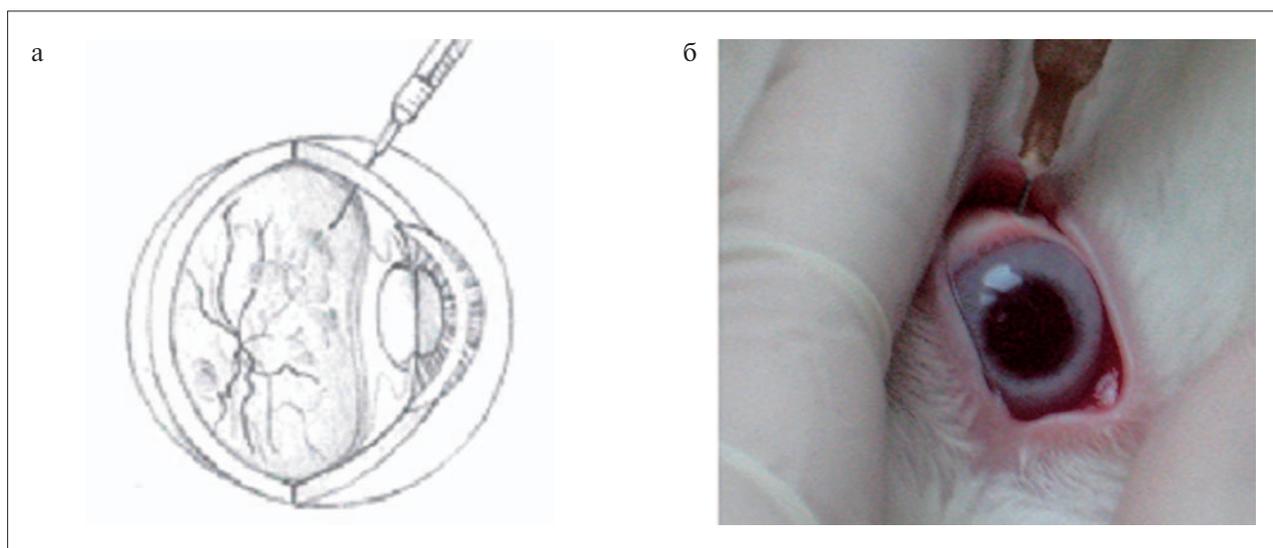


Рис. 1. Интравитреальная инъекция кролику: схема (а); фотография (б)

1 капли 1%-го раствора бетадина (смывание бетадина с конъюнктивы не проводили).

2. Интравитреальную инъекцию (собственно введение) проводили следующим образом.

А. Иглу одноразового инсулинового шприца диаметром 30 G (0,3 мм) проводили через склеру на расстоянии 2–3 мм от лимба в направлении к экватору в верхненаружном квадранте, вглубь стекловидного тела параллельно хрусталику на глубину 2–3 мм (рис. 1).

В. Убедившись в правильности выполненного введения, одним уверенным плавным движением в стекловидное тело вводили воду для инъекций в объеме 100 мкл.

С. Равномерным плавным движением выводили иглу из глаза.

Д. С целью профилактики вытекания введенного препарата проводили тампонирование места инъекции на протяжении 30–40 с.

3. Уход за животными, перенесшими ИВИ, включал в себя помещение кролика на теплую поверхность для профилактики гипотермии и непрерывное наблюдение за животным до полного выхода из наркоза, клинический осмотр глазного яблока, офтальмоскопическую оценку состояния глазного дна, оценку уровня внутриглазного давления.

Клинический осмотр видимых структур глаза животных проводили непосредственно после введения, далее через 4, 24, 72 ч и 7 сут. Осуществлялась полуколичественная оценка параметров развития нежелательных реакций в баллах с заполнением первичных карт. При наличии патологического признака в глазу присваивали 1 балл, при отсутствии признака — ноль баллов. Оценивали следующие показатели: гиперемия конъюнктивы век; гиперемия конъюнктивы глазного яблока; кератит; ксерофтальмия; слезотечение; нагноение; отечность; экзофтальм; мидриаз; миоз. Офтальмоскопию проводили с использованием офтальмоскопа прямого ВЕТА 100 («Heine», Germany), результаты описы-

вали в первичных картах. Внутриглазное давление оценивали в последний день послеоперационного ухода пальпаторно.

После завершения периода наблюдения за животным проводили анализ нежелательных реакций на инъекцию, обсуждали допущенные ошибки и принимали решение о возможности повторной инъекции в тот же глаз для последующей отработки навыков. В случае выявления серьезных нежелательных явлений, вызванных процедурой введения, повторную инъекцию в данный глаз не проводили.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении всего периода обучения после освоения теоретической части каждым лаборантом-исследователем было проведено не менее семи успешных инъекций, процедура каждой инъекции включала в себя предоперационную подготовку и ИВИ в один глаз одному животному. Каждый день обучения один лаборант-исследователь ассистировал выполняющим манипуляции.

В первые дни отработки навыков лаборанты-исследователи выполняли все запланированные манипуляции, однако в процессе проведения ИВИ были зафиксированы неточности выполнения техники следующих манипуляций:

- несоблюдение временных интервалов между внесением в конъюнктивальный мешок анестезирующего, антисептического средства и непосредственной инъекцией;
- неверный угол наклона иглы;
- недостаточная глубина введения иглы;
- недостаточная опора для руки, выполняющей инъекцию, и вследствие этого травмирование роговицы, либо преждевременное выведение иглы из места инъекции;
- многократные попытки введения иглы.

Результаты наблюдения за животными после ИВИ представлены в таблице 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ОСМОТРА ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ИНТРАВИТРЕАЛЬНОЙ ИНЪЕКЦИИ НА ЭТАПЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ОТРАБОТКИ НАВЫКА

Признак	Причина	Частота встречаемости, %
Последствия успешно выполненной инъекции		
Кратковременный отек роговицы (≈4 ч)	Ответная (физиологическая) реакция на локальное нарушение целостности роговицы	58
Последствия инъекции с выявленными неточностями исполнения		
Нарушение целостности роговицы	Недостаточная опора для руки, многократные попытки введения и движение иглы внутри глаза	9
Длительный отек роговицы (более трех сут)	Нарушение предоперационной подготовки и/или техники инъекции	6
Вытекание жидкости из места инъекции и снижение внутриглазного давления	Недостаточное тампонирование	6
Кровоизлияния в месте инъекции	Анатомически неверно выбранное место введения, многократные попытки введения и движение иглы внутри глаза, неверный угол наклона иглы	3
Образование папулы в месте инъекции	Недостаточная глубина введения иглы	1
Проникновение введенного вещества под склеру	Недостаточная глубина введения иглы	1
Витреальное кровоизлияние	Травмирование структур глаза при введении иглы	1

Установлено, что последствия успешно выполненной инъекции, проявленные в виде кратковременного отека роговицы, составили 58 %. Частота встречаемости последствий инъекции с выявленными неточностями исполнения, а именно: нарушения целостности роговицы, длительный отек роговицы, вытекание жидкости, кровоизлияния в месте инъекции, составляла не более 10 %.

Совокупность выявленных последствий инъекции вне зависимости от точности исполнения продемонстрировала, что предложенные местно-анестезирующие и антисептические лекарственные средства для офтальмологического применения при соблюдении предложенных интервалов и техники дозирования не вызывают нежелательных реакций и позволяют обеспечить необходимый для проведения манипуляции уровень асептики и анальгезии.

Решение о возможности проведения повторной инъекции в глаз кролика принималось после полного восстановления целостности и функционального состояния отдельно для каждого глаза.

Контроль навыка проводился только для лаборантов-исследователей, успешно выполнивших семь инъекций (по завершении периода наблюдения за кроликами, перенесшими ИВИ). Наблюдение за животными, инъекцию которым осуществляли в рамках контроля навыка, показало, что заживление в месте инъекции происходило равномерно без признаков нагноения или деструкции.

В результате апробации модифицированной нами методики ИВИ специалисты получили достаточный объем теоретической и практической подготовки и в полной мере освоили технику выполнения ИВИ. Инъекцию освоили 83 % лаборантов-исследователей из числа прошедших обучение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках данной работы нами была проведена модификация с последующей апробацией методики ИВИ кролику. Необходимость проведения данной работы была обусловлена тем, что методика ИВИ кролику ранее не была подробно описана в отечественных источниках, а предложенная зарубежная методика требовала адаптации для воспроизведения в России.

Модификации были подвергнуты методы введения животных в общий наркоз, перечень и техника дозирования местноанестезирующего и антисептического средства для офтальмологического применения. Сама процедура инъекции должна выполняться по общепринятой технике согласно анатомическим ориентирам. Оптимальный для проведения ИВИ доступ к глазу кролика достигается при помещении его в положение «лежа на боку». По результатам проведенной работы рекомендуется использовать следующие ЛС: средства для наркоза Золетил 50® в дозе 1,1 мг/кг и Рометар в дозе 5,6 мг/кг внутривенно; местноанестезирующее средство — Инокаин® в дозе 1 капля/глаз конъюнктивально; антисептическое средство — 1 % раствор бетадина в дозе 1 капля/глаз конъюнктивально.

Для подтверждения работоспособности предложенной нами схемы использовали клинический осмотр видимых структур глаза кролика, офтальмоскопию и измерение внутриглазного давления. Это позволило осуществить контроль и анализ всех ожидаемых нежелательных реакций и принять меры для их предотвращения.

При анализе этапов апробации модифицированной методики ИВИ и последующего обучения лаборантов-исследователей был сделан вывод о том, что

в исследованиях с применением ИВИ целесообразно использовать введение плацебо, что позволит оценить свойства вспомогательных веществ в составе ЛС и определять возможные нежелательные реакции, не связанные с воздействием лекарственного препарата.

Следует подчеркнуть, что апробация методики ИВИ с последующим обучением персонала — длительный процесс, сопряженный с высокими офтальмологическими рисками для животных. К проведению ИВИ следует допускать специалистов, обладающих высоким уровнем знаний в отношении анатомии зрительного анализатора и успешно освоивших технику выполнения прочих инъекций. Модифицированная нами методика ИВИ может быть использована ветеринарными специалистами и лаборантами-исследователями для интравитреального введения ЛС экспериментальным животным.

Поскольку адаптированная и апробированная нами методика ИВИ показала хорошую воспроизводимость, она может быть рекомендована для проведения доклинических исследований офтальмологических лекарственных препаратов.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бойко ЭВ, Сосновский СВ, Березин РД, Качерович ПА, Тавилова ДА. Интравитреальные инъекции: теория и практика. Офтальмологические ведомости 2010;3(2):28–35. [Boyko EV, Sosnovsky SV, Berezin RD, Kacherovich PA, Tavilova DA. Intravitreal Injections: Theory and Practice. Ophthalmology Journal 2010;3(2):28–35 (In Russ.)]
2. Шишкин ММ, Юлдашева НМ, Антонюк СВ. Клинико-морфологические аспекты безопасности интравитреальных инъекций различных доз коллагенина в эксперименте. Кубанский научный медицинский вестник 2011;(1):194–9. [Shishkin MM, Yuldasheva NM, Antonyuk SV. Clinical and Morphological Aspects of the Safety of Intravitreal Injections of Various Doses of Collagenin in the Experiment. Kuban Scientific Medical Bulletin 2011;(1):194–9 (In Russ.)]
3. Белый ЮА, Терещенко АВ, Юдина НН. Оценка эффективности интравитреального применения электролитного раствора гипохлорита натрия в ходе витрэктомии при лечении экзогенного бактериального эндофтальмита. Офтальмохирургия 2007;(2):40–5. [Bely YuA, Tereshchenko AV, Yudina NN. Estimation of the Effectiveness of Intravitreal Administration of Electrolytic Sodium Hypochlorite Solution During Vitrectomy in the Treatment of Exogenous Bacterial Endophthalmitis. Ophthalmic Surgery 2007;(2):40–5 (In Russ.)]
4. Панова ИЕ, Прокопьева МЮ, Авдеева ОН, Резницкая ОВ. Клинико-инструментальный мониторинг в оценке эффективности различных вариантов лечения неоваскулярной возрастной макулодистрофии. Вестник Оренбургского государственного университета 2011;(14):292–4. [Panova IE, Prokopieva MYu, Avdeeva ON, Reznitskaya OV. Clinical and Instrumental Monitoring in Assessing the Effectiveness of Various Treatment Options for Neovascular Age-related Macular Degeneration. Vestnik of the Orenburg State University 2011;(14):292–4 (In Russ.)]
5. Петрова ЕС, Горячев ДВ, Петров МВ. Современные подходы к оценке биоэквивалентности ингаляционных лекарственных препаратов. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017;7(3):135–41. [Petrova ES, Goryachev DV, Petrov MV. Modern Approaches to the Assessment of Orally Inhaled Products Bioequivalence. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017;7(3):135–41 (In Russ.)]
6. Zayit-Soudry S, Zemel E, Loewenstein A, Perlman I. Safety Evaluation of Repeated Intravitreal Injections of Bevacizumab and Ranibizumab in Rabbit Eyes. Retina 2010;30(4):671–81.
7. Sener E, Yuksel N, Yildiz DK, Yilmaz B, Ozdemir O, Caglar Y, et al. The Impact of Subconjunctivally Injected EGF and VEGF Inhibitors on Experimental Corneal Neovascularization in Rat Model. Curr Eye Res. 2011;36(11):1005–13.
8. Del Amo EM, Urtti A. Rabbit as an Animal Model for Intravitreal Pharmacokinetics: Clinical Predictability and Quality of the Published Data. Exp Eye Res. 2015;137:111–24.
9. Гильманшин ТР. Интравитреальное введение кеналога в витреоретинальной хирургии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2008. [Gilmanshin TR. Intravitreal Administration of the Kenolog in Vitreoretinal Surgery. Cand. Med. Sci. [thesis]. Moscow; 2008 (In Russ.)]
10. Yorston D. Intravitreal Injection Technique. Community Eye Health 2014;27(87):47.
11. Lai TY, Liu S, Das S, Lam DS. Intravitreal Injection-technique and Safety. Asia Pac J Ophthalmol (Phila) 2015;4(6):321–8.
12. Иошин ИЭ. Безопасность интравитреальных инъекций. Офтальмохирургия 2017;(3):71–9. [Ioshin IE. Safety of Intravitreal Injections. Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery 2017;(3):71–9 (In Russ.)]
13. Ahn SJ, Hohg HK, Na YM, Park SJ, Ahn J, Oh J, et al. Use of Rabbit Eyes in Pharmacokinetic Studies of Intraocular Drugs. J Vis Exp. 2016;(113). DOI: 10.3791/53878
14. Geroski DH, Edelhauser HF. Drug Delivery for Posterior Segment Eye Disease. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000;41(5):961–4.
15. Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. [Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes (In Russ.)] Available from: http://www.bio.msu.ru/res/DOC365/Dir_2010_63_Rus-LASA.pdf

ОБ АВТОРАХ

Закрытое акционерное общество «Санкт-Петербургский институт фармации». Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245
Калатанова Анна Вячеславовна. Фармаколог группы фармакодинамики

Общество с ограниченной ответственностью «Институт доклинических исследований». Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245
Кательникова Анастасия Евгеньевна. Руководитель группы иммунобиологических исследований
Макарова Марина Николаевна. Директор, д-р мед. наук
Макаров Валерий Геннадьевич. Заместитель директора по науке, д-р мед. наук, проф.

Статья поступила 27.09.2017
Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Closed Joint Stock Company «St. Petersburg Institute of Pharmacy», 3/245 Zavodskaya Street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russian Federation
Anna V. Kalatanova. Pharmacologist of the Pharmacodynamics Group

Limited Liability Company «Institute of Preclinical Research», 3/245 Zavodskaya Street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russian Federation
Anastasia E. Katelnikova. Head of the Immunobiological Research Group

Marina N. Makarova. Director. Doctor of Medical Sciences
Valery G. Makarov. Deputy Director for Science. Doctor of Medical Sciences, Professor

Article was received 27 September 2017
Accepted for publication 14 May 2018

Апробация метода оценки фототоксических эффектов лекарственных препаратов в условиях *in vivo*

* В. А. Вавилова¹, Е. В. Шекунова¹, В. А. Кашкин¹, М. Н. Макарова¹, В. Г. Макаров¹, А. Я. Хайменов²

¹ Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»,
Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район,
г.п. Кузьмоловский, Заводская ул., д. 3, к. 245

² Представительство фирмы «Д-р Редди'с Лабораторис Лтд.» в России,
Российская Федерация, 115035, Москва, Овчинниковская наб., д. 20, стр. 1

Резюме. Фототоксическое действие должно быть оценено для всех лекарственных и косметических средств, которые поглощают средний (UVB), длинноволновой (UVA) или видимый свет в диапазоне от 290 до 700 нм. Для оценки фототоксичности применяют как *in vitro*, так и *in vivo* методы. Для исследований *in vitro* разработаны рекомендации, но для исследований *in vivo* на сегодняшний день каких-либо общепринятых протоколов не существует. Цель работы состояла в апробации экономически целесообразного и информативного метода для оценки фототоксичности препаратов тетрациклина, кеторолака в условиях *in vivo* с использованием аутбредных крыс. При разработке протокола использовали лекарственные препараты, потенциально способные вызывать фототоксические реакции при клиническом применении: тетрациклин (таблетки, 200 и 300 мг/кг) и кеторолак (гель, 13,4, 26,8 и 40,3 мг/кг). Препараты применяли как однократно, так и многократно. Для УФ-экспозиции использовали облучатель ультрафиолетовый ОУФК-03 (ООО «Солнышко», Россия). Облучение (5 и 15 Дж/см²) проводили однократно через 1 ч после введения/нанесения препарата. Кожную реакцию оценивали через 30 мин, 24 ч после облучения и далее ежедневно на протяжении двух недель. Установлены оптимальные параметры, позволяющие оценивать фототоксические реакции лекарственных препаратов *in vivo*: интенсивность излучения при однократном системном введении составляет 15 Дж/см², при однократном местном применении (накожном) — 5 Дж/см²; продолжительность наблюдения для оценки кожной реакции на аутбредных крысах не менее семи суток.

Ключевые слова: фототоксичность; фототоксические реакции; УФ-излучение; тетрациклин; кеторолак; аутбредные крысы

Для цитирования: Вавилова ВА, Шекунова ЕВ, Кашкин ВА, Макарова МН, Макаров ВГ, Хайменов АЯ. Апробация метода оценки фототоксических эффектов лекарственных препаратов в условиях *in vivo*. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):115–122. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-115-122>

* **Контактное лицо:** Вавилова Валерия Александровна; vavilova.va@doclinika.ru

Experimental Testing of an *in vivo* Method of Phototoxicity Evaluation

* V. A. Vavilova¹, E. V. Shekunova¹, V. A. Kashkin¹, M. N. Makarova¹, V. G. Makarov¹, A. Ya. Khaymenov²

¹ JSC Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY»,
3/245 Zavodskaya Street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district,
Leningrad region 188663, Russian Federation

² Russian office of Dr. Reddy's Laboratories Ltd.,
20/1 Ovchinnikovskaya Embankment, Moscow 115035, Russian Federation

Abstract. At present all new medicinal products and cosmetics that absorb medium-wavelength UVB, long-wavelength UVA, or visible light in the range 290–700 nm need to be tested for potential phototoxicity. Phototoxicity is evaluated by both *in vitro* and *in vivo* methods. There are guidelines for *in vitro* phototoxicity evaluation, however, there are no formally validated protocols for *in vivo* phototoxicity evaluation. The purpose of this study was to test an economically viable and informative method for *in vivo* evaluation of tetracycline and ketorolac phototoxicity using outbred rats. Two medicinal products potentially capable of causing clinically established phototoxic reactions were used in this study: tetracycline (tablets, 200 mg/kg and 300 mg/kg) and ketorolac (gel, 13.4 mg/kg, 26.8 mg/kg and 40.3 mg/kg). The medicines were administered in both single and multiple doses. Ultraviolet irradiator OUFK-03 (OOO «Solnyshko», Russia) was used as a light source. The UV exposure (5 J/cm² and 15 J/cm²) was performed once 1 h after medicine administration. The skin reaction was evaluated 30 minutes and 24 hours after irradiation and then daily for 2 weeks. As a result, the following optimal parameters were determined for *in vivo* evaluation of phototoxic reactions caused by the medicines: radiation intensity — 15 J/cm² for single systemic administration and 5 J/cm² for single topical (dermal) administration; recommended period of skin reaction evaluation for outbred rats is not less than 7 days.

Key words: phototoxicity; phototoxic reactions; UV radiation; tetracycline; ketorolac; outbred rats

For citation: Vavilova VA, Shekunova EV, Kashkin VA, Makarova MN, Makarov VG, Khaymenov AY. Experimental Testing of an *in vivo* Method of Phototoxicity Evaluation. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):115–122. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-115-122>

* **Contact person:** Valeria A. Vavilova; vavilova.va@doclinika.ru

При воздействии солнечного или искусственно-го света в слоях кожи активируются биохимические реакции, которые с точки зрения фармакологии, с одной стороны, могут быть полезным инструментом для биотрансформации некоторых пролекарств в активные лекарственные агенты, а с другой — причиной развития побочных эффектов при применении как топических, так и системных лекарственных препаратов (ЛП).

Впервые фотосенсибилизирующее действие лекарственных средств было описано в 1900 году Германом фон Таппайнером (Hermann von Tarpeiner) и его студентом Оскаром Раабом (Oscar Raab) [1]. В 1969 году дерматологи F. Ive, I. Magnus и др. впервые описали клинический случай фотосенсибилизации [2]. Результаты этих наблюдений явились предпосылками для дальнейшего активного изучения фотосенсибилизации под действием ЛП.

Фотосенсибилизирующее (гр. *phos, photos* свет + лат. *sensibilis* чувствительный) действие веществ на клетки организма — это способность вещества (фотосенсибилизирующее вещество — ФВ) при резорбтивном или местном действии снижать устойчивость клеток к воздействию солнечных или искусственных ультрафиолетовых лучей. В качестве ФВ могут выступать как различные лекарственные и косметические средства, так и пищевые продукты. Реакции кожи на сочетанное воздействие света и ФВ можно разделить на две группы: фотоаллергические и фототоксические.

Фотоаллергические реакции — это иммунологически опосредованные реакции по типу антиген (аллерген) — антитело, в которых аллергеном выступает активированное светом ФВ. Фотоаллергические реакции возникают как ответ иммунной системы на свет в присутствии даже ничтожных количеств ФВ. Фотоаллерген может проявлять свое действие лишь после активации под действием света с последующим связыванием с белками кожи. Эти реакции запускаются так же, как и реакции клеточного иммунного ответа.

Фототоксические реакции в большинстве случаев возникают в результате прямого повреждения тканей, вызванного ФВ. Большинство ФВ содержат в структуре молекул хотя бы одну двойную связь или ароматическое кольцо, которые могут поглощать энергию световых волн. Большинство соединений активируются электромагнитными волнами в длинноволновом и в среднем диапазоне, хотя некоторые соединения имеют пик поглощения в видимом диапазоне.

Понимание механизма токсического воздействия света на кожу требует знания как природы солнечного света, так и оптических свойств кожи.

Солнечный свет состоит из непрерывного спектра электромагнитного излучения, которое делится по длине волны на три главные области: ультрафиолетовую (UV) — от 10 до 400 нм, видимую (от 380 до 780 нм) и инфракрасную (от 700 нм до 1 мм). Электромагнитный спектр УФ-излучения дополнительно делят на несколько областей, каждая из которых обладает особыми биологическими эффектами,

основные из которых: длинноволновой диапазон (UVA) — 315–400 нм, средний диапазон (UVB) — 280–315 нм и коротковолновой (UVC) — 100–280 нм. Наиболее активным с биологической точки зрения является электромагнитное излучение с длиной волны от 290 до 700 нм.

Кожу человека можно рассматривать как оптически гетерогенную среду, состоящую из трех слоев, которые имеют различные показатели преломления, распределения хромофора и светорассеивающие свойства. Световые волны, входящие в роговой слой дермы, частично (до 10 %) отражаются, остальные поглощаются и подвергаются интенсивному рассеиванию (до 50 %) содержащейся в роговом слое урокановой кислотой, меланином и белками, содержащими ароматические аминокислоты триптофан и тирозин. Около 40 % электромагнитных ультрафиолетовых волн и до 60 % видимого диапазона передаются через роговой слой к эпидермису и нижележащим слоям кожи, где происходит их постепенное рассеяние и поглощение.

В тканях электромагнитное излучение приводит к возбуждению электронов молекул ФВ из стабильного в возбужденное состояние. Возбужденные электроны стремятся вернуться в стабильное состояние и передают свою энергию другим молекулам, например молекулам кислорода, что приводит к образованию ионов кислорода. Активные формы кислорода повреждают клеточные мембраны и ДНК. Также происходит активация синтеза цитокинов и арахидоновой кислоты. В результате развивается местная воспалительная реакция, клинически проявляющаяся как солнечный ожог.

Кроме того, учитывая интенсивный кровоток в микрокапиллярах кожи (в течение 20 мин весь объем крови взрослого человека может быть облучен через кожу), происходит активное облучение крови и прямое взаимодействие световых волн с содержащимися в системном кровотоке молекулами лекарственных средств. Степень кожной реакции зависит от их химической природы, концентрации (терапевтической дозы), длительности экспозиции, интенсивности и длины световых волн, продолжительности облучения, уровня абсорбции кожей ФВ, зависящей от толщины рогового слоя, количества меланина, секретируемых кожных желез. Как правило, фототоксические реакции проявляются как более интенсивная, чем загар, реакция кожи в виде интенсивных «сливных» красных пятен — эритем.

Для соединений, которые потенциально могут обладать фототоксическими свойствами, критическими являются следующие характеристики:

- способность поглощать естественный свет в диапазоне 290–700 нм;
- способность продуцировать свободные радикалы под воздействием ультрафиолета или видимого света;
- присутствие в остаточном количестве в органах и тканях, подвергающихся воздействию солнечного света (кожа, глаза).

Если одно или более из этих условий нехарактерно для изучаемого соединения, то нет необхо-

димости изучать его возможные фототоксические свойства.

В настоящее время при исследовании безопасности лекарственных и косметических средств, которые поглощают в длинноволновом и в среднем или видимом диапазоне, должно быть оценено их возможное фототоксическое действие. Такие требования отражены в руководствах Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA), Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA), а также в документах Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных средств для применения у человека (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH) [3–5].

Для оценки фототоксичности применяют как *in vitro*, так и *in vivo* методы. Эксперименты в условиях *in vitro* в последние годы получили широкое распространение, так как они обладают высокой степенью информативности и позволяют не использовать экспериментальных животных. Наиболее часто для изучения возможных фототоксических эффектов используется 3T3 NRU PT тест (3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test), описанный в руководстве No. 432 [6] Организации экономического сотрудничества и развития (Organization for Economic Cooperation and Development, OECD) и соответствующем ему ГОСТ 32372–2013 [7].

Для изучения фототоксичности в условиях *in vivo* на сегодняшний день каких-либо общепринятых протоколов не существует. Руководством FDA, опубликованным в 2003 году [4], рекомендовано проведение как краткосрочного, так и продолжительного тестирования на животных. Хотя фототоксическая реакция развивается уже после однократного применения лекарственных препаратов, продолжительность исследования должна быть обоснована, поскольку существует опасность их накопления в тканях кожи и глазного яблока. Длительное изучение фототоксичности проводят в том случае, если это исследование заведомо даст клинически значимую информацию. Обычно используется дизайн, при котором введение препарата осуществляется в течение нескольких дней, однако особенности фармакокинетики и продолжительность его клинического применения должны учитываться при планировании эксперимента. Если уже накоплено достаточно информации о фототоксических свойствах исследуемого препарата или веществ данной фармакологической группы, то исследования подобного типа можно не проводить.

Периодичность облучения может быть как однократной, так и многократной. Облучение должно соответствовать периоду достижения максимальной концентрации нанесенного или введенного препарата в кожных покровах или в плазме крови. Принцип выбора доз соответствует аналогичному методу выбора при проведении токсикологических экспе-

риментов. Если негативный результат получен при введении максимальной тестируемой дозы, изучение фототоксичности при введении более низких доз не требуется. Если же есть основания полагать, что субстанция обладает фототоксическими свойствами, то целесообразно ее протестировать и при введении дозы, близкой или равной дозе, не вызывающей побочного действия (NOAEL) [3, 5].

Исследования *in vivo* необходимы для более полной оценки безопасности новых лекарственных препаратов. Если наличие фототоксических свойств активной фармацевтической субстанции установлено в тесте 3T3 NRU PT *in vitro*, то необходимо проведение эксперимента и на животных. Если в исследовании *in vivo* ожидаются положительные результаты, необходимо подтвердить, что доза, не вызывающая побочного действия (NOAEL), установленная по результатам токсикологических экспериментов, не индуцирует фототоксические реакции. Если при системном введении субстанции на уровне доз, соответствующих NOAEL, наблюдаются фототоксические реакции, разработчику необходимо оценить целесообразность проведения клинических исследований и дальнейшей разработки лекарственного средства [8]. Если же целесообразность разработки лекарственного средства обоснована, то на этапе подготовки инструкции по медицинскому применению необходимо подробно описать способы предотвращения развития фототоксичности и меры, которые необходимо предпринять в случае, если фототоксичность проявилась при применении препарата. В число этих мер может входить ограничение (вплоть до полного исключения) времени пребывания на открытом пространстве, особенно во время пика солнечной активности [9].

Таким образом, проведение исследований фототоксичности ЛП на животных является важным этапом разработки.

Цель работы — апробация метода изучения фототоксичности лекарственных препаратов на примере тетрациклина и кеторолака в условиях *in vivo* с использованием аутбредных крыс с непигментированной кожей.

В экспериментальном исследовании использовали антибиотик тетрациклин (препарат с установленными фототоксическими свойствами [10–13]) в форме для системного применения, и кеторолак — нестероидный противовоспалительный препарат (НПВП) в форме для местного применения. Известно, что НПВП могут вызывать фототоксические реакции, особенно при кожном применении [14–16]. Риск развития фототоксических реакций для ЛП кеторолака был установлен ранее в условиях *in vitro* [17].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные. Исследования проводили на аутбредных самцах крыс, массой в диапазоне 250–300 г, полученных из питомника АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (Россия).

Условия содержания. Крыс содержали группами в стандартных прозрачных пластиковых клетках, на

кукурузном подстиле, в контролируемых условиях окружающей среды (температура воздуха 19–25 °С, относительная влажность 30–70 %). Световой режим составил 12 ч света и 12 ч темноты. Стандартный корм для лабораторных животных «ЛБК-120» (ЗАО «Тосненский комбикормовый завод») и воду животные получали *ad libitum*.

Данная научно-исследовательская работа была рассмотрена на биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» и одобрена для проведения (№ БЭК 3.60/16 от 2 декабря 2016 г.). Количество животных было минимальным с точки зрения этических принципов. Для каждой схемы облучения использовали пять особей, что было достаточным для оценки характера и частоты проявления фототоксического эффекта препарата.

Лекарственные препараты. В исследовании использовали ЛП, потенциально способные вызывать фототоксические реакции при клиническом применении [11, 12, 14, 15, 17].

Тетрациклин в лекарственной форме таблетки, покрытые оболочкой. Для приготовления доз для введения препарат суспензировали в 1 % растворе крахмала.

Кеторолак в лекарственной форме гель для наружного применения с концентрацией 2 %.

Дозы и способ введения. Тетрациклин внутривенно (в/в) вводили в дозах 200 мг/кг (2 высшие терапевтических дозы, далее — ВТД) и 300 мг/кг (3 ВТД), при перерасчете на крысу с учетом площади поверхности тела. Препарат в дозе 200 мг/кг вводили двукратно (за 24 и 1 ч до УФ-экспозиции) и однократно (за 1 ч до УФ-экспозиции), в дозе 300 мг/кг — однократно за 1 ч до УФ-экспозиции. Время экспозиции составляло 120 или 360 мин.

УФ-экспозицию осуществляли через 1 ч после введения препарата, поскольку время достижения максимальной концентрации тетрациклина в плазме крови составляет 2–4 ч [18].

Кеторолак (гель) наносили на кожу, равномерно распределив до полного впитывания на заранее подготовленный участок кожи животного, в дозах 13,4 (2 ВТД), 26,8 (4 ВТД) и 40,3 мг/кг (6 ВТД) в течение 1 месяца или однократно за 1 ч до облучения. Облучение проводили во всех случаях однократно. Время экспозиции — 120 или 360 мин.

В качестве контроля в эксперимент были включены группы животных, которым или наносили «плацебо» (вспомогательные вещества геля кеторолак) или вводили 1 % раствор крахмала, внутривенно, для групп, получавших тетрациклин, с последующим облучением в течение 120 и 360 мин. Для исключения местнораздражающего действия препарата была сформирована группа животных, получавшая кеторолак (гель) на кожу в течение месяца в дозе 40,3 мг/кг, не подвергающаяся облучению.

Наркотизация перед УФ-экспозицией. Перед размещением под источник УФ-излучения животных вводили в наркоз смесью раствора Золетил (20 мг/кг) и раствора Ксилазин (4 мг/кг) (1:1) в объеме 1 мл/кг массы тела.

УФ-экспозиция. Всем животным перед началом эксперимента выбривали участок кожи на спине, размером 2 × 3 см, который в дальнейшем подвергали облучению.

Предварительно наркотизированные животные были размещены под источником УФ-излучения на расстоянии 5 см (облучатель ультрафиолетовый ОУФК-03, производитель ООО «Солнышко», Россия) через 1 ч после введения/нанесения препаратов. Время экспозиции по разным схемам составляло 120 и 360 мин, что было достаточным для получения дозы 5 и 15 Дж/см² соответственно.

Оценка фототоксичности. Кожную реакцию оценивали через 30 мин, 24 ч после облучения и далее ежедневно на протяжении двух недель [19]. Кожная реакция оценивалась по наличию эритемы, отека и других повреждений кожного покрова по следующей шкале [20]:

«+» — наличие слабо выраженной эритемы и/или эдемы;

«++» — наличие эритемы и/или эдемы и/или трещин кожного покрова умеренной степени выраженности;

«+++» — наличие сильно выраженной эритемы и/или эдемы и/или трещин кожного покрова, изъязвлений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований фототоксичности лекарственного препарата тетрациклин приведены в таблице 1. Из представленных данных следует, что при облучении животных в течение 120 мин реакция в виде незначительной эритемы наблюдалась только у животных, получавших тетрациклин однократно в дозе 300 мг/кг и двукратно в дозе 200 мг/кг. Схожие результаты были получены при однократном введении препарата в дозе 200 мг/кг при экспозиции 360 мин. У животных, облучавшихся в течение 120 мин после однократного введения тетрациклина в дозе 200 мг/кг, изменений не наблюдалось, так же как и у контрольной группы, которую облучали в течение 2 и 6 ч.

Наиболее выраженная фототоксическая реакция наблюдалась при облучении крыс в течение 360 мин после двукратного введения тетрациклина в дозе 200 мг/кг или однократного в дозе 300 мг/кг. Однако изменения кожного покрова (эритема, отек и трещины) начали проявляться только на третьи сутки после облучения. К седьмым суткам у некоторых крыс появлялось изъязвление кожного покрова. К одиннадцатым — наблюдалось заживление дефектов кожи. Следует отметить, что при клиническом применении, тетрациклин способен вызывать такие фототоксические реакции, как эритема, псевдопорфирия, крапивница и пигментация [11].

Таким образом, фототоксические реакции при в/в введении тетрациклина были наиболее выражены при экспозиции УФ-излучения интенсивностью 15 Дж/см².

Схемы применения кеторолака (гель) и результаты исследований фототоксичности препарата представлены в таблице 2.

Таблица 1

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП И РЕЗУЛЬТАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ФОТОТОКСИЧНОСТИ
 ПРЕПАРАТА ТЕТРАЦИКЛИН, n = 5**

Препарат	Время экспозиции, мин (интенсивность, Дж/см ²)	Доза, мг/кг		Результаты
		за 24 ч до УФ	за 1 ч до УФ	
Плацебо	120 (5 Дж/см ²)	0	0	—
Тетрациклин, таблетки		—	200	—
		200	200	+
		—	300	+
Плацебо	360 (15 Дж/см ²)	0	0	—
Тетрациклин, таблетки		—	200	+
		200	200	+++
		—	300	+++

Примечание. «—» — отсутствие изменений (и/или вводимой дозы); «+» — незначительная эритема или отек; «++» — выраженные эритема и отек; «+++» — эритема, отек, трещины кожного покрова или язвы.

Таблица 2

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП И РЕЗУЛЬТАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ФОТОТОКСИЧНОСТИ
 ПРЕПАРАТА КЕТОРОЛАК ГЕЛЬ, n = 5**

Препарат	Время экспозиции, мин (интенсивность, Дж/см ²)	Период введения	Доза, мг/кг	Результаты
Плацебо	360 (15 Дж/см ²)	В течение месяца	0	—
Кеторолак, гель	120 (5 Дж/см ²)	В течение месяца	—	—
			13,4	+
		В течение месяца	26,8	++
			40,3	+++
		За 1 ч до УФ	13,4	+
			26,8	++
	360 (15 Дж/см ²)	За 1 ч до УФ	40,3	+++
			13,4	++
			26,8	+++
			40,3	+++

Примечание. «—» — отсутствие изменений (и/или облучения); «+» — незначительная эритема или отек; «++» — эритема и отек или язвы; «+++» — эритема, отек, трещины кожного покрова, язвы.

Накожное нанесение кеторолака геля в дозе 40,3 мг/кг в течение месяца животным, не подвергавшимся облучению, не вызывало изменений кожи, что исключает местнораздражающее действие самого препарата. Каких-либо фототоксических реакций не отмечалось и у животных, которых обучали в течение 360 мин на фоне нанесения «плацебо», что указывает на адекватно подобранные параметры излучения.

В результате облучения, экспозиция которого составила 120 мин, после нанесения кеторолака геля в течение месяца в дозе 13,4 мг/кг у крыс наблюдалась эритема, в дозе 26,8 мг/кг у всех животных наблюдались эритема и незначительный отек, которые к четвертым суткам переходили в изъязвления. На десятые сутки наблюдалось заживление кожных покровов. Фототоксические реакции проявлялись непосредственно по окончании экс-

позиции. В группе, получавшей препарат в дозе 40,3 мг/кг, наблюдалась 60 % смертность, причиной которой, возможно, является сочетание факторов эксперимента (наркоз и нанесение кеторолака). В месте облучения у них наблюдались эритема, отек и кровотокающие трещины кожного покрова (рис. 1). При однократном нанесении препарата за 1 ч до облучения погибла одна особь, получившая препарат в максимальной дозе (на вторые сутки), у выживших крыс наблюдались незначительный отек и трещины кожного покрова, проявившиеся на третьи—пятые сутки после экспозиции. К восьмым суткам наблюдалось образование язв.

При экспозиции 360 мин после однократного нанесения кеторолака в дозе 13,4 мг/кг у животных с третьих суток наблюдались незначительные изъязвления кожного покрова, которые к четырнадцатым суткам полностью заживали. После нанесения



Рис. 1. Эритема, отек, трещины кожного покрова у крысы, получавшей кеторолак в дозе 40,3 мг/кг в течение месяца, после УФ-экспозиции 120 мин (5 Дж/см²)

в дозе 26,8 мг/кг фототоксические реакции проявлялись раньше: на вторые сутки у крыс отмечались эритема и трещины кожного покрова, к восьмым суткам появились изъязвления, сохранявшиеся до четырнадцати суток (рис. 2). Аналогичные поражения кожных покровов наблюдались и при экспозиции 120 мин после однократного нанесения, но были менее выражены. При экспозиции 360 мин после нанесения препарата в дозе 40,3 мг/кг у двух крыс наблюдались незначительный отек и трещины кожного покрова сразу после облучения, к четвертым—шестым суткам отмечались эритема кожного покрова, образование язв, сохранявшиеся до четырнадцати суток, одна особь погибла.

Наблюдаемые у крыс фототоксические реакции в целом соответствовали реакциям, которые выяв-



Рис. 2. Изъязвление кожных покровов у крысы, получившей кеторолак в дозе 26,8 мг/кг однократно, после УФ-экспозиции 360 мин (15 Дж/см²)

лены при клиническом применении нестероидных противовоспалительных препаратов. Фототоксические реакции, особенно при накожном применении препаратов этой группы, клинически проявляются в виде развития эдемы, эритемы, везикул, дерматита [14–16].

Таким образом, для выявления фототоксических реакций кеторолака при накожном нанесении достаточно применения экспозиции УФ-излучения интенсивностью 5 Дж/см².

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование было направлено на апробацию экономически целесообразного и информативного метода для оценки фототоксичности препаратов *in vivo* с использованием аутбредных крыс. Для изучения фототоксических реакций наиболее часто эксперименты проводят на животных с непигментированной кожей. Как показали результаты проведенного исследования, аутбредные крысы с непигментированной кожей являются адекватной тест-системой для оценки фототоксических свойств препаратов в данных экспериментальных условиях как при системном (в/ж) введении, так и при местном (накожном) нанесении. Было показано, что как тетрациклин, так и кеторолак в отсутствие УФ-воздействия не оказывали влияния на состояние кожных покровов крыс. Включение в эксперимент контрольной группы, не подвергающейся УФ-облучению, особенно важно для лекарственных форм для наружного применения, поскольку существует вероятность развития местных реакций, вызванных самим препаратом (местнораздражающее действие). В этом случае для изучения возможных фототоксических свойств должна быть выбрана доза, не вызывающая местнораздражающего действия. Кеторолак гель в дозах, которые были применены в данном эксперименте, не оказывал местнораздражающего действия, как при однократном, так и многократном (в течение 30 суток) накожном нанесении. Наличие таких контрольных групп в эксперименте является необходимым условием, так как позволяет дифференцировать фототоксические реакции от возможного местнораздражающего действия или аллергических реакций.

Другим важным параметром является выбор характеристик облучения. Интенсивность солнечного излучения, которой может подвергаться человек, зависит от многих факторов, таких как широта местности, высота над уровнем моря, сезон, погода и время суток. К тому же чувствительность кожи к воздействию солнечного света индивидуальна и зависит от типа кожи. Для проведения экспериментов должна быть использована доза излучения, которую можно получить, находясь на открытом пространстве в солнечный день, в полдень, в умеренном поясе, на уровне моря, что соответствует интенсивности 5–20 Дж/см² [3–5].

Существует большое количество УФ-облучателей, которые рекомендуются производителями для изучения фототоксичности в условиях лабора-

тории. Однако данное оборудование является дорогостоящим. В проведенном эксперименте в качестве источника излучения был использован недорогой отечественный прибор ОУФК-03. По информации, заявленной производителем, данный облучатель позволяет генерировать УФ-излучение в диапазоне от 300 до 400 нм, таким образом, полностью воспроизводя длинноволновый УФ-диапазон. Результаты показали, что при использовании данного прибора для выявления фототоксических свойств целесообразно проводить тестирование с применением интенсивности излучения 5 Дж/см² в случае однократного кожного нанесения препаратов. При тестировании препаратов для системного применения необходимо увеличение интенсивности УФ-облучения до 15 Дж/см².

Наиболее информативным клиническим признаком вызванной веществом фототоксической реакции является образование эритемы и/или отека. В проведенном исследовании кроме эритемы и отека было отмечено развитие трещин и изъязвлений кожного покрова. Реакция кожи должна оцениваться через различные промежутки времени после облучения, наиболее часто используются периоды 0,5; 24; 48 и 72 ч [20–23]. Но для ряда веществ, особенно тех, которые медленно проникают в кожу, иногда необходим более длительный период наблюдения (до 5 суток) как описано в рекомендациях по оценке фототоксических свойств в руководстве под редакцией Н. Vogel [19]. Однако результаты данного исследования показали, что для полной оценки фототоксических реакций необходимо осуществлять наблюдение за животными как минимум в течение семи суток после облучения. Более длительное наблюдение с оценкой скорости регенерации полученных изменений также может дать дополнительную информацию в плане оценки тяжести вызванных повреждений, что может быть важно при сравнительной оценке фототоксических свойств препаратов, и их обратимости.

*Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tappeiner H, Raab O. Ueber die Wirkung Fluorescierender Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O. Raab. Munch Med Wochenschr. 1900;47:5.
2. Ive FA, Magnus IA, Warin RP, Jones EW. «Actinic Reticuloid»; a Chronic Dermatitis Associated with Severe Photosensitivity and the Histological Resemblance to Lymphoma. Br J Dermatol. 1969;81(7):469–85.
3. Note for Guidance on Photosafety Testing. London, UK: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Product; 2002. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003353.pdf
4. Guidance for Industry Photosafety Testing. Rockville, MD: Center for Drug Evaluation and Research Food and Drug Administration; 2003.

Available from: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvm/suppdocs/fedddocs/fda/fda-3640fnl.pdf>

5. Guidance on Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals. Geneva, Switzerland: ICH Harmonised Tripartite Guideline; 2013. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S10/S10_Step_4.pdf
6. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 432: *In Vitro* 3T3 NRU Phototoxicity Test. OECD. Organization for Economic Cooperation and Development; 2004. Available from: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvm/suppdocs/feddocs/oecd/oecdtg432-508.pdf>
7. Межгосударственный стандарт ГОСТ 32372–2013. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. *In vitro* 3T3 NRU тест на фототоксичность. М.: Стандартинформ; 2014. [Interstate Standard GOST 32372–2013. Testing of Chemical of Health Hazard. *In Vitro* 3T3 NRU Phototoxicity Test. Moscow: Standartinform; 2014 (In Russ.)]
8. ГОСТ Р 56701–2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств. М.: Стандартинформ; 2016. [GOST R 56701–2015. Medicines for Medical Applications. Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. Moscow: Standartinform; 2016 (In Russ.)]
9. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2014. [Guidance on Evaluation of Medicines. V. 1. Moscow: Grif i K; 2014 (In Russ.)]
10. Wlodek C, Narayan S. A Reminder about Photo-onycholysis Induced by Tetracycline, and the First Report of a Case Induced by Lymecycline. Clin Exp Dermatol. 2014;39(6):746–7.
11. Vassileva SG, Mateev G, Parish LC. Antimicrobial Photosensitive Reactions. Arch Intern Med. 1998;158(18):1993–2000.
12. Smith EL, al Raddadi A, al Ghamdi F, Kutbi S. Tetracycline Phototoxicity. Br J Dermatol. 1995;132(2):316–7.
13. Hasan T, Khan AU. Phototoxicity of the Tetracyclines: Photosensitized Emission of Singlet Delta Dioxygen. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1986;83(13):4604–6.
14. Monteiro AF, Rato M, Martins C. Drug-induced Photosensitivity: Photoallergic and Phototoxic Reactions. Clin Dermatol. 2016;34(5):571–81.
15. Kaidbey KH, Mitchell FN. Photosensitizing Potential of Certain Nonsteroidal Anti-inflammatory Agents. Arch Dermatol. 1989;125(6):783–6.
16. Bagheri H, Lhiaubet V, Montastruc JL, Chouini-Lalanne N. Photosensitivity to Ketoprofen: Mechanisms and Pharmacoepidemiological Data. Drug Saf. 2000;22(5):339–49.
17. Sahu RK, Singh B, Saraf SA, Kaithwas G, Kishor K. Photochemical Toxicity of Drugs Intended for Ocular Use. Arh Hig Rada Toksikol. 2014;65(2):157–67.
18. Agwuh KN, MacGowan A. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Tetracyclines Including Glycylcyclines. J Antimicrob Chemother. 2006;58(2):256–65.
19. Vogel HG. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. Springer Science & Business Media; 2002.
20. Adachi T, Satou Y, Satou H, Shibata H, Miwa S, Iwase Y, et al. Assessment of 8-Methoxypsoralen, Lomefloxacin, Sparfloxacin, and Pirfenidone Phototoxicity in Long-Evans Rats. Int J Toxicol. 2015;34(1):16–23.
21. Matsumoto N, Akimoto A, Kawashima H, Kim S. Comparative Study of Skin Phototoxicity with Three Drugs by an *in vivo* Mouse Model. J Toxicol Sci. 2010;35(1):97–100
22. Owen K. Comparative Grepafloxacin Phototoxicity in Mouse Skin. J Antimicrob Chemother. 1998;42(2):261–4.
23. Wagai N, Yamaguchi F, Tawara K, Onodera T. Studies on Experimental Conditions for Detecting Phototoxic Potentials of Drugs in Balb/c Mice. J Toxicol Sci. 1989;14(3):197–204.

ОБ АВТОРАХ

Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ». Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245
Вавилова Валерия Александровна. Фармаколог

Шекунова Елена Васильевна. Руководитель группы экспериментальной фармакологии, канд. биол. наук

Кашкин Владимир Александрович. Руководитель исследований, канд. мед. наук

Макарова Марина Николаевна. Директор, д-р мед. наук

Макаров Валерий Геннадьевич. Заместитель директора по науке, д-р мед. наук

Представительство фирмы «Д-р Редди'с Лабораторис Лтд.» в России. Российская Федерация, 115035, Москва, Овчинниковская наб., д. 20, стр. 1

Хайменов Александр Яковлевич. Руководитель отдела клинических исследований Медицинского отдела, канд. мед. наук

Статья поступила 01.12.2017

Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Joint Stock Company Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY», 3/245 Zavodskaya Street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russian Federation
Valeria A. Vavilova. Pharmacologist

Elena V. Shekunova. Head of the Experimental Pharmacology Group. Candidate of Biological Sciences

Vladimir A. Kashkin. Research Director. Candidate of Medical Sciences

Marina N. Makarova. Director. Doctor of Medical Sciences

Valery G. Makarov. Deputy Director for Science. Doctor of Medical Sciences, Professor

Russian office of Dr. Reddy's Laboratories Ltd., 20/1 Ovchinnikovskaya Embankement, Moscow 115035, Russian Federation

Alexandr Ya. Khaymenov. Head of the Clinical Research Section of the Medical Department. Candidate of Medical Sciences

Article was received 1 December 2017

Accepted for publication 14 May 2018

Особенности анализа лекарственных препаратов для парентерального применения методом электрочувствительных зон

* Е. С. Новик, А. В. Доренская, Н. А. Борисова, О. В. Гунар

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Резюме. В статье описаны стандартные методические подходы к определению невидимых механических включений методом электрочувствительных зон (метод Култера). Стандартная методика пробоподготовки лиофилизатов и порошков состоит в растворении их в Isoton® II Diluent (далее Изотон), растворе натрия хлорида 0,9 % с добавлением консерванта, производства «Бекмен Култер», США, в условиях, свободных от механических включений. Дана характеристика метода Култера, впервые включенного в общую фармакопейную статью «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII издания. Показано, что для большей части растворов для инъекций и инфузий не требуется специальной пробоподготовки при проведении испытаний, тогда как для оценки невидимых механических включений в 13 % таких лекарственных форм необходимо добавление растворителя Изотон для повышения их электропроводности. Представлены результаты экспериментальных исследований по разработке модификаций стандартной методики пробоподготовки различных лекарственных препаратов для оценки их качества по показателю «Невидимые механические включения». Для пробоподготовки ряда лиофилизатов, порошков, суспензий, масляных растворов, образующих осадки с раствором Изотона, разработаны рекомендации по выбору альтернативных растворителей для получения электропроводных растворов (вода, 4 % раствор натрия хлорида, раствор тиоцианата аммония в изопропанол, ацетон и др.). В других случаях предлагается изменить режим растворения (увеличить время растворения и/или количество растворителя). Таким образом, обоснована возможность определения невидимых механических включений в различных лекарственных формах методом Култера.

Ключевые слова: метод электрочувствительных зон; лекарственные препараты для парентерального применения; невидимые механические включения; пробоподготовка; электролиты

Для цитирования: Новик ЕС, Доренская АВ, Борисова НА, Гунар ОВ. Особенности анализа лекарственных препаратов для парентерального применения методом электрочувствительных зон. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):123–127. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-123-127>

* **Контактное лицо:** Новик Елена Самарьевна; Novik@expmed.ru

Aspects of Medicines Quality Evaluation by Electrical Sensing Zone Method

* E. S. Novik, A. V. Dorenskaya, N. A. Borisova, O. V. Gunar

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The article describes standard methodological approaches to the determination of subvisible particles by electrical sensing zone method (the Coulter principle). The standard procedure of lyophilisate and powder preparation includes their dilution with Isoton® II Diluent (Beckman Coulter, USA) — 0.9 % sodium chloride solution containing a preservative agent (hereinafter — Isoton) under conditions free from particulate matter. The article provides a brief description of the Coulter principle which was included into the General monograph «Subvisible particulate matter in parenteral preparations» of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th edition. It was demonstrated that most solutions for injection and infusion do not need special preparation before testing, whereas 13 % of such preparations need the addition of the diluent Isoton to increase their electrical conductivity for determination of subvisible particulate matter. The article presents the results of experimental studies that were aimed at modification of the standard sample preparation procedure for different medicinal products for the purpose of their evaluation in terms of Subvisible particulate matter. A number of lyophilisates, powders, suspensions, and oily solutions can not be diluted with Isoton because of precipitate formation, so recommendations are offered for these types of products regarding the choice of alternative diluents (water, 4 % sodium chloride solution, ammonium thiocyanate solution in isopropanol, acetone, etc.) for obtaining electrically conductive solutions. Alternatively, it may be recommended to change the dilution mode (increase the time of dilution and/or diluent volume). Thus, the article provides rationale for using the Coulter principle for determination of subvisible particulate matter in various pharmaceutical forms.

Key words: electrical sensing zone method; parenteral preparations; subvisible particulate matter; sample preparation; electrolytes
For citation: Novik ES, Dorenskaya AV, Borisova NA, Gunar OV. Aspects of Medicines Quality Evaluation by Electrical Sensing Zone Method. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):123–127. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-123-127>

* **Contact person:** Elena S. Novik; Novik@expmed.ru

Одним из обязательных показателей качества лекарственных средств (ЛС) для парентерального применения является количество механических включений (МВ), которое нормируется в соответствии с требованиями ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения» и «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения» [1].

К ЛС для парентерального применения, в которых необходимо определять невидимые механические включения (НМВ), относятся:

- растворы для инъекций;
- эмульсии для инъекций;
- суспензии для инъекций;
- растворы для инфузий;
- концентраты для приготовления инъекционных или инфузионных лекарственных форм (ЛФ);
- порошки и лиофилизаты (в том числе «лиофилизированные порошки»), предназначенные для приготовления инъекционных и инфузионных лекарственных форм;
- имплантаты (если указано в соответствующем НД) [1].

В ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения» [2] описаны три метода определения частиц, невидимых невооруженным глазом. Наряду с принятым в ведущих мировых фармакопеях методом светоблокировки [3, 4], в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания (ГФ XIII) был впервые включен метод электрочувствительных зон (метод Култера) после предварительно проведенной валидации [5, 6].

Метод электрочувствительных зон (метод Култера) основан на регистрации электрических импульсов, возникающих при прохождении через апертуру находящихся в растворе частиц. Величина импульса пропорциональна размеру частицы [7].

Рассматриваемый метод лежит в основе работы счетчика, который может быть использован для измерения частиц любого дисперсного материала, находящегося во взвешенном состоянии в растворе электролита.

Прибор, на котором проводятся испытания, проходит квалификацию и поверку один раз в год.

Сотрудники лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств в течение последних 12 лет успешно проводили определение НМВ методом электрочувствительных зон на приборе Мультисайзер-3 («Бекмен Культер», США). За этот период было проанализировано более трех тысяч серий отечественных и импортных препаратов. Однако, так как метод Култера относительно новый в сфере фармацевтического анализа, при определении НМВ в некоторых лекарственных препаратах (ЛП) встречались трудности методического характера.

Цель работы — разработка методических подходов для определения НМВ в различных ЛФ методом электрочувствительных зон.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подсчет НМВ проводили на счетчике частиц Мультисайзер-3 («Бекмен Культер», США), работа которого основана на методе электрочувствительных зон.

В счетчике Култера трубка с апертурой погружена в стакан, содержащий частицы, взвешенные в электролите низкой концентрации. Два электрода (один внутри трубки, а другой — снаружи, но внутри стакана) используются для обеспечения тока в электролите при прикладывании электрического поля. Во время испытания измеряется сопротивление между электродами. Апертура создает так называемую «чувствительную зону». Частицы, взвешенные в электролите, могут быть посчитаны при прохождении через нее. При этом эквивалентный объем электролита удаляется из чувствительной зоны, что вызывает короткое изменение сопротивления в апертуре. Это изменение можно измерить как импульс тока или напряжения. Высота этого импульса пропорциональна объему частицы. Используя электрическую схему для анализа числа и уровня импульсов, можно подсчитать число частиц и измерить объем каждой частицы, проходящей через «чувствительную зону».

Для стандартной процедуры растворения ЛФ в виде лиофилизатов и порошков, а также для повышения электропроводности жидких ЛП, не проводящих электрический ток, использовали Изотон II (Isoton® II Diluent, — коммерческий раствор натрия хлорида 0,9 % с добавлением консерванта, производства «Бекмен Культер», США, далее — Изотон).

К стандартному процессу оценки качества ЛП по показателю «Невидимые механические включения» относится испытание электропроводных растворов для инъекций (инфузий) или лиофилизатов и порошков, растворимых в Изотоне.

В работе рассматривались ЛФ, анализ которых требовал модификации стандартной методики определения НМВ:

- растворы: Амитриптилин, раствор для внутривенного и внутримышечного введения 10 мг/мл; Ондансетрон, раствор для внутривенного и внутримышечного введения 2 мг/мл;
- масляные растворы: Ревмонн, раствор для внутримышечного введения 500 мг/мл; Сенорм, раствор для внутримышечного введения 50 мг/мл; Фазлодекс, раствор для внутримышечного введения 50 мг/мл;
- концентраты: Таксол, концентрат для приготовления раствора для инфузий; Абитаксел, концентрат для приготовления раствора для инфузий 6 мг/мл; Винпоцетин, концентрат для приготовления раствора для инфузий 5 мг/мл; Джебтана, концентрат для приготовления раствора для инфузий 10 мг/мл;
- лиофилизаты: Доксорубин-ЛЭНС, лиофилизат для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутривенного введения 50 мг; Рифампицин лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 150 мг, 300 мг; Эпирубицин, лиофилизат

для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутрипузырного введения 50 мг;

- порошки: Пиперациллин натрия + тазобактам натрия (8:1), полуфабрикат порошок; Амписид, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения 1000 мг + 500 мг;

- имплантаты: Озурдекс, имплантат для интравитреального введения 0,7 мг;

- суспензии: Хумалог Микс 50, суспензия для подкожного введения 100 МЕ/мл; Хумалог Микс 25, суспензия для подкожного введения 100 МЕ/мл; Инсуран НПХ, суспензия для подкожного введения 100 МЕ/мл.

Пробоподготовку проводили в аттестованном шкафу с ламинарным потоком воздуха («Жуан», Франция).

Все использованные растворители соответствовали условиям, изложенным в разделе «Проверка пригодности условий испытания» (метод 2) ОФС.1.4.2.0006.15 «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения» ГФ XIII.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2016 году было проанализировано около 370 серий различных ЛФ по показателю «Невидимые механические включения», из них 300 серий (81 %) растворов для инъекций (инфузий), 70 серий (19 %) лиофилизатов и порошков, стандартная пробоподготовка которых сопряжена с растворением в Изотоне.

Растворы для инъекций (инфузий) 260 серий (87 %) анализировали без специальной пробоподготовки, тогда как для подсчета частиц в растворах 140 серий (47 %) требовалось добавление Изотона для повышения их электропроводности, что является стандартным процессом пробоподготовки.

Задача пробоподготовки — получить электропроводный раствор (суспензию) в условиях, свободных от МВ. Для этого использовали растворитель Изотон.

При подготовке ОФС «Механические включения в лекарственных формах для парентерального применения» для ГФ XIII были проведены эксперименты, позволившие предложить ряд модификаций стандартной методики пробоподготовки, что позволило в дальнейшем анализировать с помощью метода Култера различные ЛП для парентерального применения.

В таблице 1 приведены некоторые модификации пробоподготовки, применяемые при невозможности использовать Изотон в качестве растворителя. Во избежание образования осадков при анализе ряда лиофилизатов и порошков в качестве растворителя использовали воду, свободную от частиц. Так, Амписид, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения и Доксорубин-ЛЭНС, лиофилизат для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутрипузырного введения, 50 мг полностью растворялись только в воде.

Таблица 1

МОДИФИКАЦИИ СТАНДАРТНОЙ МЕТОДИКИ ПРОБОПОДГОТОВКИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕВИДИМЫХ МЕХАНИЧЕСКИХ ВКЛЮЧЕНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ МЕТОДОМ КУЛТЕРА

Растворитель / Условия растворения	Лекарственный препарат
В воде	Амписид, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения 1000 мг + 500 мг; Доксорубин-ЛЭНС, лиофилизат для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутрипузырного введения 50 мг
В 4 % растворе натрия хлорида	Ондансетрон, раствор для внутривенного и внутримышечного введения 2 мг/мл; Винпоцетин, концентрат для приготовления раствора для инфузий 5 мг/мл
В воде с добавлением 4 % раствора натрия хлорида	Рифампицин лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 150 мг, 300 мг; Эпирубин, лиофилизат для приготовления раствора для внутрисосудистого и внутрипузырного введения 50 мг
В растворе тиоцианата аммония в изопропанол	Масляные растворы: Ревмонн, раствор для внутримышечного введения 500 мг/мл; Сенорм раствор для внутримышечного введения 50 мг/мл; Фазлодекс раствор для внутримышечного введения 50 мг/мл
В растворе ацетона	Озурдекс — имплантат для интравитреального введения 0,7 мг
В Изотоне с добавлением 0,2 % раствора аскорбиновой кислоты или 0,01 М раствора хлористоводородной кислоты	Инсуран НПХ, суспензия для подкожного введения 100 МЕ/мл; Хумалог Микс 50, суспензия для подкожного введения 100 МЕ/мл; Хумалог Микс 25, суспензия для подкожного введения 100 МЕ/мл
Увеличение времени растворения	Пиперациллин натрия + тазобактам натрия (8:1), полуфабрикат порошок; Джевтана, концентрат для приготовления раствора для инфузий 10 мг/мл
Увеличение количества растворителя (разбавителя) в некоторых случаях до 100 мл и более	Таксол, концентрат для приготовления раствора для инфузий; Абитаксел, концентрат для приготовления раствора для инфузий 6 мг/мл; Амитриптилин, раствор для внутривенного и внутримышечного введения 10 мг/мл

В случае когда ЛП образовывали осадки при растворении в Изотоне (Ондансетрон, Винпоцетин), а их водные растворы обладали низкой электропроводностью, Изотон заменяли раствором натрия хлорида с повышенной концентрацией, как правило, 4 %, или добавляли известное количество этого растворителя в образец для повышения его электропроводности. Этот же раствор применяли и для предварительного промывания апертуры вместо раствора натрия хлорида 0,9 %.

Особое внимание в нашей работе было уделено препаратам инсулинов в виде растворов и суспензий. Методические трудности вызывало определение частиц в суспензиях для подкожного введения (Инсуран НПХ, Хумалог Микс 25, Хумалог Микс 50). Препараты инсулинов, как правило, образуют осадки с раствором Изотона, что делает невозможным определение НМВ методом электрочувствительных зон в стандартных условиях. Нами было предложено перед проведением испытания смешивать содержимое емкостей с 0,2 % раствором аскорбиновой кислоты в соотношении не менее 1:2. В полученном растворе измеряли содержание частиц стандартным способом. При анализе препаратов с номинальным объемом менее 100 мл среднее число частиц рассчитывали на единицу первичной упаковки, с учетом разведения. При валидации метода Култера [5, 6] была показана робастность (устойчивость) методики к добавлению дополнительных реактивов.

Для перевода суспензий инсулинов в раствор также использовали 0,01 М раствор хлористоводородной кислоты. 10 мл препарата смешивали с 30 мкл кислоты, затем переносили 5 мл полученного раствора в колбу вместимостью 25 мл и доводили до метки тем же раствором, после чего проводили определение НМВ методом Култера.

Нестандартных методических подходов с точки зрения пробоподготовки при определении НМВ требовали образцы препаратов в виде масляных растворов. Для них был подобран разбавитель-электролит — 2 % раствор аммония тиоцианата в изопропанол, в котором растворяли исследуемый образец в соотношении не менее 1:80 (0,5 мл масла в 40 мл раствора). Перед измерением промывали апертуру тем же электролитом. Указанный разбавитель был выбран из списка электролитов, пригодных для растворения масляных препаратов, имеющегося в инструкции на прибор Мультисайзер-3, апро-

бирова и затем использован для подсчета частиц в подобных ЛФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, метод электрочувствительных зон позволяет определять НМВ практически во всех ЛФ для парентерального применения. Большую часть ЛП (растворов) анализировали без специальной пробоподготовки, лиофилизаты и порошки предварительно растворяли в Изотоне. Для ЛП, неразстворимых в Изотоне, разработаны модификации стандартной методики, подобраны соответствующие растворители, изменены условия пробоподготовки, что позволило проводить анализ методом Култера растворов (включая масляные), лиофилизатов, порошков, суспензий и имплантатов.

Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Общая фармакопейная статья 1.4.1.0007.15 Лекарственные формы для парентерального применения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. М.; 2015. [General Monograph 1.4.1.0007.15. Pharmaceutical Forms for Parenteral Application. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 1. Moscow; 2015 (In Russ.)] Available from: <http://femb.ru/feml>
2. Общая фармакопейная статья 1.4.2.0006.15 Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд. Т. 2, М.; 2015. [General Monograph 1.4.2.0006.15. Sub-visible Particles in Medicines for Parenteral Application. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 2. Moscow; 2015 (In Russ.)]. Available from: <http://femb.ru/feml>
3. European Pharmacopoeia Online. European Directorate for the Quality of Medicines. 2017. Available from: <http://online.edqm.eu>
4. United States Pharmacopeia. 40th ed. 2017. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf>
5. Новик ЕС, Гунар ОВ. Метод электрочувствительных зон для определения невидимых механических включений в лекарственных препаратах для парентерального применения. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2012;(1):58–61. [Novik ES, Gunar OV. Electrical Sensing Zone Method for Determination of Invisible Particulate Matters in Parenteral Medicines. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2012;(1):58–61 (In Russ.)]
6. Доренская АВ. Применение метода электрочувствительных зон в фармацевтическом анализе: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2015. [Dorenskaya AV. Electrical Sensing Zone Method Applications in Pharmaceutical Analysis. Cand. Pharm. Sci. [thesis]. Moscow; 2015 (In Russ.)]
7. How are Particles Sized and Counted Using the Coulter Principle? Available from: <https://www.beckman.com/support/faq/scientific/behind-the-coulter-principle>

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Новик Елена Самарьевна. Ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. биол. наук

Доренская Анна Викторовна. Эксперт 1-й категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. фарм. наук

Борисова Наталья Александровна. Эксперт 2-й категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств

Гунар Ольга Викторовна. Начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д-р фарм. наук

Статья поступила 18.12.2017

Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Elena S. Novik. Leading Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Biological Sciences

Anna V. Dorenskaya. 1st Professional Category Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Pharmaceutical Sciences

Natalia A. Borisova. 2nd Professional Category Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Olga V. Gunar. Head of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Doctor of Pharmaceutical Sciences

Article was received 18 December 2017

Accepted for publication 14 May 2018



Проблемы определения содержания иодид-ионов в поливитаминных препаратах методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой

* В. М. Шукин, Е. Ю. Северинова, Н. Е. Кузьмина, В. А. Яшкир, В. А. Меркулов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

Резюме. Рассмотрены основные трудности определения микроколичеств йода в поливитаминах методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС): спектральные наложения, обусловленные присутствием макрокомпонентов, и фоновое влияние содержащихся в этих препаратах органических соединений. Описаны пути решения этих проблем. Установлено, что при проведении измерений на неприоритетной длине волны 182,276 нм наблюдается минимальное перекрытие спектральных линий йода линиями излучения макрокомпонентов поливитаминов. В статье экспериментально определены пределы обнаружения (ПО) и пределы количественного определения (ПКО) йода методом ИСП-АЭС при различных длинах волн. Показано, что ПО и ПКО иодид-ионов в растворах, содержащих сложную органическую и мультиэлементную матрицу, на порядок выше ПО и ПКО водных растворов, что обуславливает необходимость использования метода добавок при количественном определении содержания йода. Проведен сравнительный анализ количественной оценки содержания йода в поливитаминном препарате Мульти-табс Юниор методом ИСП-АЭС и референсным методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Показано, что увеличение энергии плазмы до 1500 Вт, использование метода добавок, минимизирующего фоновое влияние органических соединений, и неприоритетной длины волны (182,276 нм) позволяют получить результаты измерения содержания йода в поливитаминах методом ИСП-АЭС, сопоставимые с результатами, полученными референсным методом.

Ключевые слова: атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой; масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой; содержание йода; поливитамины; матричные эффекты; элементный анализ

Для цитирования: Шукин МВ, Северинова ЕЮ, Кузьмина НЕ, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Проблемы определения содержания иодид-ионов в поливитаминных препаратах методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018;8(2):128–132. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-128-132>

* **Контактное лицо:** Шукин Виктор Михайлович; Schukin@expmed.ru

Problems of Iodide Ions Determination in Multivitamins by Inductively Coupled Plasma Atomic-Emission Spectrometry

* V. M. Shchukin, E. Yu. Severinova, N. E. Kuz'mina, V. A. Yashkir, V. A. Merkulov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The article looks into the main problems of determination of iodine trace amounts in multivitamins by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES), i.e. spectral overlaps attributable to macro-components, and the background effect of organic compounds. The article suggests potential ways of solving these problems. It was shown that there was a minimal overlap of iodine spectral lines by emission lines of multivitamins macro-components at the non-priority wavelength of 182.276 nm. The iodine detection limit (LOD) and limit of quantification (LOQ) were experimentally determined for ICP-AES at different wavelengths. It was demonstrated that LOD and LOQ of iodide ion were much higher in solutions containing a complex organic and multi-element matrix than in water solutions, which calls for the use of spiking in iodine assays. A comparative analysis was performed in which the content of iodine was determined in the multivitamin product Multi-tabs Junior by ICP-AES and by the reference method of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). It was demonstrated that the increase in plasma power to 1500 W, the use of spiking which minimizes the background interference of organic compounds, and the use of non-priority wavelength (182.276 nm) make it possible to obtain results of iodine determination in multivitamins by ICP-AES which are comparable to the results obtained by the reference method.

Key words: inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry; inductively coupled plasma-mass spectrometry; iodine content; multivitamins; matrix effects; elemental analysis

For citation: Shchukin VM, Severinova EY, Kuz'mina NE, Yashkir VA, Merkulov VA. Problems of Iodide Ions Determination in Multivitamins by Inductively Coupled Plasma Atomic-Emission Spectrometry. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018;8(2):128–132. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-2-128-132>

* **Contact person:** Victor M. Shchukin; Schukin@expmed.ru

Йод является жизненно необходимым человеческому организму элементом. Заболевания, обусловленные его недостаточным употреблением, вынесены Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в отдельный раздел «Болезни дефицита йода». К ним относятся такие серьезные заболевания, как отклонения в развитии плода (вплоть до мертворождений и выкидышей), младенческая смертность и когнитивные расстройства (в том числе необратимые), зоб и гипотиреоз. Согласно рекомендациям ВОЗ оптимальное количество йода составляет 90–120 мкг/сут для детей и подростков, 150 мкг/сут для взрослого человека и около 250 мкг/сут для беременных и кормящих женщин [1].

Одним из способов быстро преодолеть дефицит йода в организме человека является употребление его в таблетированной форме, в том числе в составе поливитаминных препаратов. Содержание йода в поливитаминах строго нормируется, поэтому его количественное определение является важным этапом контроля качества данных препаратов.

Традиционные методы количественного определения иодид-ионов (сжигание в колбе с кислородом, титрование, фотометрия) обладают большим количеством недостатков, связанных с летучестью йода, его способностью вступать в окислительно-восстановительные реакции с компонентами анализируемого вещества и поливалентностью [2]. Поэтому в последнее время они активно заменяются более современными экспрессными и селективными спектральными методами, такими как атомная адсорбция (ААС), масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) и атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС) [3]. При определении микроколичеств йода предпочтение отдается ИСП-МС как наиболее чувствительному из трех фармакопейных методов элементного анализа [4]. Однако ИСП-МС является самым дорогим из спектральных методов и требует наиболее чистых реактивов. Альтернативой данному методу является ИСП-АЭС: он существенно дешевле, чем ИСП-МС, но при этом обладает более широким рабочим диапазоном, чем ААС.

Цель работы — показать проблемы, возникающие при определении йода в поливитаминных препаратах методом ИСП-АЭС, и предложить пути их решения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали образцы поливитаминного препарата Мульти-табс Юниор с номинальным содержанием йода 135,0–217,5 мкг/табл. Двадцать таблеток измельчали в порошок, предварительно определив среднюю массу таблетки. В качестве растворов сравнения использовали растворы стандартных образцов иодида аммония производства «Inorganic Ventures» (USA). Итоговую величину содержания йода в образце определяли как среднее арифметическое измеренных значений трех параллельных проб. Пределы обнаружения (ПО) и пределы количественного определения (ПКО) йода различными методами устанавливали по со-

отношению сигнал/шум согласно Государственной фармакопее Российской Федерации XIII издания [5].

Анализ методом ИСП-МС. К 1,0 г (точная навеска) порошка прибавляли 40 мл 0,5 % раствора гидроксида аммония, приготовленного из 32 % раствора производства «Мерк» (Германия). Раствор нагревали на ультразвуковой бане при 70 °С, затем центрифугировали и отфильтровывали. Полученный фильтрат разбавляли в 100 раз 0,5 % раствором гидроксида аммония. Количественное определение йода осуществляли, используя одноквадрольный масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900, фиксируя интенсивность эмиссии изотопа ¹²⁷I. Основные параметры эксперимента: мощность высокочастотного генератора плазмы 1500 Вт, поток плазменного газа (аргон) 15 л/мин, поток газа-носителя (аргон) 1 л/мин, скорость подачи пробы 0,10 об/с, время интегрирования 0,1 с, усреднение результата измерения по пяти репликам. Измерение содержания йода проводили путем сравнения эмиссии испытуемых растворов с эмиссией стандартных растворов иодид-иона с концентрациями 10, 25, 50 мкг/л методом прямой калибровки. Стандартные растворы готовили следующим образом: 0,1 мл раствора стандартного образца иодида аммония с концентрацией иодид-иона 1000 мг/л помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем раствора до метки водой деионизированной, тщательно перемешивали. Полученный исходный калибровочный раствор с концентрацией 1 мг/л в количестве 1,0; 2,5; 5,0 мл помещали в мерные колбы вместимостью 100 мл, доводили объем раствора до метки водой деионизированной, тщательно перемешивали.

Анализ методом ИСП-АЭС. К 4,0 г (точная навеска) порошка добавляли 50 мл 0,5 % раствора гидроксида аммония. Раствор нагревали на ультразвуковой бане при 70 °С, затем фильтровали и переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводя объем раствора до метки 0,5 % раствором гидроксида аммония. Количественное определение йода осуществляли с помощью атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно-связанной плазмой Optima 8300 DV производства «Perkin Elmer» (USA), фиксируя интенсивность эмиссии на длинах волн 182,276 и 178,215 нм. Основные параметры эксперимента: мощность высокочастотного генератора плазмы 1500 Вт, поток плазменного газа (аргон) 10 л/мин, поток газа-распылителя (аргон) 0,5 л/мин, увеличенный поток продувочного газа, скорость подачи пробы 1,10 мл/мин, аксиальный обзор плазмы, усреднение результата измерения по пяти репликам. Измерение содержания йода проводили путем сравнения эмиссии испытуемых растворов с эмиссией стандартных растворов с концентрацией 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 мг/л методом прямой калибровки и методом добавок (7,0 и 14,0 мг/л). Для приготовления стандартных растворов, используемых в методе прямой калибровки, в колбы вместимостью 100 мл добавляли соответственно 0,10; 0,25; 0,5; 0,75 и 1,0 мл стандартного раствора иодида калия с концентрацией 1000 мг/л, доводили объем рас-

творой водой деионизированной до метки, тщательно перемешивали. При использовании метода добавок фильтрат делили на три части по 25 мл, одну часть использовали в качестве испытуемого раствора, в другие части добавляли 0,175 и 0,35 мл соответственно стандартного раствора иодида калия с концентрацией 1000 мг/л.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поливитаминовые препараты являются многокомпонентными системами. Входящие в их состав элементы, витамины и вспомогательные вещества представлены как в макроколичествах (2–20 мг/табл. для марганца, железа, меди, цинка; 0,8–60 мг/табл. для витаминов; 0,2–500 мг/табл. для ксилитола, целлюлозы, фосфатов, карбонатов), так и в микроколичествах (50–150 мкг/табл. для хрома, селена и йода). Основной проблемой определения микроколичеств йода в поливитаминах являются матричные наложения, обусловленные высоким содержанием макрокомпонентов, поэтому на первом этапе исследований было необходимо подобрать характеристичную длину волны (λ) йода, при которой эффект наложения был бы минимальным. В литературе для йода предложены следующие характеристичные длины волн: 206,163; 206,188; 182,276; 178,215 нм [6]. Полосы спектра 206,163 и 206,188 нм малоинтенсивны даже в случае больших концентраций йода (10 мг/л) и частично перекрываются друг другом. Кроме того, на эти длины волн накладываются полосы присутствующих в испытуемом образце хрома ($\lambda = 206,225$ нм), висмута ($\lambda = 206,178$ нм) и цинка ($\lambda = 206,200$ нм) (рис. 1). Следует отметить, что содержание цинка в исследуемом препарате в 100 раз превышает содержание йода.

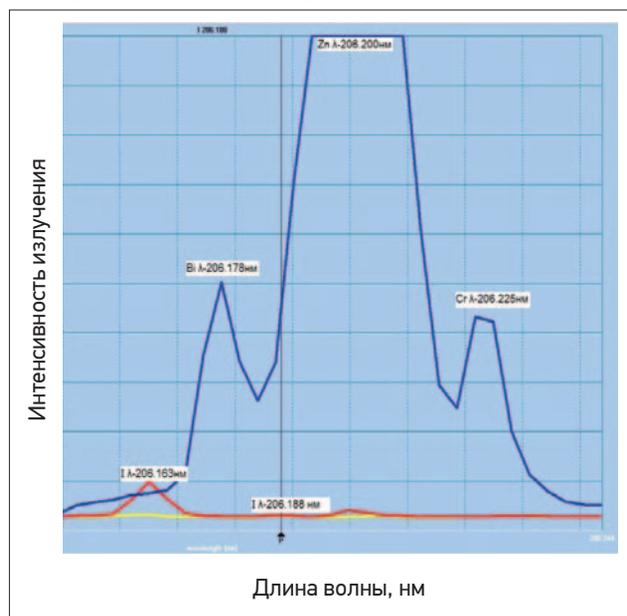


Рис. 1. Элементные наложения цинка, висмута и хрома на характеристичные длины волн йода (желтая линия — холостая проба, красная линия — стандартный раствор иодид-иона, синяя линия — раствор испытуемого препарата)

Длина волны 178,215 нм является приоритетной для йода, наиболее часто применяемой при анализе беспримесных водных растворов [7]. Однако в спектре поливитаминов на нее накладывается близко расположенная полоса фосфора (178,221 нм) от фосфатов — наполнителей в таблетках (рис. 2).

С учетом вышеперечисленных факторов наиболее подходящей длиной волны для определения йода в поливитаминах является 182,276 нм. На примере водных растворов иодида калия нами были определены предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) йода методом ИСП-АЭС при длине волны $\lambda = 182,276$ нм (табл. 1). Как следует из результатов, представленных в таблице 1, полоса спектра при длине волны 182,276 нм является достаточно интенсивной и позволяет определять содержание йода на меньших уровнях концентраций по сравнению с приоритетной длиной волны ($\lambda = 178,215$ нм). В целом метод ИСП-АЭС характеризуется меньшей чувствительностью по сравнению с ИСП-МС и потенциометрическим титрованием, поэтому при определении содержания йода данным спектральным методом необходимо использовать растворы с заметно большей концентрацией в растворе.

Увеличение концентрации испытуемого образца влечет за собой усиление фонового влияния органических соединений, присутствующих в растворе. На рисунке 3 проиллюстрировано снижение соотношения сигнал/шум в эмиссионном спектре под влиянием органической матрицы поливитаминов.

Один из способов борьбы с фоновым влиянием органической матрицы заключается в повышении степени ионизации йода. Согласно представленным в литературе данным [9] лучшие результаты

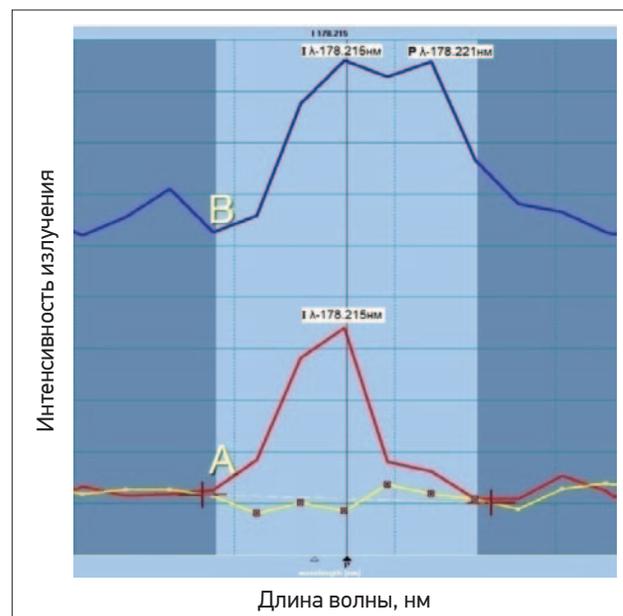


Рис. 2. Спектральные наложения фосфора и йода на фоне органической матрицы: стандартный раствор иодид-иона (А — красная линия); раствор испытуемого препарата, содержащий йод, фосфор и органическую матрицу (В — синяя линия); желтая линия — холостая проба

определения содержания галогенов методом ИСП-АЭС получают, увеличивая энергию плазмы. Поэтому мы использовали максимально достигаемую на имеющемся оборудовании энергию (1500 Вт вместо стандартного значения 1200 Вт).

Для преодоления фонового влияния растворенных органических соединений также используют метод добавок. Результаты измерения содержания йода в образце поливитамина Мульти-табс Юниор методом ИСП-АЭС с прямой калибровкой и с методом добавок составляют $133,75 \pm 8,00$ и $144,16 \pm 5,63$ мкг/табл. соответственно. Сравнение

Таблица 1

ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ И ПРЕДЕЛ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЙОДА ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЭЛЕМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Метод	Предел обнаружения, мг/л	Предел количественного определения, мг/л
ИСП-МС	0,0002	0,002
ИСП-АЭС ($\lambda = 178,215$ нм)	1,47	4,86
ИСП-АЭС ($\lambda = 182,276$ нм)	0,55	1,81
Потенциометрическое титрование	0,0005*	0,005*

* Представлены данные литературы [8]

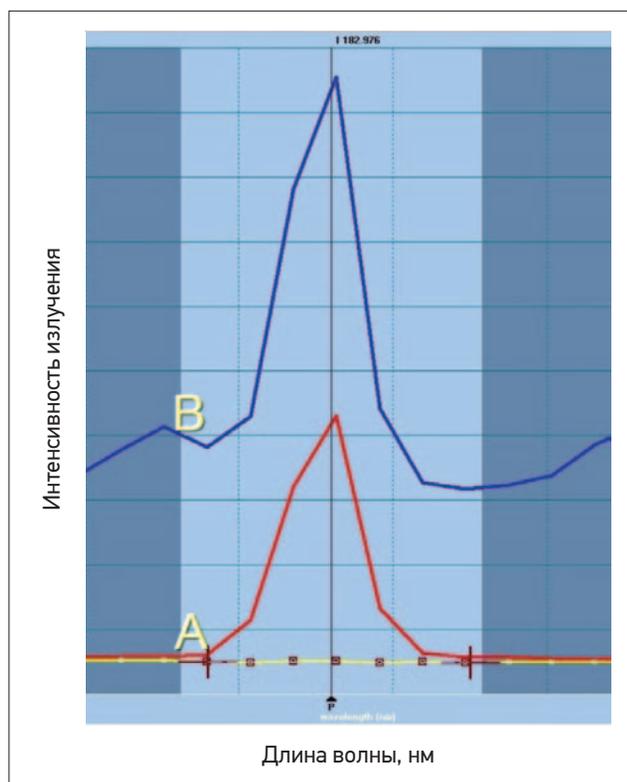


Рис. 3. Влияние органической матрицы на эмиссионный сигнал йода: стандартный раствор иодид-иона (А — красная линия); раствор испытуемого препарата, содержащий йод и органическую матрицу (В — синяя линия); желтая линия — холостая проба

с экспериментальными данными, полученными референсным методом ИСП-МС ($162,41 \pm 12,6$ мкг/табл.), свидетельствует о большой схожести результатов измерений ИСП-МС и ИСП-АЭС в случае применения метода добавок: наблюдается перекрывание доверительных интервалов соответствующих значений. При использовании прямой калибровки высокая интенсивность шума увеличивает неопределенность результата измерения и приводит к заниженным значениям. Следует отметить, что меньший доверительный интервал результата измерения методом ИСП-АЭС по сравнению с результатом ИСП-МС обусловлен заметно большей концентрацией препарата в испытуемом растворе (30–50 мкг/л и 4–6 мг/л для измерений методами ИСП-МС и ИСП-АЭС соответственно). Различные концентрации испытуемых растворов, используемых для измерений методами ИСП-МС и ИСП-АЭС, обусловлены различными диапазонами пределов обнаружения данных методов: 100 ppm — 0,1 ppb и 1 ppm — 0,001 ppb для ИСП-АЭС и ИСП-МС соответственно [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение содержания микроколичеств йода в поливитаминах методом ИСП-АЭС является проблемной задачей вследствие сильных матричных эффектов (фонового влияния органических соединений и спектральных наложений других элементов, присутствующих в поливитаминах в макроколичествах). Однако выбор неприоритетной длины волны йода (182,276 нм), использование максимально допустимой энергии плазмы и применение метода добавок при количественных измерениях позволяют преодолеть матричные эффекты и получить результаты, сопоставимые с результатами референсного метода ИСП-МС. Таким образом, при проведении контроля качества поливитаминов количественное определение содержания йода при отсутствии ИСП-МС оборудования можно проводить методом ИСП-АЭС.

Авторы не заявили о конфликте интересов
 The authors did not declare a conflict of interest

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Assessment of Iodine Deficiency Disorders and Monitoring Their Elimination: a Guide for Programmer Managers. 3rd ed. WHO library cataloguing-in-publication-data. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43781/1/9789241595827_eng.pdf
2. Абуладзе НБ, Киквидзе ИР, Джавахия МШ, Габуния КУ. Йод, заболевания на почве йододефицита, аналитические методы. Современные научные исследования и инновации 2017;(6). [Abuladze NB, Kikvidze IR, Dzhavakhiya MS, Gabuniya KU. Iodine, Iodine Deficiency Disorders, Analytical Methods. Modern Scientific Researches and Innovations 2017; (6) (In Russ.)] Available from: <http://web.snauka.ru/issues/2017/06/83978>
3. Боковикова ТН, Герникова ЕП, Стророва ЛА, Агапкина МВ, Батурина ОА, Немыкина СА и др. Основные проблемы экспертизы качества фармацевтических субстанций (оценка количественного содержания). Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016;(3):37–41. [Bokovikova TN, Gernikova EP, Stronova LA, Agapkina MV, Baturina OA, Nemykina SA, et al. Major Challenges in Evaluating the Quality of Phar-

- maceutical Substances (the Assay). The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2016;(3):37–41 (In Russ.)]
- Khazan M, Azizi F, Hedayati M. A Review on Iodine Determination Methods in Salt and Biological Samples. Scimetr 2013;1(1):e12965. DOI: 10.5812/scimetr.14092
 - Общая фармакопейная статья 1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. М.; 2015. [General Monograph 1.1.0012.15. Validation of Analytical Methods. The State Pharmacopoeia of Russian Federation. 13th ed. V. 1. Moscow; 2015 (In Russ.)] Available from: <http://femb.ru/feml>
 - Minnhagen L. The Energy Levels of Neutral Atomic Iodine. Ark Fys. 1962;21(26):415–65.
 - Niedobova E, Machat J, Kanicky V, Otruba V. Determination of Iodine in Enriched Chlorella by ICP-OES in the VUV Region. Microchimica Acta 2005;150(2):103–7.
 - Hassan SSM, Marzouk SAM. Sequential Flow-injection Potentiometric Determination of Iodide and Iodine in Povidone Iodine Pharmaceuticals. Electroanalysis 1993;5(9–10):855–61.
 - Wennrich R, Mroczek A, Dittrich K, Werner G. Determination of Nonmetals Using ICP-AES-techniques. Fresenius J Anal Chem. 1995;352(5):461–9.
 - Забокрицкий МП, Сабуров ВВ. Критерии выбора спектрального метода применительно к анализу микроэлементов в биологических объектах. Микроэлементы в медицине 2014;15(4):29–38. [Zabokritski MP, Saburov VV. Criteria of Spectral Method Selecting as Regards Trace Element Analysis in Biological Objects. Trace Elements in Medicine 2014;15(4):29–38 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Шукин Виктор Михайлович. Ведущий эксперт сектора спектральных методов анализа лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств *Северинова Елена Юрьевна.* Эксперт 2-й категории сектора спектральных методов анализа лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств *Кузьмина Наталия Евгеньевна.* Начальник сектора спектральных методов анализа лаборатории биотехнологических препаратов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, д-р хим. наук

Яшкир Вадим Анатольевич. Начальник лаборатории нанолекарств, препаратов для клеточной и генотерапии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, канд. хим. наук, доцент *Меркулов Вадим Анатольевич.* Заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств, д-р мед. наук, проф.

Статья поступила 31.10.2017
Принята к печати 14.05.2018

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8/2 Petrovsky Boulevard, Moscow 127051, Russian Federation

Victor M. Shchukin. Leading Expert of the Spectral Methods Sector of the Laboratory of Biotechnological Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Elena Yu. Severinova. 2nd Professional Category Expert of the Spectral Methods Sector of the Laboratory of Biotechnological Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality

Natalia E. Kuz'mina. Head of the Spectral Methods Sector of the Laboratory of Biotechnological Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Doctor of Chemical Sciences

Vadim A. Yashkir. Head of the Laboratory of Nanodrugs, Cell and Gene Therapy Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality. Candidate of Chemical Sciences, Assistant Professor *Vadim A. Merkulov.* Deputy General Director for Evaluation of Medicinal Products. Doctor of Medical Sciences, Professor

Article was received 31 October 2017
Accepted for publication 14 May 2018





**Оформить подписку на журнал
можно в любом почтовом отделении России.**

Подписной индекс издания:
в каталоге Агентства «Роспечать»
«Газеты. Журналы» — 25122

С любого номера
в региональных агентствах подписки:
Урал-Пресс (www.ural-press.ru)
Информнаука (www.informnauka.ru)

По объединенному каталогу
«Пресса России» (www.pressa-rf.ru) — **Ц10586**

