

Volume 8, No. 4 2018

ISSN 1991-2919 (Print)

ISSN 2619-1172 (Online)

ВЕДОМОСТИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

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

www.vedomostincesmp.ru

Том 8, № 4 2018

Архив журнала размещен в российских и международных реферативных и индексных базах данных: «Российский индекс цитирования» (РИНЦ), «КиберЛенинка», «Соционет», Российской государственной библиотеке, Академии Google (Google Scholar), BASE (Bielefeld Academic Search Engine), Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, WorldCat.

Пятилетний импакт-фактор РИНЦ — 0,413 (без самоцитирования).

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.

Материалы заочных конференций не публикуются.

ВЕДОМОСТИ

НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ
СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Рецензируемый научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в **2005** году

Главный редактор доктор медицинских наук Ю. В. Олефир

Москва

«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: 14.01.00 Клиническая медицина, 14.03.00 Медико-биологические науки, 14.04.00 Фармация.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Олефир Юрий Витальевич, д-р мед. наук, старший научный сотрудник,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Романов Борис Константинович, д-р мед. наук, доцент,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Аляутдин Ренад Николаевич, д-р мед. наук, проф.,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, ФГБУ
«НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Дурнев Андрей Дмитриевич, член-корр. РАН,
д-р мед. наук, проф., НИИ фармакологии
им. В. В. Закусова (Москва, Россия)

Иванов Максим Борисович, д-р мед. наук, ФГБУН
Институт токсикологии ФМБА (Санкт-Петербург,
Россия)

Киселева Нина Михайловна, д-р биол. наук, проф.,
РНИМУ им. Н. И. Пирогова (Москва, Россия)

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук, ФГБУ
«НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Макарова Марина Николаевна, д-р мед. наук, НПО
«ДОМ ФАРМАЦИИ» (Ленинградская область, Россия)

Прокофьев Алексей Борисович, д-р мед. наук, проф.,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Прокофьева Вера Ивановна, д-р фарм. наук, проф.,
Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Пятигорская Наталья Валерьевна, д-р фарм. наук,
проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва,
Россия)

Саканян Елена Ивановна, д-р фарм. наук, проф.,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва,
Россия)

Сюбаев Рашид Даутович, д-р мед. наук, ФГБУ
«НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Сычев Дмитрий Алексеевич, член-корр. РАН, д-р
мед. наук, профессор, РМАНПО (Москва, Россия)

Титова Анна Васильевна, д-р фарм. наук, ФГБУ
«ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора (Москва, Россия)

Ягудина Роза Исмаиловна, д-р фарм. наук, проф.,
Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Москва, Россия)

Якушева Елена Николаевна, д-р мед. наук, проф.,
РязГМУ (Рязань, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Алешкин Владимир Андрианович, д-р биол. наук, проф.,
МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского (Москва, Россия)

Бобизода Гуломқодир Муқаммал, д-р биол. наук, д-р фарм.
наук, проф., ТГПУ им. С. Айни (Душанбе, Таджикистан)

Борисевич Игорь Владимирович, д-р мед. наук, проф.,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, проф.,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Звартау Эдвин Эдуардович, д-р мед. наук, проф.,
Первый СПбГМУ им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург,
Россия)

Кукес Владимир Григорьевич, академик РАН, д-р мед.
наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, ФГБУ
«НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Лепяхин Владимир Константинович, член-корр. РАН,
д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава
России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:

Корсун Лилия Владимировна, канд. биол. наук,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:

Молчан Нина Валерьевна, канд. фарм. наук,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф.,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва,
Россия)

Муляр Александр Георгиевич, д-р мед. наук, проф.,
МГМСУ им. А. И. Евдокимова (Москва, Россия)

Петров Владимир Иванович, академик РАН, д-р мед.
наук, проф., ВолгГМУ (Волгоград, Россия)

Свиштунов Андрей Алексеевич, член-корр. РАН, д-р
мед. наук, проф., Первый МГМУ им. И. М. Сечено-
ва (Москва, Россия)

Хохлов Александр Леонидович, д-р мед. наук, проф.,
ЯГМУ (Ярославль, Россия)

Шимановский Николай Львович, член-корр. РАН,
д-р мед. наук, проф., РНИМУ им. Н. И. Пирогова
(Москва, Россия)

Яворский Александр Николаевич, д-р мед. наук,
проф., ПушГЕНИ (Пушино, Россия)

РЕДАКТОР:

Калиничев Сергей Анатольевич, канд. фарм. наук,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКТОР ПЕРЕВОДА:

Губарева Ольга Николаевна, канд. филол. наук,
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, 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: 14.01.00 Clinical Medicine, 14.03.00 Medico-Biological Sciences, 14.04.00 Pharmacy.

EDITOR-IN-CHIEF:

Yuri V. Olefir, Dr. Sci. (Med.), Senior Research Associate,
FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF:

Boris K. Romanov, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof.,
FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD:

Renad N. Alyautdin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Andrey D. Durnev, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Zakusov Institute of Pharmacology (Moscow, Russia)

Maxim B. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Institute of Toxicology (Saint Petersburg, Russia)

Nina M. Kiseleva, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.), Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY» (Leningrad Oblast, Russia)

Alexey B. Prokofiev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Vera I. Prokofieva, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Natalia V. Pyatigorskaya, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Elena I. Sakanyan, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Rashid D. Syubaev, Dr. Sci. (Med.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Dmitry A. Sychev, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Russian Medical Academy of Postgraduate Education (Moscow, Russia)

Anna V. Titova, Dr. Sci. (Pharm.), Information and Methodological Center for Expertise, Accounting and Analysis of the Circulation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Roza I. Yagudina, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Elena N. Yakusheva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Ryazan State Medical University (Ryazan, Russia)

EDITORIAL COUNCIL:

Vladimir A. Aleshkin, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology (Moscow, Russia)

Gulomkodir M. Bobizoda, Dr. Sci. (Biol.), Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Ayni Tajik State Pedagogical University (Dushanbe, Tajikistan)

Igor V. Borisevich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Edwin E. Zvartau, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia)

Vladimir G. Kukes, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Vladimir K. Lepakhin, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Alexander G. Mulyar, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia)

Vladimir I. Petrov, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

Andrey A. Svistunov, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Alexander L. Khokhlov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl, Russia)

Nikolay L. Shimanovsky, Corr. Member of RAS, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

Alexander N. Yavorsky, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pushchino State Institute of Natural Sciences (Pushchino, Russia)

EXECUTIVE EDITOR:

Lilia V. Korsun, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

SCIENCE EDITOR:

Nina V. Molchan, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

EDITOR:

Sergey A. Kalinichev, Cand. Sci. (Pharm.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

TRANSLATION EDITOR:

Olga N. Gubareva, Cand. Sci. (Philology), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

ВЕДОМОСТИ НАУЧНОГО ЦЕНТРА ЭКСПЕРТИЗЫ СРЕДСТВ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

СОДЕРЖАНИЕ

Том 8, № 4 2018

Редакторская колонка (Ю. В. Олефир) 206

ОБЗОРЫ

- А. В. Рыбакова, М. Н. Макарова, А. Е. Кухаренко, А. С. Вичаре, Ф.-Р. Рюффер**
Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным 207
- А. П. Соловьева, Д. В. Горячев, В. В. Архипов**
Критерии оценки когнитивных нарушений в клинических исследованиях 218
- Д. П. Ромодановский, А. Л. Хохлов, А. Е. Мирошников**
Планирование и оценка исследований биоэквивалентности препаратов эналаприла 231
- Д. В. Горячев, М. Ю. Тельных**
Планирование регистрационной программы исследований препаратов базисной противовоспалительной (БПВП) терапии ревматоидного артрита 238
- Н. Д. Бунятян, Б. Б. Сысуев, Е. А. Сокова, В. А. Евтеев**
Взаимозаменяемость лекарственных препаратов флуконазола 246

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Н. П. Антонова, И. М. Моргунов, С. С. Прохвятилова, Е. П. Шефер, А. М. Калинин**
Сравнительная оценка методов количественного определения антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах 252
- С. И. Кулешова, В. С. Удалов, Е. П. Симонова, И. А. Денисова, Д. В. Мишкин**
Совершенствование методик определения примесей в антимикробных лекарственных средствах хроматографическими методами на примере анализа ципрофлоксацина 262

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) 625-43-48, доб. 63-33, 63-34, 63-41
Сайт: www.vedomostincesmp.ru

Издатель: ООО «Ваше Цифровое Издательство»
Юридический адрес: 109263, Москва, ул. Шкулева, д. 9, к. 2
Тел./факс: +7 (499) 754-99-93
E-mail: isupport@neicon.ru
Сайт: http://elpub.ru

Подписано в печать: 19.11.2018
Формат 60×90/8. Печ. л. 8,75
Бумага мелованная. Печать офсетная

VEDOMOSTI NAUCHNOGO TSENTRA EKSPERTIZY SREDSTV MEDITSINSKOGO PRIMENENIYA

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

CONTENTS

Volume 8, No. 4 2018

Editor's note (Yu. V. Olefir) 206

REVIEWS

A. V. Rybakova, M. N. Makarova, A. E. Kukhareno, A. S. Vichare, F.-R. Rueffer
Current Requirements for and Approaches to Dosing in Animal Studies 207

A. P. Solovyova, D. V. Goryachev, V. V. Arkhipov
Criteria for Assessment of Cognitive Impairment in Clinical Trials 218

D. P. Romodanovsky, A. L. Khokhlov, A. E. Miroshnikov
Planning and Evaluation of Bioequivalence Studies of Enalapril Products 231

D. V. Goryachev, M. Yu. Telnykh
Planning of a Clinical Data Registry for Basic Anti-Inflammatory Drugs
for the Treatment of Rheumatoid Arthritis 238

N. D. Bunyatyan, B. B. Sysuev, E. A. Sokova, V. A. Evteev
Interchangeability of Fluconazole Drugs 246

ORIGINAL ARTICLES

N. P. Antonova, I. M. Morgunov, S. S. Prokhvatilova, E. P. Shefer, A. M. Kalinin
Comparative Evaluation of Assay Methods Used to Determine Anthracene Derivatives
in Herbal Substances and Herbal Medicinal Products 252

S. I. Kuleshova, V. S. Udalov, E. P. Simonova, I. A. Denisova, D. V. Mishkin
Improvement of Tests for the Control of Impurities in Antimicrobial Medicinal
Products by Chromatographic Methods: Ciprofloxacin Case Study 262

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) 625-43-48, ext. 63-33, 63-34, 63-41

Website: www.vedomostinccsmp.ru

Publisher: «Your Digital Publishing»

Registered office: 9/2 Shkuleva Street, Moscow
109263, Russian Federation

Tel./fax: +7 (499) 754-99-93

E-mail: isupport@neicon.ru

Website: http://elpub.ru

Passed for printing: 19.11.2018

Format 60×90/8. Conventional printed sheets: 8,75

Enamel-paper. Offset printing

Уважаемые читатели!

Интеграция в мировое научное сообщество является одной из приоритетных задач российской науки в настоящее время. Для этого необходимы не только конкретные меры, направленные на повышение качества и результативности научных исследований, но и развитие российских научных журналов, позволяющих представить научные результаты международному сообществу.

В начале 2018 года на заседании редколлегии журнала «Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» были обозначены важные задачи для развития журнала, которые было необходимо решить путем его приведения в соответствие с требованиями приказов Минобрнауки России, рекомендаций Ассоциации научных редакторов и издателей (АНРИ), руководств Международного комитета по этике научных публикаций, а также рекомендаций ведущих международных издательств.

Одним из важных аспектов продвижения научного журнала на международном уровне является подготовка качественного сайта. Сайт научного журнала должен не только привлечь к журналу как можно более широкую аудиторию, сделать его доступным, вызвать интерес к информационному содержанию журнала, но и содержать сведения о его тематике, редакционной политике, целях и задачах, этических нормах и других неотъемлемых составляющих, свидетельствующих о научном и технологическом уровне журнала, его добросовестности.

Результатом творческого труда редакционной команды и издательства стали подготовка и переход в 2018 году журнала «Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» на новый двуязычный сайт журнала, полностью соответствующий требованиям международных и российских баз и индексов научного цитирования, предоставляющий возможность работы с электронной редакцией и рецензирования материалов статей онлайн, обеспечивающий электронный внутриведомственный и научный документооборот, управление подписками, наполнение архива, публикацию новых выпусков, а также работу по подготовке изданий к печати.

На протяжении 2018 года редакционная команда журнала целенаправленно проводила работу по развитию и продвижению издания. По запросу редакции экспертами НЭИКОН проведена оценка журнала и его сайта. В настоящее время осуществляется работа по выполнению рекомендаций экспертов. Выполнена реорганизация составов редакционной коллегии и совета, уточнена тематика принимаемых к рассмотрению научных статей — тематика поступающих для опубликования в журнале статей должна соответствовать группам научных специальностей: 14.01.00 Клиническая медицина, 14.03.00 Медико-биологические науки, 14.04.00 Фармация.

Для реализации стратегии развития журнала его архив размещен в российских и международных реферативных базах данных, а также базах данных индексов научного цитирования: «Российский индекс цитирования» (импакт-фактор РИНЦ в 2017 году составил 0,484), «КиберЛенинка», «Соционет», Российская государственная библиотека, Академия Google (Google Scholar), BASE (Bielefeld Academic Search Engine), Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, WorldCat.

В работе над журналом «Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения» в текущем году принимали участие более 100 авторов и 70 рецензентов. Редакция выражает благодарность авторам и рецензентам за оказанную помощь при подготовке журнала и надеется, что совместными усилиями в дальнейшем мы сможем не только сохранить, но и улучшить качество публикуемых материалов и повысить научный уровень журнала.

Главный редактор
Ю.В. Олефир

Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным

А. В. Рыбакова^{1,*}, М. Н. Макарова¹, А. Е. Кухаренко², А. С. Вичаре³, Ф.-Р. Рюффер⁴

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

² Общество с ограниченной ответственностью «Эбботт Лэбораториз»,
Ленинградское ш., 16А, стр. 1, Москва, 125171, Российская Федерация

³ Abbott Healthcare Pvt. Ltd., Марол Индастриал Эриа, Андхери Ист, Мумбаи, 400093, Индия

⁴ Abbott Laboratories GmbH, Фреундалле 9А, Ганновер, 30173, Германия

Резюме. В рамках гармонизации требований на международном фармацевтическом рынке наблюдается тенденция к разработке единых стандартов, в том числе в области доклинических исследований лекарственных средств. Достоверность и воспроизводимость экспериментальных данных, полученных с использованием животных в различных лабораториях, невозможно обеспечить без соблюдения принципов «3Rs» (принципов гуманной методики эксперимента), обеспечивающих благополучие животных. В настоящей работе представлен анализ российских и зарубежных рекомендаций по различным способам и объемам введения лекарственных средств мышам, крысам, морским свинкам и кроликам как наиболее часто используемым видам лабораторных животных. Систематизированы данные литературы относительно введения лекарственных средств пероральным/внутрижелудочным, подкожным, внутримышечным, внутривенным и внутрибрюшинным путем. Оценены возможные осложнения при каждом пути введения лекарственного средства и негативные последствия как для здоровья и благополучия лабораторного животного, так и для результатов, полученных в ходе исследования. Также в работе представлены некоторые анатомические и физиологические особенности лабораторных животных, возможности депривации кормом и водой, способы снижения болезненных ощущений для животных. На основании проведенного сравнения объемов введения лабораторным животным предложены оптимальные рекомендованные и максимальные объемы введения лекарственных средств.

Ключевые слова: объем введения; дозирование; лабораторные животные; благополучие лабораторных животных; гуманное обращение с лабораторными животными

Для цитирования: Рыбакова АВ, Макарова МН, Кухаренко АЕ, Вичаре АС, Рюффер Ф-Р. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):207-217. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217>

***Контактное лицо:** Рыбакова Анна Владимировна; rybakova.av@doclinika.ru

Current Requirements for and Approaches to Dosing in Animal Studies

A. V. Rybakova^{1,*}, M. N. Makarova¹, A. E. Kukharensko², A. S. Vichare³, F.-R. Rueffer⁴

¹ Scientific and Production Association «HOME OF PHARMACY»,
3-245 Zavodskaya St., Kuzmolovskiy, Vsevolozhskiy District, Leningrad Oblast 188663, Russian Federation

² Abbott Laboratories LLC, 16A/1, Leningradskoye shosse, Moscow 125171, Russian Federation

³ Abbott Healthcare Pvt. Ltd., Marol Industrial Area, Andheri East, Mumbai-400093, India

⁴ Abbott Laboratories GmbH, Freundallee 9A, Hannover 30173, Germany

Abstract. Today, within the context of harmonisation of requirements in the international pharmaceutical market, there is a trend towards development of common standards, including in the field of preclinical studies. The reliability and reproducibility of experimental data obtained in various laboratories using animals cannot be guaranteed unless the 3Rs principles are observed (the principles of humane experimental technique) to ensure the welfare of animals. The present paper analyses Russian and foreign recommendations on different administration routes and administered volumes as applied to mice, rats, guinea pigs, and rabbits — the most frequently used laboratory animals. The paper systematises literature data on oral/intragastric, subcutaneous, intramuscular, intravenous and intraperitoneal routes of administration. It assesses potential complications of each route of administration, and negative effects on both health and well-being of laboratory animals, as well as on the results of experiments. The paper also touches upon some anatomical and physiological characteristics of laboratory animals, potential opportunities for feed and water deprivation, ways of reducing pain in animals. The results of comparison of administered volumes helped to determine optimal recommended and maximum administered volumes.

Key words: administered volume; dosing; laboratory animals; well-being of laboratory animals; humane treatment of laboratory animals

For citation: Rybakova AV, Makarova MN, Kukharensko AE, Vichare AS, Rueffer F-R. Current requirements for and approaches to dosing in animal studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(4):207-217. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217>

***Corresponding author:** Anna V. Rybakova; rybakova.av@doclinika.ru

В настоящее время на фармацевтическом рынке наблюдается тенденция к разработке единых стандартов в области доклинических исследований лекарственных средств. Гарантировать достоверность и воспроизводимость экспериментальных данных, полученных в различных лабораториях, невозможно без соблюдения принципов «3Rs» (принципов гуманной методики эксперимента), обеспечивающих благополучие животных в целом [1, 2]. При разработке программы исследования важным вопросом является выбор способа и объемов введения лекарственного средства лабораторным животным как с точки зрения поставленной задачи исследования, так и с точки зрения благополучия животных. Неправильно подобранный объем исследуемого лекарственного средства способен привести к страданию животного и оказать неблагоприятное воздействие на его организм, а полученные данные могут быть искажены или неверно интерпретированы.

Цель работы — анализ международных и отечественных рекомендаций по объемам введения лекарственных средств наиболее часто используемым видам лабораторных животных для дальнейшей разработки единых стандартов, учитывающих нормы гуманного обращения с животными.

На сегодняшний день, с точки зрения гуманных принципов обращения с животными, используются такие понятия, как рекомендованный объем и максимальный объем для введения препаратов животным [2–5]. Рекомендованный объем для однократного введения — это объем вводимого лекарственного средства, который не вызывает у животного дискомфорт, болевые ощущения и не влияет на его поведение. Максимальный объем вводимого лекарственного средства для однократного введения — это объем, который является физиологически возможным, но может вызвать кратковременный дискомфорт у животного и потребовать дополнительной подготовки перед проведением манипуляции (депривация кормом, установка внутривенного или артериального катетера, анестезия и другие). Информационная доступность и использование сведений о рекомендованных и максимальных объемах для введения лекарственных средств позволит более рационально подходить к вопросу разработки плана исследования, сводя к минимуму страдания животного.

Наиболее часто при проведении доклинических исследований используют следующие способы введения лекарственных средств: пероральный, внутрижелудочный, подкожный, внутримышечный, внутривенный и внутрибрюшинный. К более редким способам введения относятся: эндотра-

хеальный, интраназальный, внутрисердечный, внутрикожный, ректальный, интравагинальный, интратекальный. При подготовке плана исследования, выборе биологической тест-системы, способа и объема введения неизбежно возникают вопросы, связанные с особенностями анатомии животных, протеканием биохимических процессов в их организме, наличием или отсутствием активности ферментов и/или их изоформ.

ПЕРОРАЛЬНЫЙ И ВНУТРИЖЕЛУДОЧНЫЙ ПУТИ ВВЕДЕНИЯ

Значительное число лекарственных препаратов на сегодняшний день представляют собой жидкие или твердые формы, предназначенные для приема внутрь (перорально). При пероральном введении препарата животное получает его через ротовую полость (препарат или плацебо могут поступать в составе корма или воды). Необходимо учитывать, что часть исследуемого вещества попадает на слизистую ротовой полости и может всасываться уже здесь или оказывать местное биологическое действие (например, раздражение слизистой оболочки). При внутрижелудочном пути введения используется внутрижелудочный зонд соответствующего калибра, и попадание препарата на слизистую ротовой полости практически исключено. Лабораторным животным препараты могут вводиться как в виде суспензий, растворов, так и в виде таблеток при помощи зондов или таблеткодавателей. При внутрижелудочном способе введения необходимо учитывать такие физиологические особенности животного, как наличие остаточного количества пищи и воды в его желудке. В таблице 1 приведены данные о суточном потреблении корма и воды у четырех видов наиболее распространенных лабораторных животных [3, 4].

При выборе вида животного для проведения эксперимента необходимо учитывать, что существуют значительные видовые различия в строении желудочно-кишечного тракта [6, 7]. Диаметр и длина зонда для внутрижелудочного введения лекарственного средства должны соответствовать диаметру и длине пищевода лабораторного животного, используемого в эксперименте. При неправильном выборе исследователь может травмировать стенку глотки и пищевода или выполнить введение препарата в пищевод, что приведет к его растяжению, разрыву или попаданию исследуемого вещества в трахею.

В литературе чаще всего указаны усредненные показатели размеров желудка животных. Проводились исследования, которые позволили получить значения максимального объема желудка у лабораторных животных путем заполнения органа водой *post mortale* [6, 7]. Полученные данные представлены

Таблица 1. Потребление корма и воды у различных видов животных

Table 1. Feed and water consumption by different animals

Компоненты	Потребление на 100 г массы животного в сутки			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
Корм, г	12–18	5–6	6	4–5
Вода, мл	15	10–12	10	5–15

Таблица 2. Размер желудка у различных видов лабораторных животных

Table 2. Stomach capacity of different laboratory animals

Показатели размера желудка	Вид животного			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
Средний объем желудка, мл	1–1,5	3–5	20–30	200
Максимальный объем желудка, мл	1,1–3,5	5–20	50–80	160–210
Время прохождения корма из желудка в кишечник, ч	1–2*	0,15–1,5**	2***	3–6***

* F. Mule и др. [8]; ** S.-C. Wang и др. [9] и Э. Кибл и др. [4]; *** M.A. Suckow и др. [3].

в таблице 2. Однако значения максимальной вместимости желудка нельзя рассматривать в качестве выбора максимального объема вводимого лекарственного средства. Наличие таких данных дает лишь возможность проанализировать и сопоставить вводимые объемы препарата с объемом желудка животного. Большое значение при проведении исследований также имеет структура вводимого вещества. Лекарственные средства в виде водного раствора лучше переносятся животными, чем маслянистые и густые, из-за их удельной массы.

При введении максимальных объемов исследуемых препаратов рекомендуется изменить время кормления животных для того, чтобы на момент введения основной масса корма уже переместилась из желудка в кишечник. Необходимо учитывать, что грызуны и кролики являются истинными копрофагами, их желудочно-кишечный тракт никогда не бывает пустым [3, 10]. Так, например, желудок кролика может быть абсолютно пустым только на девятые сутки голодания, что недопустимо по этическим нормам содержания животных [11]. Длительное голодание противопоказано также для грызунов, к которым относится большая часть лабораторных животных, обладающих высокой скоростью обмена

веществ и относительно маленьким запасом печеночного гликогена [4]. Длительность депривации кормом лабораторных животных должна учитывать скорость и особенности метаболизма, время эвакуации пищевых масс из желудка и длительность их прохождения по всей длине пищеварительного тракта. Время депривации кормом, предусмотренное планом исследования, должно быть согласовано с биоэтической комиссией и строго контролироваться.

Выбор вида животного должен основываться на возможности прохождения по пищеводу исследуемой лекарственной формы препарата (таблетка или капсула определенного типоразмера) без разрушения их целостности. Такая возможность определяется анатомическими размерами и особенностями пищевода у разных видов животных. Сравнительные размеры этого органа у лабораторных животных и рекомендованные размеры внутрижелудочного зонда представлены в таблице 3. Для лучшего прохождения лекарственных форм по пищеводу многими авторами рекомендуется использовать обволакивающие или маслянистые вещества, применение которых облегчит процедуру введения и снизит дискомфорт у животного [4]. Однако пред-

Таблица 3. Сравнительные размеры пищевода животных и рекомендованные размеры внутрижелудочного зонда [6, 7]

Table 3. Comparison of the sizes of laboratory animals esophagi and recommended sizes of gastric tubes [6, 7]

Размеры пищевода и зонда	Вид животного			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
Пищевод, длина, мм	30–50	70–100	80–150	140–200
Пищевод, средний диаметр, мм	0,9–2,25	1,7–2,5	1,7–2,5	8,5–11
Фаренгиальное сужение, мм	1	2,3	2,0	8,9
Наиболее широкая часть пищевода, мм	1,5	3,5	2,4	10
Диафрагмальное сужение пищевода, мм	1	1,5	1,7	9
Калибр зонда, G	16–22	13–18	13	13
Диаметр оливы, мм	1,2–1,6	2,3–3,0	3,5	3,5
Длина зонда, мм	2,5–3,8	3,0–8,8	90–150	90–150

Таблица 4. Объемы внутрижелудочного однократного введения препаратов лабораторным животным

Table 4. Medicine volumes for single intragastric administration to laboratory animals

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	10–16	25	25	2,5
J. Nau и др. [2]	10	5	5	1,9
K.-H. Diehl и др. [13]	10	10	—	10
F.C. Hankenson [14]	10	10	—	—
J. Fox и др. [15]	5–10	—	—	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	10–15
И.П. Западнюк и др. [16]	50	15	—	—
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств ¹	25–33	26,6–30	16–20	50–67
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	25–33	26,6–30	16–20	50–67
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств ²	25–33	26,6–30	16–20	50–100

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

¹ Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств. М.: Русский врач; 2005.

² Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

варительно должно быть проанализировано и учтено возможное влияние этих веществ на изменение биодоступности исследуемых лекарственных форм.

В таблице 4 представлены данные, опубликованные российскими и зарубежными исследователями, в отношении допустимых объемов внутрижелудочного введения лекарственных препаратов для некоторых видов животных.

При анализе представленных данных можно отметить различные точки зрения по допустимым объемам для внутрижелудочного введения у кроликов. Так, российские исследователи указывают, что максимальный объем для однократного введения исследуемого препарата кролику со средней массой тела 3 кг составляет 300 мл (50–100 мл/кг). По данным иностранных ученых, эта цифра варьируется от 6 до 30 мл, причем максимальный объем однократного введения лимитирован от 10 до 15 мл. При сопоставлении данных о количестве потребляемого корма (табл. 1) можно отметить, что взрослый кролик с массой тела 3 кг потребляет от 120 до 150 г комбикорма в сутки, при этом объем пустого желудка взрослого кролика составляет в среднем 200 мл (табл. 2). С учетом того, что желудок кролика никогда не бывает пустым, введение 300 мл препарата кролику является недопустимым и лишает животное возможности потреблять пищу, а также может привести к повреждению желудка (вплоть до его разрыва).

У лабораторных мышей с максимальным объемом желудка от 1,1 до 3,5 мл (в зависимости от массы тела) рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных авторов, составляет от 10 до 16 мл/кг (0,2–0,32 мл/мышь). Согласно российским рекомендациям допускается введение препарата в объеме от 0,5 до 1 мл/мышь.

У крыс максимальный объем желудка составляет от 5 до 20 мл (в зависимости от массы тела), рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных авторов, составляет от 5 до 25 мл/кг (1–5 мл/крысу). Российские ученые допускают введение сопоставимых объемов до 6 мл/крысу.

У морских свинок максимальный объем желудка от 50 до 80 мл (в зависимости от массы тела), рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных авторов, составляет от 5 до 25 мл/кг (1,8–8,8 мл/морскую свинку). Российские рекомендации допускают введение аналогичных объемов 5,6–7,0 мл/морскую свинку.

Введение максимально допустимых объемов требует дополнительной подготовки животного (как минимум депривация кормом) и медленного введения лекарственных препаратов. При составлении плана проведения исследования необходимо обосновывать объемы вводимых препаратов. Введение лекарственных средств лабораторным животным внутрижелудочно в объемах, превышающих максимальные значения, может привести к перерастяжению и разрыву желудка, вызвать кишечную непроходимость, заброс пищевых масс в пищевод или трахею, что может вызвать растяжение пищевода, передавливание трахеи и острую пневмонию.

ПОДКОЖНЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

Подкожные инъекции являются наиболее предпочтительным методом парентерального введения лекарственных препаратов у грызунов и кроликов, так как позволяют вводить относительно большие объемы лекарственных средств. Данный вид введения препаратов очень часто используется в лабораторной и ветеринарной практике. Наиболее комфортным местом для инъекции является кожная

Таблица 5. Объемы подкожного введения препаратов лабораторным животным и калибр иглы для инъекции

Table 5. Medicine volumes for subcutaneous injection to laboratory animals, and injection needle gauge

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных и калибр иглы			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	8–10 25G	5 23–25G	5 23–25G	1 21–25G
J. Nau и др. [2]	10 26G	5 25G	5 25G	1 23G
F.C. Hankenson [14]	10	5	—	—
K.-H. Diehl и др. [13]	10 (не более 2–3 инъекций в день)	5 (не более 2–3 инъекций в день)	—	1
J. Fox и др. [15]	10–40 (максимум 2–3 мл на животное) ≤20G	—	—	—
D.J. Clemons и др. [18]	—	—	5–10	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	5
И.П. Западнюк и др. [16]	50	100	60	15
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	50	50–100	60	15
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	50	105	60	15
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	50	100	60	15
Э. Кибл и др. [4]	80–120 при высоком % дегидратации тканей	15–20; 25–50 при высоком % дегидратации тканей	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

складка в области холки животного, вводимые объемы препаратов не должны чрезмерно растягивать кожу. Введение водных растворов, близких по pH к физиологическому уровню, будет в меньшей степени беспокоить животное. Желательно, чтобы вводимые растворы были подогреты как минимум до комнатной температуры, так как это минимизирует проявление адаптивных реакций у животного. В таблице 5 представлены данные обзора литературы по объемам вводимого препарата лабораторным животным.

Таблица 5 иллюстрирует, что объемы подкожного введения, представленные в отечественной научной литературе, превышают в несколько раз нормы, указанные в иностранных источниках. Так, например, по большинству рекомендаций российских исследователей лабораторной мыши с массой тела 20 г можно ввести подкожно до 1 мл препарата, при этом в момент инъекции под кожей у животного образуется припухлость, которая в дальнейшем может преобразоваться в кистозную полость. Зарубежные же ученые не рекомендуют вводить мышам более 0,2 мл препарата. Согласно рекомендациям по терапии грызунов, допустимый объем подкожного введения лекарственного средства при высокой степени дегидратации тканей животного составляет 80 мл/кг, что соответствует 1,6 мл на мышь массой 20 г. Таким образом, для данного вида животного можно принять

0,2 мл как рекомендованный объем введения и 1 мл как максимальный объем подкожного введения.

Для крыс рекомендуемый объем введения препаратов, по данным зарубежных авторов, составляет 5 мл/кг (1,25 мл на крысу массой 250 г). Российские рекомендации допускают объем подкожного введения от 12,5 до 25 мл на крысу массой тела 250 г. При таких объемах в момент инъекции под кожей также будет образовываться припухлость, которая в дальнейшем может преобразоваться в кистозную полость.

У морских свинок рекомендуемый объем введения, по данным зарубежных исследователей, составляет от 5 до 10 мл/кг (1,75–3,5 мл/морскую свинку массой тела 350 г). Российские ученые допускают введение до 60 мл/кг, что соответствует 21 мл/морскую свинку массой тела 350 г, осложнения при этом будут наблюдаться такие же, как у мышей и крыс.

Для кролика рекомендованный объем введения препарата, по данным зарубежных авторов, составляет от 1 до 5 мл/кг, что соответствует от 3 до 15 мл на животное массой тела 3 кг. По данным российских исследователей, для кролика рекомендуется объем введения 15 мл/кг, что для животного со средней массой тела 3 кг будет уже составлять 45 мл. Такой объем вызывает образование припухлости, которая

в дальнейшем может преобразоваться в кистозную полость.

Необходимо также отметить, что в большинстве экспериментальных вивариев грызунов кормят сухими полнорационными комбикормами, применение которых требует повышенного потребления воды. При введении подкожно больших объемов исследуемых растворов у животного не будет происходить раздражение центральных и периферических осморорецепторов, а также рефлекторное возбуждение питьевого центра, т.е. не будет возникать жажда. Отказ животного потреблять воду, необходимую для набухания комбикорма в желудке, приведет к снижению моторики желудочно-кишечного тракта, в результате чего может развиться язвенное поражение слизистой желудка.

В большинстве случаев объемы препаратов для подкожного введения, рекомендованные российскими руководствами, сопоставимы с объемами, которые используются в ветеринарной практике при неотложных ситуациях в качестве плазмозаместительной или экстренной терапии. Например, при гипотензивных состояниях, когда животное не может самостоятельно восполнить объем циркулирующей крови за счет потребления воды, а также активно теряет воду с мочой, потом и калом. Необходимо четкое понимание, что экстремальные объемы не подходят для ежедневного введения исследуемых препаратов подкожно.

Следует отметить, что в зависимости от состава и объема вводимого препарата может варьировать степень выраженности ответной реакции животного. Так, при введении больших объемов маслянистых веществ у животного будет наблюдаться дискомфорт, и после завершения манипуляции существует высокий риск расчесывания места укола. Введение адьювантов или веществ, обладающих агрессивными свойствами, требует особого подхода к фиксации животного при проведении манипуляции и может вызвать некротические изменения в области инъекции. Большие объемы вводимых лекарственных препаратов могут привести к передавливанию сосудов и нервов, расслоению жировой ткани, нарушению двигательной активности. Использование меньших объемов введения при инъекциях не вызывает у животного физиологических нарушений и не окажет влияния на его зоосоциальное поведение.

ВНУТРИМЫШЕЧНЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

Внутримышечный путь введения лекарственных препаратов животным — это еще один вариант, часто используемый в практике доклинических исследований. Проведение внутримышечных инъекций лабораторным грызунам осложнено малой массой их тела и, соответственно, мышц. Как правило, инъекции этим животным делают в четырехглавую мышцу бедра (*Musculus quadriceps femoris*). Введения препаратов в заднюю поверхность бедра следует избегать, так как это может привести к травматизации седалищного нерва и, как следствие, к хромоте или параличу конечности животного. Также целесообразно разделять внутримышечную инъекцию на

два введения в транслатеральные области. У кроликов введение проводят в четырехглавую мышцу бедра и в спинную поясничную мышцу.

Объем инъекции следует минимизировать, чтобы избежать болезненных ощущений и дискомфорта у животных и свести к минимуму неблагоприятные последствия от манипуляции. В таблице 6 представлены данные по объемам одноразового внутримышечного введения препарата, рекомендованные отечественными и зарубежными авторами.

Анализ данных, приведенных в таблице 6, показывает существенные отличия среди результатов, полученных разными исследователями. По отечественным рекомендациям крысы массой тела 200 г можно ввести 10 мл препарата, тогда как по зарубежным руководствам эта цифра составляет от 0,2 до 0,4 мл. Обращают на себя внимание рекомендации F.C. Hankenson [14], в которых для мышей в качестве допустимого объема рассматривается 0,05 мл/кг, что при пересчете на мышшь массой 20 г составляет 0,001 мл (1 мкл). Такой объем невозможно ввести с использованием обычных шприцов, и требуется применение шприцов Гамильтона.

При введении больших объемов препарата у животного может произойти инкапсуляция исследуемого вещества, образование кист и дальнейшее асептическое абсцедирование в месте инъекции [4, 5]. В ветеринарной медицине для лечения грызунов и зайцеобразных многими авторами рекомендовано по возможности избегать внутримышечных инъекций из-за высокого риска травматизации седалищного нерва, а также вероятности болевых ощущений и повреждения мышц у животного [4, 5].

В большинстве зарубежных рекомендаций, согласно представленным данным (табл. 6), сделан акцент на максимальном объеме однократного внутримышечного введения, что подразумевает различия в объемах однократных и многократных инъекций. В работах российских исследователей не обсуждается вопрос об ограничении объема препарата при однократном и многократном внутримышечном введении, что может привести к недопониманию допустимых объемов и нарушению этических норм и ветеринарных правил. Например, может быть сделан ложный вывод о допустимости однократной внутримышечной инъекции в объеме 25 мл/кг массы тела лабораторной мыши, т.е. 0,5 мл (!) на одно животное массой 20 г, что неизбежно приведет к болевым ощущениям и расслоению мышц животного.

ВНУТРИВЕННЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

Внутривенные инъекции являются разновидностью парентерального введения лекарственных препаратов и широко используются в ветеринарной и экспериментальной практике. Однако при выполнении данного вида манипуляции существуют сложности, такие как: небольшой размер животных, маленький диаметр кровеносных сосудов, плохая визуализация периферических сосудов, что обуславливает необходимость в дополнительном оборудовании для фиксации животного и визуализации

Таблица 6. Объемы внутримышечного введения препаратов лабораторным животным и калибр иглы для инъекций
Table 6. Medicine volumes for intramuscular injection to laboratory animals, and injection needle gauge

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных и калибр иглы			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	2,0 (не более 0,05 мл за одно введение) 27G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,06 (не более 0,25 мл за одно введение) 23–25G
J. Nau и др. [2]	2,0 (не более 0,05 мл за одно введение) 27G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,5 (не более 0,1 мл за одно введение) 25G	0,06 (не более 0,25 мл за одно введение) 25G
K.-H. Diehl и др. [13]	2,0 (не более 0,1 мл за одно введение, не более двух инъекций в день)	0,5–1,0 (не более 0,1–0,2 мл за одно введение, не более двух инъекций в день)	—	0,25–0,5
F.C. Hankenson [14]	0,05 (не более 0,001 мл за одно введение)	0,1 (не более 0,02 мл за одно введение)	—	—
J. Fox и др. [15]	1,2–2 (не более 0,05 мл за одно введение) ≤23G	—	—	—
D.J. Clemons и др. [18]	—	—	0,06	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	0,05 (не более 1,0 мл за одно введение)
И.П. Западнюк и др. [16]	25	50	5	4–6
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	25	50	20	7,5
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	25	50	20	7,5
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	25	50	20	7,5
Э. Кибл и др. [4]	2	2,5	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

зации сосудов. Внутривенное введение препаратов лабораторным грызунам может быть осуществлено в следующие периферические сосуды: латеральная хвостовая вена, латеральная подкожная вена бедра, латеральная метатарсальная вена, вены ушной раковины. Инъекции исследуемых лекарственных средств зайцеобразным могут осуществляться в краевые ушные вены. Также для всех видов животных возможно использование яремной вены, но многими авторами не рекомендуются многократные введения в этот сосуд.

При парентеральных способах введения лекарственных препаратов следует учитывать объем циркулирующей крови у разных видов лабораторных животных. В таблице 7 представлены рекомендованные нормы по объему введения препаратов, которые зависят от способа внутривенной инъекции.

В практике разделяют однократное болюсное введение малых объемов и длительное введение больших объемов при помощи инфузии.

При анализе литературы необходимо отметить, что в отечественных рекомендациях объемы внутривенных инъекций при инфузионном способе схожи с данными зарубежных исследователей, при этом по болюсному способу введения объемы не представлены, что может привести к недопониманию допустимых объемов. Например, может быть сделан ложный вывод о допустимости болюсного внутривенного введения в объеме 60 мл/кг массы тела крысы, т.е. 12 мл на животное массой 200 г, в то время как большинство зарубежных ученых рекомендуют ограничить максимальный объем болюсного введения до 5 мл. Если сравнить эти величины с объемом циркулирующей крови (ОЦК) крысы (65 мл/кг) [3], то

Таблица 7. Объемы однократного внутривенного введения препаратов лабораторным животным и калибр иглы для инъекции

Table 7. Medicine volumes for single intravenous injection to laboratory animals

Источник литературы	Способ введения препарата	Объемы введения (мл/кг) для животных и калибр иглы			
		мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	болюсное	5–8 27–28G	5 25–27G	5 25–27G	2 23–25G
	инфузия	25	20	20	10
J. Nau и др. [2]	болюсное	8	5	5	1,25
	инфузия	12 26G	20 25G	20 26G	10 23G
К.-Н. Diehl и др. [13]	болюсное	5	5	–	2
	инфузия	25	20	–	10
F.C. Hankenson [14]	болюсное	5	5	–	–
	инфузия	25	20	–	–
J. Fox и др. [15]	болюсное	5*	–	–	–
	инфузия	25 ≤25G	–	–	–
M.A. Suckow и др. [3]	болюсное	–	–	–	5
	инфузия	–	–	–	10–20
И.П. Западнюк и др. [16]	инфузия	25	60	16	10
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	инфузия	10–25	20	20–32	10
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	инфузия	10–25	20	20–32	10
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	инфузия	25	20	32	10
Э. Кибл и др. [4]	инфузия	8	2,5	–	–

Примечание. Знак «–» — отсутствие сведений.

* Максимальное введение в хвостовую вену не более 0,2 мл.

становится очевидным, что данный объем (60 мл/кг) замешает практически 100 % ОЦК (!). Даже в клинической практике при применении кровозамещающих растворов объем введения обычно не превышает 30 % от ОЦК.

Быстрое введение лекарственного препарата в больших объемах внутривенно влечет за собой необратимые изменения в организме животного, которые напрямую не связаны с вводимым препаратом. Избыточная и особенно быстрая инфузия растворов ведет к увеличению объема ОЦК, прежде всего в сосудах легких, жидкость не успевает переместиться в интерстиций и депонируется в легочных венах. Из-за спазма легочных артериол наступает объемная перегрузка правых отделов сердца, в первую очередь правого желудочка, ухудшается отток в правое предсердие значительной части крови из коронарных вен. Затруднение оттока по коронарным венам приводит к замедлению притока крови по коронарным артериям и доставки кислорода к миокарду, все это может обусловить возникновение острой коронарной недостаточности у животного, вплоть до возникновения острого инфаркта миокарда с дальнейшим развитием острой сердечной

лево-желудочковой недостаточности. Поэтому наиболее часто в качестве осложнений при больших объемах внутривенной инъекции встречаются отеки легких и головного мозга, разрывы магистральных сосудов и кровоизлияния. Введение больших объемов внутривенно может существенно влиять на свертывающую систему крови и приводить в дальнейшем к отсроченной гибели животного.

ВНУТРИБРЮШИННЫЙ ПУТЬ ВВЕДЕНИЯ

При внутрибрюшинном пути введения инъекция осуществляется в область апоневроза, отступив 1 см вниз от области пупочного сращения под углом 30–40 °С к брюшной стенке. Несмотря на то что такой метод используется на лабораторных грызунах, в лечебной практике внутрибрюшинное введение обычно не применяется, так как введенные препараты должны сначала пройти через круг кровообращения в системе воротной вены, где они метаболизируются до того, как достигнут общего кровотока. Важными недостатками при проведении данной манипуляции являются: высокая вероятность повреждения или перфорации внутренних органов, болезненные ощущения и дискомфорт у животного. При

длительном (многократном) использовании данного метода может происходить накопление препарата в брюшной полости (между париетальными и висцеральными листками брюшины, на серозных покровах внутренних органов), образование абсцессов, наложений фибрина или остатков препарата на внутренних органах, а также перитонит.

При анализе данных по разрешенным объемам для внутрибрюшинного введения исследуемых препаратов отмечаются существенные отличия между отечественными и иностранными источниками литературы (табл. 8). Отказ от введения внутривенно больших объемов может быть мотивирован теми же причинами, что и при подкожном пути введения, которые изложены выше.

В соответствии с российскими рекомендациями данный вид введения является альтернативным при проведении доклинических исследований и довольно часто используется в токсикологических исследованиях, как правило, при изучении острой токсичности как второй путь введения для лекарственных средств, предназначенных для парентерального введения. Доказательная база, подтверждающая альтернативность данного вида введения лекарственных средств в клинической практике, в литературе не отмечена, так же как и сведения о биодоступности препаратов при внутрибрюшинном введении по сравнению с внутримышечным, внутривенным или подкожным путями введения.

При анализе источников литературы следует обратить внимание, что мнения российских и зарубежных исследователей по допустимым объемам

внутрибрюшинного введения у лабораторных мышей и морских свинок практически совпадают, а у крыс и кроликов зарубежные рекомендации по объему введения существенно ниже. При выборе объема внутрибрюшинного введения необходимо учитывать — однократное или многократное введение предполагается провести.

В доступной литературе, проанализированной при подготовке данной статьи, не удалось обнаружить результатов исследований по безопасности внутрибрюшинного введения и возможных осложнений, поэтому целесообразно было бы использовать в практике минимальные объемы для снижения потенциального риска для животного и предотвращения получения недостоверных результатов в эксперименте.

На основании проведенного анализа опубликованных данных можно предложить оптимальные объемы вводимых препаратов при проведении доклинических исследований. В таблице 9 представлены рекомендованные и максимальные объемы введения лекарственных средств при различных путях введения лабораторным животным, которые можно использовать как соответствующие принципам «3Rs».

Предложенные рекомендованные и максимальные объемы для однократного введения исследуемых препаратов животным требуют дополнительной проверки в различных лабораториях. Это обусловлено необходимостью получения сопоставимых результатов в стандартизированных экспериментальных условиях и, что еще более важно, с учетом соблюдения норм гуманного обращения

Таблица 8. Объемы однократного внутрибрюшинного введения препаратов лабораторным животным

Table 8. Medicine volumes for single intraperitoneal injection to laboratory animals

Источник литературы	Объемы введения (мл/кг) для животных			
	мышь	крыса	морская свинка	кролик
S. Wolfensohn и др. [12]	20–80	10–20	10–20	2,5–3,75
J. Nau и др. [2]	20	10	10	5
К.-Н. Diehl и др. [13]	20	10	—	5
F.C. Hankenson [14]	20	10	—	—
J. Fox и др. [15]	20–80 (максимальный объем введения животному 2–3 мл)	—	—	—
D.J. Clemons и др. [18]	—	—	10–15	—
M.A. Suckow и др. [3]	—	—	—	10–20
И.П. Западнюк и др. [16]	100	50	—	15
Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств	50	50	20	10–15
Н.Н. Каркищенко и др. [17]	50	50	20	10–15
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств	50	50	20	10–15
Э. Кибл и др. [4]	80–120	50–75	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие сведений.

Таблица 9. Оптимальные рекомендованные и максимальные объемы однократного введения лекарственных препаратов лабораторным животным

Table 9. Optimal recommended and maximum medicine volumes administered to laboratory animals

Вид введения		Объемы введения (мл/кг) для животных			
		мышь	крыса	морская свинка	кролик
Внутрижелудочное	рекомендованный объем	5–10	5–10	5–10	2–10
	максимальный объем	11–16	11–25	11–20	11–15
Подкожное	рекомендованный объем	8	5	5	1
	максимальный объем	10	5	10	1
Внутримышечное	рекомендованный объем	1	0,5	0,5	0,06
	максимальный объем	2	1	0,5	0,25
Внутривенное	болюсное введение	5–8	5	5	1,25–2
	инфузионное введение	12–25	20	20	10
Внутрибрюшинное	рекомендованный объем	20	10	10	2,5–5
	максимальный объем	80	20	20	10–15

с лабораторными животными. В случае выбора максимальных объемов для введения препарата животным этот дизайн исследования должен быть дополнительно обоснован, например, невозможностью получения данных о токсичности исследуемого вещества без использования больших объемов, введенных за один раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ российских и зарубежных рекомендаций по различным способам и объемам введения лекарственных средств мышам, крысам, морским свинкам и кроликам позволил систематизировать эти данные с учетом анатомических и физиологических особенностей лабораторных животных, возможности депривации кормом и водой, способов снижения болезненных ощущений для животных и предложить оптимальные рекомендованные и максимальные объемы введения.

Проведенная работа позволит в дальнейшем гармонизировать общие вопросы дизайна доклинических исследований и ускорить процесс взаимного признания результатов, полученных в разных странах, а также будет способствовать сокращению количества лабораторных животных, ежегодно используемых для проведения экспериментов, и предотвращению получения недостоверных данных.

Благодарности. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. The study was performed with no external funding.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Franco NH, Olsson IA. Scientists and the 3Rs: attitudes to animal use in biomedical research and the effect of mandatory training in laboratory animal science. *Lab Anim.* 2014;48(1):50–60. <https://doi.org/10.1177/0023677213498717>
2. Hau J, Schapiro SJ. *Handbook of laboratory animal science.* 3rd ed. New York: CRC Press; 2011.
3. Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP. *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents.* New York: Academic Press; 2012.
4. Кибл Э, Мереди А, ред. *Грызуны и хорьки. Болезни и лечение.* М.: Аквариум-Принт; 2013. [Keeble E, Meredith A, eds. *Rodents and ferrets. Diseases and treatment.* Moscow: Aquarium Print; 2013 (In Russ.)]
5. Turner PV, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2011;50(5):600–13. PMID: 22330705
6. Макарова МН, Рыбакова АВ, Гушчин ЯА, Шедько ВВ, Мужикян АА, Макаров ВГ. Анатомо-физиологическая характеристика пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии.* 2016;(1):82–104. [Makarova MN, Rybakova AV, Gushchin YaA, Shed'ko VV, Muzhikyan AA, Makarov VG. Anatomical and physiological characteristics of digestive tract in humans and laboratory animals. *Mezhdunarodny vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine.* 2016;(1):82–104 (In Russ.)]
7. Гушчин ЯА, Мужикян АА, Шедько ВА, Макарова МН, Макаров ВГ. Сравнительная анатомия верхнего отдела желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных и человека. *Международный вестник ветеринарии.* 2017;(3):116–29. [Gushchin YaA, Muzhikyan AA, Shed'ko VV, Makarova MN, Makarov VG. Comparative anatomy of the upper gastrointestinal tract of experimental animals and humans. *Mezhdunarodny vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine.* 2017;(3):116–29 (In Russ.)]
8. Mule F, Amato A, Serio R. Gastric emptying, small intestinal transit and fecal output in dystrophic (MDX) mice. *J Physiol Sci.* 2010;60(1):75–9. <https://doi.org/10.1007/s12576-009-0060-8>
9. Wang SC, Lu KY, Chen SM, Young TK. Gastric emptying and intestinal transit of liquid and solid markers in rats with chronic uremia. *Chin J Physiol.* 2001;44(2):81–7. PMID: 11530948
10. Макарова МН, Крышень КЛ, Алякринская АА, Рыбакова АВ, Макаров ВГ. Характеристика микрофлоры кишечника у человека и лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии.* 2016;(4):97–105. [Makarova MN, Kryshen KL, Alyakrin-

- skaya AA, Rybakova AV, Makarov VG. Characteristics of the intestinal microflora in humans and laboratory animals. *Mezhdunarodny vestnik veterinarii = International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2016;(4):97–105 (In Russ.)
11. Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE, eds. *The biology of the laboratory rabbit*. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1994.
 12. Wolfensohn S, Lloyd M. *Handbook of laboratory animal management and welfare*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2003.
 13. Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol*. 2001;21(1):15–23. PMID: 11180276
 14. Hankenson FC. *Critical care management for laboratory mice and rats*. New York: CRC Press; 2013.
 15. Fox J, Barthold S, eds. *The mouse in biomedical research: normative biology, husbandry, and models*. 2nd ed. Elsevier; 2007.
 16. Западнюк ИП, Западнюк ВИ, Захария ЕА, Западнюк БВ. *Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте*. 3-е изд. Киев: Вища школа; 1983. [Zapadnyuk IP, Zapadnyuk VI, Zakhariya EA, Zapadnyuk BV. *Laboratory animals. breeding, maintenance, use in the experiment*. 3rd ed. Kiev: Vishcha shkola; 1983 (In Russ.)]
 17. Каркищенко НН, Грачев СВ, ред. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. М.: Профиль-2С; 2010. [Karkishchenko NN, Grachev SV, eds. *Guidance on laboratory animals and alternative models in biomedical research*. Moscow: Profile-2S; 2010 (In Russ.)]
 18. Clemons DJ, Seeman JL. *The laboratory guinea pig*. 2nd ed. New York: CRC Press; 2011.

ОБ АВТОРАХ

Рыбакова Анна Владимировна, канд. вет. наук, заместитель директора по ветеринарии НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

Макарова Марина Николаевна, д-р мед. наук, директор НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2686-0952>

Кухаренко Андрей Евгеньевич, канд. фарм. наук, менеджер по доклинической безопасности «Эбботт Лэбораториз»

Абхижит Суреш Вичаре, магистр вет. наук, менеджер по токсикологии Abbott Healthcare Pvt. Ltd., **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9107-4029>

Фрауке-Регина Рюффер, д-р вет. наук, инспектор по благополучию животных Abbott Laboratories GmbH

AUTHORS

Anna V. Rybakova, Cand. Sci. (Vet.), Deputy Director for Veterinary Medicine of Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY»

Marina N. Makarova, Dr. Sci. (Med.), Director of Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY», **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2686-0952>

Andrey E. Kukhareenko, Cand. Sci. (Pharm.), Manager for Preclinical Safety of Abbott Laboratories LLC

Abhijit Suresh Vichare, MVSc, Toxicology Manager of Abbott Healthcare Pvt. Ltd., **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9107-4029>

Frauke-Regina Rueffer, PhD (Vet.), Animal Welfare Officer of Abbott Laboratories GmbH

Статья поступила 04.05.2018

После доработки 26.07.2018

Принята к печати 19.11.2018

Article was received 4 May 2018

Revised 26 July 2018

Accepted for publication 19 November 2018



Критерии оценки когнитивных нарушений в клинических исследованиях

А. П. Соловьева*, Д. В. Горячев, В. В. Архипов

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

Резюме. Для оценки когнитивных функций (КФ) используются нейропсихологические методы исследования. Тесты, используемые в клинической нейропсихологии, в большинстве случаев описывают один или более аспектов когнитивных доменов, представляющих собой теоретические конструкты, в которые вовлечены сразу несколько когнитивных процессов. Нейропсихологические тесты измеряют КФ независимо от медицинского диагноза субъекта тестирования. Это позволяет определять даже незначительные изменения КФ, в том числе в клинических исследованиях, что имеет принципиальное значение при изучении эффективности и безопасности той или иной терапии. В статье рассматриваются особенности применения инструментов нейропсихологического и скринингового тестирования когнитивных функций в отдельных доменах на основании зарубежного опыта. Обсуждаются критерии отбора и применения отдельных инструментов, их особенности и выбор критериев оценки результатов тестирования в клинических исследованиях при нарушении КФ при различных патологических состояниях, сопровождающихся когнитивными нарушениями. При планировании клинических исследований также необходимо учитывать, что расстройства тревожно-депрессивного спектра являются распространенной причиной субъективной забывчивости, что требует проведения дифференциальной диагностики и отражения в протоколах клинических исследований. Приветствуется использование подшкал и компонентов различных инструментов в комбинациях, исходя из поставленных целей проводимого клинического исследования, при этом используемые инструменты нейропсихологического исследования и оценки когнитивных функций должны быть валидированы с учетом специфичности и чувствительности метода с использованием методов статистического анализа к конкретным целям и задачам. Такой многосторонний подход к изучению когнитивных нарушений позволит значимо повысить уровень проводимых клинических исследований и в последующем вывести на рынок эффективные и безопасные лекарственные средства для лечения пациентов с когнитивными нарушениями.

Ключевые слова: когнитивные функции; умеренные когнитивные нарушения; нейропсихологические тесты; когнитивные домены; MMSE; MoCA; шкала памяти Векслера; Mini-Cog; деменция при болезни Альцгеймера; сосудистая деменция

Для цитирования: Соловьева АП, Горячев ДВ, Архипов ВВ. Критерии оценки когнитивных нарушений в клинических исследованиях. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):218-230. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-218-230>

***Контактное лицо:** Соловьева Анна Петровна; Soloviova@expmed.ru

Criteria for Assessment of Cognitive Impairment in Clinical Trials

A. P. Solovyova*, D. V. Goryachev, V. V. Arkhipov

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

Abstract. Neuropsychological research methods are used to evaluate cognitive functions (CF). Tests used in clinical neuropsychology, in most cases, describe one or more aspects of cognitive domains that are theoretical «constructs» in which several cognitive processes are involved. Neuropsychological tests measure CFs regardless of the medical condition of the test subject. This allows for determination of even minor changes in CFs, including in clinical trials, which is of fundamental importance in studying the efficacy and safety of a given therapy. This article deals with specific aspects of using neuropsychological and screening testing of cognitive functions in individual domains on the basis of foreign experience. It discusses the criteria for selection and application of individual tools, their features, and choice of criteria for evaluating the results of testing in clinical studies in cases of CFs deterioration in various medical conditions accompanied by cognitive impairment. When planning clinical trials, it should also be taken into account that mixed anxiety-depressive disorders are likely to cause forgetfulness, and this calls for differential diagnosis and should be registered in clinical research protocols. The use of subscales and combinations of components of different tools are encouraged based on the objectives of the clinical study, and the tools of neuropsychological research and cognitive function assessment should be validated taking into account the specificity and sensitivity of the method, using statistical analysis methods for specific purposes and tasks. Such a multifaceted approach to the study of cognitive impairments will significantly increase the level of clinical trials conducted and, consequently, will make it possible to put up for sale efficacious and safe medicines for the treatment of cognitive impairment.

Key words: cognitive functions; moderate cognitive impairment; neuropsychological tests; cognitive domains; MMSE; MoCA; Wechsler Memory Scale; Mini-Cog; dementia in Alzheimer's disease; vascular dementia

For citation: Solovyova AP, Goryachev DV, Arkhipov VV. Criteria for assessment of cognitive impairment in clinical trials. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(4):218-230. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-218-230>

***Corresponding author:** Anna P. Solovyova; Soloviova@expmed.ru

СПИСОК ТЕСТОВ И ШКАЛ, РАССМАТРИВАЕМЫХ В ТЕКСТЕ, И ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

3MS (Modified Mini-Mental State) — модифицированный мини-тест на психическое состояние.
6CIT (6-item Cognitive Impairment Test) — шестипозиционный тест на когнитивные нарушения.
7MS (Seven Minute Screen) — тест для диагностики ранних проявлений деменции.
ACE, ACE-R (Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised) — шкала исследования когнитивной функции Адденбрука и пересмотренная шкала Адденбрука.
ADAS-cog (Disease Assessment Scale — Cognitive Subscale) — шкала оценки болезни Альцгеймера — когнитивная подшкала.
ADDC (California Alzheimer's Diagnostic and Treatment Centers) — шкала оценки калифорнийских центров диагностики и лечения болезни Альцгеймера.
AMT (Hodkinson's Abbreviated Mental Test) — тест умственных способностей Ходкинсона.
ANAM GNS (Automated Neuropsychological Assessment Metrics General Neuropsychological Screening battery) — батарея автоматизированной скрининговой оценки общего нейропсихологического состояния.
BDAE (Boston Diagnostic Aphasia Examination) — бостонская батарея диагностики афазии.
BVRT (Benton Visual Retention Test) — тест зрительной ретенции Бентона.
CAMCI (Computer Assessment of Mild Cognitive Impairment) — Компьютеризованное Изучение Легких Когнитивных Нарушений.
CAMCOG-R (Cambridge Cognitive Examination) — кембриджское когнитивное обследование.
CDI (Child Depression Inventory) — набор тестов определения депрессии у ребенка.
CDR-SB (Clinical Dementia Rating Scale—Sum of Boxes) — шкала оценки клинической деменции по сумме ячеек.
CDT (Clock Drawing Test) — тест рисования часов.
CERAD-NP (Consortium to Establish a Register for Alzheimer's Disease-Neuropsychological Battery) — батарея тестов консорциума по установлению нейропсихологических критериев болезни Альцгеймера.
CIDS (Short Concord Informant Dementia Scale), — короткая шкала информанта для определения деменции Конкорда.
CNSVS (Central Nervous System CNS Vital Signs) — шкалы определения жизненно важных симптомов центральной нервной системы.
CVLT-II (California Verbal Learning Test) — калифорнийский тест на слухоречевую память.
FAB (Frontal Assessment Batter) — батарея тестов на лобную дисфункцию.
FCSRT (Free and Cued Selective Reminding Test) — свободный или упорядоченный тест избирательного напоминания.
GPCOG (General Practitioner Assessment of Cognition) — определение когнитивных функций для врача общей практики.
Hachinski Score — шкала Хачинского.
IADLs (Activities of Daily Living/Instrumental Activities of Daily Living) — определение дневной активности / инструментальное определение дневной активности.
ImPACT® (Impact Pediatric Administration and Interpretation Manual) — компьютеризированная батарея нейропсихологических тестов.
IQCODE (Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly) — опросник информанта о когнитивном снижении у пожилых.
Ishihara Color Test — тест на цветовую слепоту Ишихары.
JLO (Benton's Orientation Test) — тест ориентации Бентона.
LLT-R (Location Learning Test) — тест на местонахождение.
Mini-Cog — скрининговый опросник для определения

когнитивных нарушений.
MIS (Memory Impairment Screen) — скрининговое изучение нарушений памяти.
MMSE (Mini-Mental State Examination) — малая шкала определения ментального статуса.
MoCA (Montreal Cognitive Assessment) — монреальский опросник оценки когнитивных функций.
NINDS-AIREN (National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences) — шкала Национального института неврологических нарушений и инсультов.
NTB (Neuropsychological Test Battery) — нейропсихологическая батарея тестов для использования при болезни Альцгеймера.
PASAT (Paced Serial Addition Test) — тест серийных прибавлений с промежутками (тест динамическое последовательное выполнение).
RAVLT (Rey Auditory Verbal Learning Test) — тест Рея с оценкой запоминания при восприятии на слух.
RCFT (Rey-Osterrieth Complex Figure Test) — тест Рея — Остеррица со сложными фигурами.
SCARED (Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders) — скрининговая панель нарушений, связанных с трежностью у детей.
SDMT (Symbol Digit Modalities Test) — тест символьных цифр.
SIDAM (Structured Interview for the Diagnosis of Dementia of Alzheimer's Type, Multi-infarct dementia and dementias of other etiology) — структурированное интервью для диагноза деменции при болезни Альцгеймера, мультиинфарктной деменции и деменции иного происхождения.
SLUMS (St. Louis University Mental Status Exam) — исследование ментального статуса Университета Св.Луиса.
SPMSQ (Short Portable Mental Status Questionnaire) — короткий портативный опросник ментального статуса.
Stroop Test (Stroop effect) — тест Струпа или эффект Струпа (тест цвета и слов).
TICS (Telephone Interview for Cognitive Status) — телефонное интервью для оценки когнитивного статуса.
TMT (Trail Making Test) — тест построения маршрута.
TOL (Tower of London Test) — тест Лондонской башни.
VAT (Visual Association Test) — тест визуальных ассоциаций.
VFT (Verbal Fluency tests) — тест вербальной способности.
VF-T (Verbal Fluency Tests) — тест владения языком.
VMI (Beery-Buktenica Developmental Test of Visual-Motor Integration, (BEERY™ VMI) — тест визуально-моторной интеграции Бира — Буктеница.
VOSP (Visual Object and Space Perception Battery) — батарея восприятия визуальных объектов и пространства.
WAIS-IV (Wechsler Adult Intelligence Scale) — шкала Векслера для определения интеллекта у взрослых четвертого пересмотра и подшкалы: надежного набора символов (RDS), исправленная RDS (RDS-R), шкальная оценка с поправкой на возраст (ACSS).
WCST (Wisconsin Card Sorting Test) — висконсинский тест сортировки карт.
WMS-IV (Wechsler Memory Scale) — шкала памяти Векслера.

Выбор критериев оценки в клинических исследованиях является актуальной проблемой, так как качество проведенного исследования и его доказательная составляющая имеют ключевое значение для эффективности и безопасности применения лекарственного средства [1]. Использование валидированных шкал, применяемых в клинических исследованиях, имеет крайне важное значение в исследованиях терапевтической эквивалентности воспроизведенных препаратов и биоаналогичных лекарственных средств с референтными препаратами [2].

Одним из наиболее частых неврологических симптомов является нарушение когнитивных функций. Под когнитивными функциями принято понимать наиболее сложные функции головного мозга, с помощью которых осуществляется процесс рационального познания мира. К когнитивным функциям относятся память, гнозис, речь, праксис и интеллект [3]. Поскольку когнитивные функции связаны с интегрированной деятельностью головного мозга в целом, когнитивная недостаточность закономерно развивается при самых разнообразных очаговых и диффузных поражениях головного мозга. Особенно часто когнитивные расстройства возникают у пожилым возрасту. По статистике от 3 до 20 % лиц старше 65 лет имеют тяжелые когнитивные нарушения в виде деменции [4]. Встречаемость более легких когнитивных расстройств у пожилых еще более велика и достигает, по некоторым данным, от 40 до 80 % в зависимости от возраста [5]. Современная тенденция к увеличению продолжительности жизни и, соответственно, увеличению числа пожилых лиц в популяции делает проблему терапии когнитивных нарушений крайне актуальной для неврологов и врачей других специальностей.

Для оценки когнитивных функций используются нейропсихологические методы исследования. Они представляют собой различные тесты и пробы на запоминание и воспроизведение слов и рисунков, узнавание образов, решение интеллектуальных задач, исследование движений и пр. [3]. Полное нейропсихологическое исследование позволяет выявить клинические особенности когнитивных нарушений с целью разработки критериев включения пациентов в клинические исследования и определения динамики их состояния в процессе проведения клинического исследования. В то же время расстройства тревожно-депрессивного спектра могут являться причиной субъективной забывчивости, что требует проведения дифференциальной диагностики с истинным когнитивным нарушением. Грамотное использование нейропсихологического исследования когнитивных функций позволяет применять результаты оценки когнитивных функций в качестве критериев эффективности терапевтического вмешательства.

Цель работы — обзор основных методов оценки когнитивной функции, который позволит при планировании клинических исследований выбирать наиболее чувствительные шкалы для оценки эффективности терапевтического вмешательства.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ

Тесты, используемые в клинической нейропсихологии, в большинстве случаев описывают один или более аспектов когнитивных доменов, представляющих собой теоретические конструкты, в которые вовлечены сразу несколько когнитивных процессов. К примеру, тест памяти, в котором присутствуют серии слов для запоминания, направлен на определение вербальной функции памяти как компонента когнитивного домена памяти. При этом в тесте типично задействованы такие процессы, как

внимание, кодирование информации, консолидация, хранение и извлечение информации. Тест базируется на слуховом восприятии и обработке речевых сигналов. Часто используется следующая широкая классификация когнитивных доменов: обучение и память, исполнительная функция, внимание и скорость обработки информации, праксис, моторные функции, язык и восприятие. В дополнение к вышеописанному, интеллект часто считается отдельным доменом, который отражает общие когнитивные способности индивида, основанные на вышеприведенных индивидуальных доменах [6].

При оценке когнитивных дефицитов определяют, насколько у пациента или группы пациентов имеются когнитивные нарушения (КН) в сравнении с референтной группой и характер этих нарушений: существуют ли избирательные дефициты одной или более когнитивных функций или домена. Путем определения сочетания когнитивных дефицитов исследователь может соотнести эту информацию с церебральной дисфункцией в общем (диффузные изменения) или специфическими поражениями в работе определенных отделов головного мозга (фокальные изменения). Хотя нейропсихологическое исследование само по себе не способно определить, присутствуют ли у пациента органические поражения, а также точно определить сторону и локализацию повреждения, оно предоставляет информацию о когнитивных функциях, которая интерпретируется в сочетании с другими диагностическими мероприятиями, например, данными нейровизуализации или клиническими данными.

Нейропсихологическое исследование может проводиться с использованием двух подходов. В первом инструменты когнитивного скрининга используются для установления различий между здоровыми людьми и пациентами со специфическими нарушениями, такими как деменция при болезни Альцгеймера, дисфункция передней лобной доли или афазия. Во втором несколько тестов, каждый из которых оценивает специфическую когнитивную функцию, назначаются в комбинациях для определения взаимосвязи со специфическим заболеванием головного мозга, нарушением развития или психиатрическим синдромом.

ИНСТРУМЕНТЫ СКРИНИНГОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ

Скрининговые инструменты исследования когнитивных функций (КФ) представляют собой краткие процедуры оценки когнитивного статуса пациента в отношении предполагаемого заболевания или нарушения. Инструменты скрининга преследуют две цели: диагностика и отбор. С точки зрения диагностической ценности скрининговых тестов каждый из них должен обладать чувствительностью и специфичностью при оценке наличия у пациента предполагаемого нарушения. Например, при скрининге в отношении деменции тест должен обладать достаточной чувствительностью по отношению к наличию деменции даже при условии, что пациент находится в ранних стадиях патологического про-

цесса, при этом тест должен быть достаточно специфичным, чтобы не генерировать неприемлемо высокое число ложноположительных диагностических результатов.

С точки зрения селективности скрининговый тест используется в рамках приоритетности решений: для отбора пациентов с подозрением на наличие предполагаемого заболевания или нарушения, для дальнейшего более глубокого нейропсихологического обследования. Для этих целей несколько более низкая специфичность теста (т.е. повышенное число ложноположительных результатов) может не представлять серьезной опасности исходя из того, что последующее исследование КФ позволит определить, насколько у конкретного субъекта действительно наличествует предполагаемое нарушение.

Чувствительность (истинно положительная пропорция) отражает количество положительных результатов (в долях от единицы), которые правильно идентифицированы как таковые (иными словами, чувствительность диагностического теста показывает вероятность того, что больной субъект будет классифицирован именно как больной). А специфичность (истинно отрицательная пропорция) отражает долю отрицательных результатов, которые правильно идентифицированы как таковые (т.е. вероятность того, что не больные субъекты будут классифицированы именно как не больные). Клинические границы показателей используемого инструмента тестирования при скрининге должны иметь чувствительность, как минимум, равную 0,8, а специфичность не менее 0,6, что означает, что вероятность ложноположительных результатов будет не более 0,4. Если уровни чувствительности и специфичности ниже, пригодность используемого теста для отличия между пациентами с нарушенной КФ и субъектами с нормальной КФ должна ставиться под сомнение.

Наиболее известным инструментом для скрининга когнитивных нарушений у взрослых является шкала MMSE, разработанная для диагностики пациентов с деменцией при болезни Альцгеймера и включающая в себя шкалы для оценки ориентации в пространстве, памяти, вербальных способностей, способности к счету, праксиса и визиоконструктивных способностей. Другие инструменты, такие как батарея тестов FAB и монреальский опросник MoCA, направлены на регистрацию умеренных когнитивных нарушений (УКН).

Скрининговые инструменты обладают рядом важных ограничений. Прежде всего обычно они специфичны для определенного заболевания, т.е. разработаны для скрининга наличия специфических отклонений и нарушений. В результате данные тесты оценивают только когнитивные процессы, которые относятся к данному расстройству, и не применимы для широкой оценки КФ, так как в них могут отсутствовать элементы исследования специфических когнитивных доменов. Кроме того, большинство скрининговых тестов устанавливают границы получаемых результатов, которые не учитывают (или учитывают лишь частично) эффекты возраста и об-

разовательного уровня, в то время как эти параметры являются важными предикторами КФ.

В недавнем исследовании по оценке когнитивных скрининговых инструментов, по данным N. Carson и соавт. [7], проведена ревизия критериев применения монреальского опросника MoCA. Этот опросник является когнитивным инструментом, который нацелен на дифференциацию между естественным когнитивным снижением в популяции стареющего населения и проявлениями умеренных когнитивных нарушений. Несколько валидационных исследований проводилось с тестом MoCA в разных клинических группах пациентов. Также было показано, что изначально предложенные отсекающие точки в 26/30 приводят к появлению большого числа ложноположительных результатов, особенно в выборке лиц пожилого возраста или у лиц с низким уровнем образования [7].

Теми же авторами было проведено систематизированное исследование литературных данных с целью определения диагностической точности применения теста MoCA для дифференциации между когнитивным угасанием и развитием УКН. В соответствии с критериями метаанализа из 304 исследований было отобрано девять. В этих исследованиях был проведен анализ разброса пограничных значений результата теста для определения чувствительности, специфичности, положительной и отрицательной предсказательной способности теста, ожидаемых отношений для положительных и отрицательных результатов, чувствительности классифицируемых показателей и индексов Юдена. В результате проведенного исследования было установлено, что пограничное значение теста MoCA, составляющее 23, а не предложенное ранее значение 26, снижает частоту ложноположительных результатов и имеет более надежную диагностическую ценность и точность [7]. Именно этими значениями следует руководствоваться при отборе пациентов в клинические исследования и оценке их когнитивных способностей на фоне терапевтического вмешательства при использовании тестов MoCA.

НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ И ДОМЕНЫ

Нейропсихологические тесты измеряют когнитивные функции независимо от медицинского диагноза субъекта тестирования. В таблице 1 указаны когнитивные домены и приводятся примеры тестов, которые могут быть использованы для изучения этих доменов. Различные тесты используются для детей, подростков, взрослых разных возрастов, пожилых пациентов, и список постоянно пополняется за счет разработки новых и модификации уже существующих тестов. Каждый специфический тест имеет свои слабые и сильные стороны, но схожие когнитивные процессы измеряются тестами с идентичными принципами.

Тесты представляются пациентам либо в формате «бумага—карандаш», либо в виде компьютеризированной задачи. Формат «бумага—карандаш» наиболее часто используется в практике клиниче-

Таблица 1. Примеры нейропсихологических тестов, направленных на исследование когнитивных доменов в клинических исследованиях [8]

Table 1. Examples of neuropsychological tests used to assess cognitive domains in clinical studies [8]

Когнитивный домен	Краткое описание домена	Нейропсихологические инструменты (тесты)
Память и обучение	Способность воспринимать новую информацию, хранить информацию длительный срок и извлекать предварительно сохраненную информацию	Тест Рея (RAVLT), калифорнийский тест (CVLT-II), шкала памяти Векслера (WMS-IV), тест на местонахождение (LLT-R)
Исполнительные функции	Обновление (кратковременная память), планирование, контроль, изменение и подавление поведенческих реакций	Тест лондонской башни (TOL), тест построения маршрута (TMT), висконсинский тест сортировки карт (WCST), тест Струпа (ST)
Внимание и скорость обработки информации	Выбор уместной информации, многозадачность, поддержание состояния бдительности и «ментальной скорости», с которой происходит обработка информации	Тест символьных цифр (SDMT), тест серийных прибавлений (PASAT)
Практисис и моторная функция	Когнитивные процессы, которые составляют основу базовых моторных функций и сложных действий	Тест Рея — Остеррица (RCFT), тест визуально-моторной интеграции Бира — Буктеница (VMI)
Вербальная функция	Навыки коммуникации, восприятия информации и вербального самовыражения	Бостонская батарея диагностики афазии (BDAE), тест вербальной способности (VFT)
Восприятие	Обработка визуальной, звуковой и тактильной информации низкого и высокого порядка	Тест на цветовую слепоту Ишихары, батарея восприятия визуальных объектов (VOSP), тест зрительной ретенции Бентона (BVRT)
Общая когнитивная способность	Скринирование в отношении общего когнитивного снижения, независимо от отдельных когнитивных доменов; интеллект	Малая шкала определения ментального статуса (MMSE), кембриджское когнитивное обследование (CAMCOG-R), монреальский опросник (MoCA), шкала Векслера для определения интеллекта у взрослых (WAIS-IV)

ских исследований. Психометрические свойства большинства тестов этого формата детально изучены и валидированы, когда применение этих тестов происходит в стандартизированных условиях (т.е. руководствуясь специфическими инструкциями, приведенными в аннотации к назначению конкретного психометрического теста). Преимущества тестов «бумага—карандаш» в том, что они могут проводиться без специальных условий, а недостатками является то, что исследователь должен постоянно присутствовать в момент теста и оценка времени выполнения задач с помощью секундомера может быть недостоверной.

Компьютеризированные тесты высоко стандартизированы, но их недостатки в том, что субъекты, не обладающие достаточными навыками работы с вычислительной техникой, могут показывать худшие, чем на самом деле, результаты. Более современные разработки, такие как сенсорные экраны и планшетные компьютеры, могут помочь в преодолении данной проблемы. В целом компьютеризированные тесты в значительно меньшей степени описаны и валидированы, чем тесты формата «бумага—карандаш», и адекватные нормативные показатели для таких тестов зачастую отсутствуют.

При выборе нейропсихологических тестов необходимо учитывать возраст пациента. Некоторые тесты были специально разработаны для исследования нарушения развития у детей и подростков, тогда как другие тесты нацелены на работу с субъектами среднего возраста и пожилыми людьми. Более того,

на выбор характеристик и формы нейропсихологического тестирования оказывает влияние тот когнитивный домен, который требуется оценить. Для изучения домена памяти тесты требуют от пациента запоминания чисел, слов, изображений или коротких сегментов информации, которые необходимо вспомнить после длительного или короткого периода времени либо выбрать из массы других примеров.

Высшие когнитивные процессы, такие как планирование, самооценка, переключение между задачами и ингибирование ответа, группируются под определением исполнительных функций. Исполнительные функции изучаются путем применения задач, которые являются новыми для субъекта или требуют контролируемой (в отличие от автоматической) обработки (например, планирование маршрута на карте, следуя определенным правилам). Внимание и скорость обработки информации обычно изучаются с помощью тестов скорости реакции или иных заданий, ограниченных по времени исполнения, что требует от субъекта исследования генерировать ответы как можно быстрее. Если такие задачи должны выполняться в течение длительного периода времени, они затрагивают концентрацию (длительное внимание).

В вербальном домене изучают понимание, формирование речи, называние картинок вслух и повторения, а также чтение и письмо. Практисис и моторные функции изучаются с использованием задач, которые требуют от субъекта выполнения действий по вербальным командам (например, «по-

кажите мне, как вы чистите зубы») или по тестам рисования, таким как свободное рисование или копирование оригинала. Восприятие в большинстве случаев измеряется с помощью визуальных задач, в которых изображения часто встречающихся или незнакомых объектов демонстрируются субъектам, при этом изображения могут наслаиваться друг на друга или быть представленными под необычными углами зрения для диагностики агнозии.

Использование компьютеризированной оценки нейрокогнитивных функций широко входит в практику клинических исследований. По данным A.S. Vincent и соавт. [9], было проведено исследование надежности в условиях повторного проведения тестирования КФ и практической применимости батареи тестов ANAM GNS у 94 здоровых добровольцев. Результаты оценивались, а затем тестирование повторялось через 30 дней. Надежность повторного тестирования, эффект привыкания к тесту и стандартные ошибки проведения теста проверялись в контрольных точках. Прецизионность в условиях повторного применения теста ANAM составила 0,91 для композитного результата теста. Пороговый критерий, определяющий изменения, выходящие за рамки случайных значений или погрешности измерения с 90 % значимостью, составил 0,9 (значение Z-score). Таким образом, указано, что батарея ANAM GNS обладает превосходными параметрами по фактору надежности повторного применения в течение 30 дней. Небольшие эффекты привыкания могут присутствовать. Изменения более 0,9 стандартных отклонений в композитном значении балла ANAM будут отражать клинически значимое изменение в условиях проведения клинических исследований и/или терапевтических мероприятий [9].

Шкала Векслера для взрослых WAIS-IV и подшкалы RDS, RDS-R и ACSS были валидированы и используются с внутренним контролем валидности тестирования (PVTs), хотя исследования проводились в основном на молодых субъектах (средний возраст 19–35 лет) с легкой травмой головного мозга или на здоровых добровольцах. В данных тестах изучается способность пациента к корректному воспроизведению максимально длинной цепочки цифр (или букв) в прямом и обратном порядке, и результаты теста представляют собой число верно воспроизведенных цифр (или букв). В исследовании T.A. Webber и соавт. [10] сравнивалась точность критериев оценки когнитивных функций по шкалам RDS, RDS-R и ACSS в смешанной популяции сравнительно пожилых субъектов (медиана возраста 54–61 год) с нейрокогнитивными изменениями и без таковых. В ходе исследования 113 пациентов выполнили подтест WAIS-IV RDS и следующие тесты PVT: тест счета точек, тест выбора слов и тест на симуляцию нарушений памяти. Субъекты со значением критерия PVT менее 1 были признаны как пригодные для оценки по нейропсихологическим тестам ($n = 87$), тогда как результаты субъектов, которые набрали по тестам валидности 2 и более баллов, были признаны непригодными ($n = 26$). Из

пригодных пациентов 49 % имели когнитивные нарушения.

Тесты RDS, RDS-R и ACSS статистически значимо предсказывали принадлежность к группе нарушения когнитивных функций с соответствующими значениями площади под кривой, равными 0,79; 0,81 и 0,85 соответственно, и оптимальными пороговыми значениями для шкалы RDS ≤ 5 , для шкалы RDS-R ≤ 9 и для шкалы ACSS ≤ 5 . Более низкая точность и площади под кривой наблюдались для подгруппы с подтвержденными когнитивными нарушениями по всем индексам, но в большей степени для традиционного тестирования с помощью теста RDS. Тест ACSS показал максимальное значение соотношения чувствительность/специфичность для всей выборки при пороговом значении шкалы ACSS ≤ 5 ; (0,62/0,87 соответственно); при пороговом значении шкалы ACSS ≤ 5 у когнитивно здоровой подгруппы (0,62/0,95 соответственно); и пороговом значении шкалы ACSS ≤ 4 у подгруппы с когнитивными нарушениями (0,39/0,86 соответственно). Пороговое значение теста ACSS ≤ 5 является наиболее надежным для выявления когнитивного нарушения при сопутствующем контроле за верностью выполнения нейрокогнитивного исследования [10].

НОРМАТИВНЫЕ ДАННЫЕ ТЕСТИРОВАНИЯ И КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ

Оценка когнитивных нарушений у конкретного субъекта исследования с помощью нейропсихологического тестирования проводится по результатам тестирования, например, по количеству верно воспроизведенных слов, среднему времени реакции в миллисекундах или количеству ошибок, сделанных во время выполнения задачи. Эти измерения определены как «необработанные результаты». Для принятия решений в клинических исследованиях необработанные результаты не представляют ценности при отсутствии референтных значений. В отличие от скрининговых инструментов, нейропсихологическое тестирование проводится таким образом, что не возникает «эффекта пола» и «эффекта потолка», что выражается в ситуации, когда даже субъекты с интактной когнитивной функцией не достигают максимальных значений в баллах того или иного теста. В скрининговых тестах, напротив, здоровые субъекты обычно получают «потолочные» или близкие к ним значения в сумме баллов.

В результате разработка фиксированных отсекающих точек для необработанных результатов в нейропсихологических тестах не представляется возможной. Для определения, насколько тот или иной результат в виде необработанных данных указывает на нарушение КФ, исследователю необходимо провести статистическое сравнение с нормативной выборкой. Эта выборка состоит из обширной группы (измеряемой сотнями человек) здоровых индивидумов. Нормативная выборка должна быть репрезентативной для общей популяции и включать в себя участников широкого возрастного диапазона (зачастую с различными нормами, особенно при

изучении пациентов младше 18 лет), обоего пола, с различными уровнями образования и интеллекта и достаточно широким географическим и этническим разнообразием.

Нормативные параметры для нейропсихологического тестирования специфичны к стране и языку, то есть даже дословный перевод одного и того же нейропсихологического теста может приводить к разной степени отличий по результатам. Нормативные данные обычно предоставляются совместно с официальной версией нейропсихологического теста, но дополнительные нормативные данные можно получить в публичном доступе, а также в руководствах по проведению нейропсихологического тестирования [11].

Для сравнения данных, полученных у конкретного субъекта исследования, с нормативными, необработанные данные должны быть конвертированы в стандартизированный формат. Способ, с помощью которого происходит такое конвертирование, определяется тем, как с данным конкретным тестом или частью теста справлялись представители нормативной группы. Исходя из этого, для большинства нейропсихологических тестов возраст и количество лет образования (и, в меньшей степени, этническая принадлежность и пол) являются важными предикторами оценки КФ у конкретного субъекта исследования. К примеру, средний необработанный счет мужчины в 85 лет с образованием в 7 лет на тесте запоминания списка слов может составить 25 баллов, тогда как средний счет 21-летней студентки университета на этом же тесте может составить 40 баллов.

Стандартные значения в нейропсихологическом тестировании представляют собой скорректированные по возрасту и уровню образования результаты выполнения задач, которые прямо пропорциональны среднему и стандартному отклонению нормативных данных здоровых добровольцев (т.е. нор-

мальное распределение). Примеры стандартных значений, наиболее широко используемых в качестве критериев оценки КФ в отношении к нормальному распределению, показаны на рисунке 1 и включают в себя значение Z (Z-score) (со средним, равным 0, и стандартным отклонением, равным 1), значение T (T-score) (среднее, равное 50, и стандартное отклонение, равное 10), значение коэффициента интеллекта (IQ) (среднее значение 100, стандартное отклонение 15), значение Векслера (среднее 10, стандартное отклонение 3) и значения перцентилей, отражающие процент здоровых субъектов, результаты тестирования которых хуже, чем у исследуемого субъекта. То есть значение перцентилей суммы баллов теста, равное 3, означает, что только 3 % представителей здоровой популяции будет иметь результаты теста хуже, чем у данного субъекта.

Стандартные значения используются в качестве критериев оценки нарушения когнитивной функции с применением статистического вероятностного подхода. Обычно пределами нормы считают 1,5; 1,65 или 2 стандартных отклонения ниже среднего нормативного значения. Такой результат свидетельствует о нарушении КФ, так как с учетом корректировки на возраст и уровень образования значения ниже этих границ с высокой степенью вероятности не характерны для нормальной популяции (т.е. только для 5,8; 5 или 2,3 % нормативной выборки соответственно). Стандартные значения ниже, чем одно стандартное отклонение от среднего значения, считаются значениями «ниже среднего» или «пограничными» [6].

После назначения нейропсихологического тестирования, оценки его результатов и конверсии необработанных данных в стандартизированные данные результаты должны интерпретироваться с клинической точки зрения. Для оценки состояния детей с нарушениями развития необходимо соот-

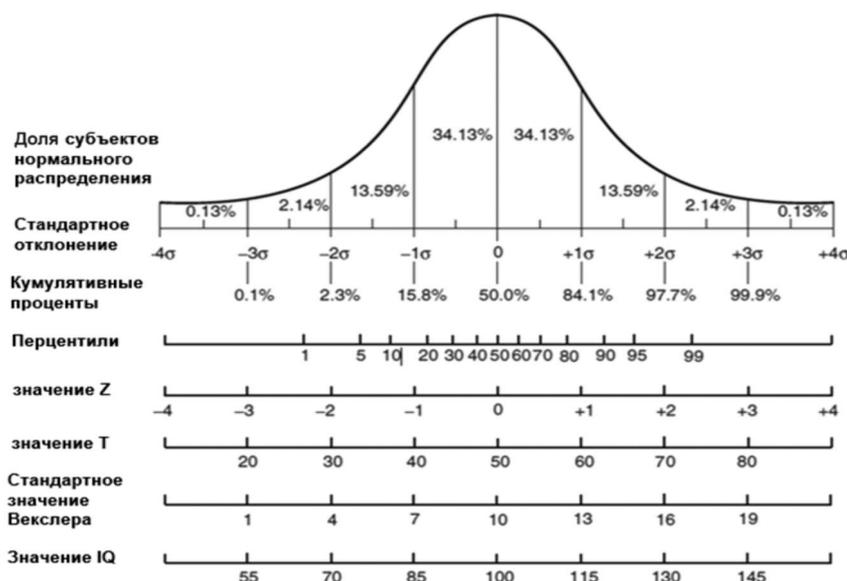


Рис. 1. Соотношение нормального распределения и стандартных значений нейро-психометрических тестов как критерий оценки когнитивных нарушений [6]

Fig. 1. Correlation between normal distribution and standard values of neuropsychometric tests as a criterion for assessment of cognitive impairment [6]

носить показатели нейропсихологического тестирования с ожидаемыми возрастными специфичными точками развития и учитывать общий уровень интеллектуального развития. К примеру, чтение и моторные навыки у шестилетнего ребенка значительно отличаются от таковых у ребенка 10 лет. При планировании и проведении клинических исследований интерпретация результатов нейропсихологического тестирования требует от исследователей понимания качества доступных нормативных данных [12].

ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДЕМЕНЦИЕЙ

Широта исследования КФ и выбор когнитивных тестов у пациентов с деменцией значительно варьирует. Шкала MMSE была разработана и часто применяется в качестве скринингового инструмента для определения деменции [13]. При этом краткость данной шкалы приводит лишь к поверхностному изучению памяти, языка и визуально-осозательной функции. Кроме того, скорость обработки информации и исполнительные функции данной шкалой не описываются. Данные систематических обзоров свидетельствуют о том, что шкала MMSE подходит для обнаружения деменции у субъектов с подозрением на КН [14]. Шкала Адденбрука ACE является более широким инструментом исследования КФ, который включает в себя шкалу MMSE.

Шкала ACE представляет собой батарею тестов, которая изучает все шесть когнитивных доменов. У субъектов с подозрением на КН шкала MMSE применяется для установки диагноза деменции. При этом первоначальное исследование КФ может быть углублено путем применения шкалы ACE. Опросник информанта о когнитивном снижении у пожилых IQCODE заполняется родственником или опекуном пациента и может являться важным дополнением к прямому тестированию КФ¹.

В метаанализе 149 исследований с участием пациентов с деменцией, проведенном К.К. Tsoi и соавт. [15], сравнивалась эффективность разных инструментов исследования КФ в определении критериев нарушения когнитивной функции. Анализировались исследования, в которых пациенты интервьюировались лицом к лицу с исследователем с помощью скрининговых тестов, и находки соотносились со стандартными критериями диагностики деменции. Использовались бивариантные модели случайных эффектов, а применимость тестовых инструментов для определения когнитивных нарушений измерялась по площади под кривой, выстроенной исследователем по точкам, характеризующим когнитивные домены. Главными конечными точками являлись чувствительность, специфичность, соотношение положительных и отрицательных вероятностей.

В проведенных исследованиях было применено одиннадцать скрининговых тестов (MMSE, CDT, Mini-Cog, MIS, VF-test, AMT, GPCOG, MoCA, ACE-R, IQCODE, 3MS) и включено более 49 000 пациентов. В наибольшем количестве клинических исследований использовался тест MMSE (n = 102), с

помощью которого были протестированы 10263 пациента с деменцией. Суммарная чувствительность и специфичность использованных тестов у пациентов с деменцией в этих исследованиях составила 0,82 (95 % доверительный интервал от 0,78 до 0,84) и 0,89 (95 % доверительный интервал от 0,87 до 0,91) соответственно. Из остальных десяти тестов, используемых в клинических исследованиях, наиболее всесторонне оценивающими КН были тест Mini-Cog (0,91 чувствительность и 0,86 специфичность) и пересмотренная шкала Адденбрука ACE-R (0,92 чувствительность и 0,89 специфичность), которые сравнимы с диагностической мощностью MMSE. Анализ в подгруппах показал, что только монреальский опросник MoCA был сравним с опросником MMSE по способности регистрировать умеренные когнитивные нарушения с 0,98 чувствительностью и 0,75 специфичностью.

Таким образом, по мнению исследователей, при выборе инструментов нейропсихологического тестирования следует помнить, что существует множество тестов со сравнимой диагностической мощностью для оценки степени нарушения КФ при деменции. Наилучшими для оценки деменции являются тесты Mini-Cog и ACE-R, а для умеренного когнитивного нарушения — монреальский опросник MoCA [15].

При оценке эффективности скрининговых инструментов для определения когнитивных изменений у пожилых J.S. Lin и соавт. [16] были проанализированы результаты клинических исследований, в которых тестирование КФ проводилось для оценки эффективности терапии, скорости снижения КФ или выбора критериев включения в исследование. Большинство исследований использовало шкалы опросника MMSE для количественной оценки нарушения когнитивных функций в целом или только в определенных когнитивных доменах. Было выбрано 14 исследований с привлечением в общей сложности 10 185 человек, в которых шкала MMSE использовалась на этапе скрининга (вопросы 1–3). Тестирование имело чувствительность 88,3 % (95 % доверительный интервал от 81,3 до 92,9), специфичность 86,2 % (95 % доверительный интервал от 81,8 до 89,7) с пороговым значением 23 из 24 баллов или 24 из 25 баллов (в зависимости от используемого варианта шкалы) в распознавании деменции.

Другие инструменты с более лимитированной способностью к выявлению деменции включали в себя CDT, Mini-Cog, MIS, опросник SPMSQ, тест FCRST, 3MS, интервью TICS, опросник IQCODE. В целом все тесты обладали достаточной информативностью, и их результаты могут быть использованы в качестве критериев оценки нарушений КФ, но широта специфичности и чувствительности тестов между исследованиями обусловлена клинической гетерогенностью.

Контролируемые клинические исследования с применением шкалы MIS и теста AMT демонстрируют низкую чувствительность. Шкалы AMT, SPMSQ, FCRST, 7MS и TICS имеют низкую до-

¹ Management of patients with dementia. A national clinical guideline (Scottish Intercollegiate Guidelines Network, No. 86). 2006.

казательную мощность при использовании их на английском языке. Большой доказательной базой обладает использование инструментов, которые применяются для обнаружения умеренных когнитивных нарушений: MMSE, IQCODE, CDT, Mini-Cog, TICS и MoCA. Было указано, что другие инструменты, такие как BCIT, VAT, GPCOG, IADLs, JLO, CIDS, SLUMS, CAMCI, обладают многообещающим потенциалом, при этом их эффективность в качестве критериев оценки КФ не была оценена в различных популяциях.

На основании проведенных и опубликованных исследований применения донепезила, галантамина, ривастигмина, мемантина у пациентов с деменцией легкой и средней тяжести продемонстрировано, что эти препараты способны улучшать общую КФ у субъектов с болезнью Альцгеймера в краткосрочной перспективе. Тем не менее выраженность этих изменений невысока и равна приблизительно от 1 до 3 баллов по шкале ADAS-cog. Средний эффект таких изменений не является клинически значимым, что определено нормами для интерпретации значимости изменений (изменение по шкале ADAS-Cog в течение 6 месяцев). Ингибиторы ацетилхолинэстеразы (иАХЭ) вызывают устойчивое улучшение показателей глобальной функции у пациентов с болезнью Альцгеймера в краткосрочной перспективе. Согласно результатам повторного тестирования, исследования, изучающие другие препараты или пищевые добавки, включая низкие дозы ацетилсалициловой кислоты, ингибиторы HMG-CoA-редуктазы (симвастатин и аторвастатин), нестероидные противовоспалительные препараты (ибупрофен, напроксен, индометацин и целекоксиб), половые гормоны (эстроген совместно с прогестероном или без него и тестостерон), мультивитамины, витамины группы В, витамин Е (с витамином С или без него), омега-3-жирные кислоты, не продемонстрировали положительного влияния на глобальную когнитивную функцию у пациентов с легкой или средней тяжестью деменции или УКН.

Ограничения когнитивного тестирования могут быть связаны с низкой воспроизводимостью результатов тестирования, различиями в оценке результатов тестирования, что может быть следствием различия между исследуемыми популяциями, неверного выбора точки пограничного значения нормы, а также отсутствия четкости и стандартизации в определении параметров диагностики умеренных когнитивных нарушений. Таким образом, клиническую значимость скрининговых тестов и их применимость для определения КН у пациентов с деменцией сложно назвать высокой. Несмотря на наличие широкого набора скрининговых тестов для оценки КФ, на практике используется лишь ограниченное количество тестов, опробованных и показавших свою эффективность в клинических исследованиях.

Диагностические критерии деменции должны включать в себя надежные показатели нарушения КФ, измеренные с помощью когнитивных тестов. Интервью SIDAM в соответствии с этиологией со-

гласно диагностическим критериям DSM-III-R, DSM-IV и ICD-10 — это нейрофизиологический инструмент определения когнитивного статуса пациентов с УКН и деменцией. Нормативные данные по изменениям КФ, которые регистрируются у когнитивно интактных здоровых субъектов, требуются для интерпретации изменений в тестовых значениях интервью SIDAM. Так, для установления этих норм, по данным J. Stein и соавт. [17], было проведено исследование с привлечением 1090 субъектов с ненарушенной КФ, участвующих в исследовании старения, когнитивной функции и деменции в условиях первичного обращения (AgeCoDe), возрастом 75 лет и старше. КФ оценивалась 4 раза с интервалом 1,5 года в течение 4,5 лет с помощью теста SIDAM.

Были рассчитаны индексы изменения с учетом возраста и уровня образования, которые имели поправки на ошибку измерения и адаптацию субъекта исследования к назначению тестирования, а также их 90 % доверительные интервалы. Было показано, что во всех возрастных группах и подгруппах по уровню образования изменения по шкалам SIDAM в 3–5 пунктов представляют собой значительные и надежные показатели динамики КФ в пределах 90 % доверительных интервалов. Это позволяет стандартизировать оценку изменений КФ у пациентов с деменцией с использованием шкал SIDAM в клинических исследованиях в динамике терапевтического вмешательства [17].

Диагностика степени деменции и ее динамики при проведении клинических исследований включает в себя измерение параметров нарушения КФ с течением времени с помощью объективных когнитивных тестов. Нормативные данные для таких изменений, на которые следует ориентироваться, адаптированные к воздействию социодемографических параметров, оказывающих влияние на результаты когнитивных тестов, были разработаны для широко используемого инструмента нейропсихологического тестирования — шкалы MMSE в исследовании AgeCoDe с участием пациентов возрастом 75 лет и более в течение 4,5 лет с интервалом 1,5 года. Указано, что возраст и уровень образования оказывали значимое влияние на результаты тестирования, при этом пол субъектов влияния не оказывал. Изменения в результатах теста MMSE в 2–3 балла являются значимыми и достоверными в пределах 90 % доверительных интервалов. Более того, были рассчитаны возрастные индексы и индексы образования в приложении к тесту MMSE [18].

Нормативные данные для использования шкалы CERAD-NP были установлены J. Stein и соавт. [19] в долговременном исследовании продолжительностью 3 года с повторными измерениями каждые 1,5 года. Тестирование проводилось в рамках исследования пожилых пациентов AgeCoDe с привлечением 1450 пациентов возрастом 75 лет и более. Без учета показателей возраста, образования, пола было установлено, что изменения в показателях шкалы CERAD-NP от 6 до 9 пунктов при оценке вербальных способностей, от 4 до 8 пунктов при запомина-

нии списка слов от 2 до 4 пунктов в воспроизведении списка слов и от 1 до 4 пунктов в тесте узнавания списка слов являются значимыми и достоверными признаками динамики КФ в пределах 90 % доверительных интервалов. Меньшие изменения в результатах тестирования с помощью теста CERAD-NP следует интерпретировать с большой осторожностью, так как имеются вероятности ошибки измерения, эффекта привыкания к выполнению теста со стороны субъекта тестирования и наличия нормального возрастного снижения КФ [19].

ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНОЙ ФУНКЦИИ В КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

В соответствии с рекомендациями о принципах проведения клинических исследований препаратов у пациентов с болезнью Альцгеймера (БА), выпущенными Европейским агентством по лекарственным средствам (ЕМА), все инструменты для определения когнитивных функций должны быть валидированы лицами, не вовлеченными в планируемое клиническое исследование. При этом валидация должна подтвердить, что оценивающие инструменты реалистично отражают тяжесть симптоматики, достаточно точны для регистрации изменений, связанных с терапией, и надежны (между разными регистраторами и в отношении тестирования / повторного тестирования). Инструменты определения когнитивных нарушений должны быть приспособлены к субпопуляциям исходя из социальных, культурных факторов, а также образования субъектов исследования. Это делается для того, чтобы выработать подтвержденные нормативные параметры для интерпретации результатов измерения когнитивных нарушений.

Стандартизация инструментов должна проходить для использования их в разных культурных и языковых средах. При проведении клинических исследований следует обосновать частоту тестирования и количество эквивалентных версий для некоторых видов тестирования (например, высокоспецифичных тестов памяти), чтобы минимизировать «эффект обучаемости» при повторном применении теста у участника исследования. Исследователям рекомендовано использование нескольких инструментов для оценки эффективности препаратов, влияющих на когнитивную функцию, так как не существует «золотого стандарта» в оценке когнитивных доменов и когнитивной функции в целом. Выбор метода и способа оценки когнитивных изменений должен быть обоснован целями и задачами исследования.

Пациенты с нарушенной когнитивной функцией могут иметь проблемы с оценкой и описанием нарушений и, вследствие этого, не всегда могут полноценно оценивать эффект терапии. При работе с пациентами с умеренными и тяжелыми стадиями заболевания рекомендовано использование инструментов оценки когнитивных изменений третьими лицами, т.е. информантами. Оценка информанта должна быть неотъемлемой частью общей оценки

когнитивных изменений, при этом следует иметь в виду возможность наличия предвзятости в оценке третьим лицом в данных стадиях когнитивных нарушений. Каждый когнитивный домен должен быть оценен «ослепленным» исследователем.

При работе с пациентами в начальных стадиях БА рационально модифицировать уже существующие шкалы и опросники, такие как ADAS-cog, путем отбора или исключения их компонентов, или путем использования взвешенного фактора результатов, полученных по отдельным шкалам таких опросников, или и то, и другое. Независимо от выбранного подхода новые инструменты должны демонстрировать способность измерять подходящие для исследования клинические проявления.

Когнитивная подшкала ADAS-cog, которая оценивает память, язык, конструктивную ориентацию и праксис, широко используется и может считаться стандартным инструментом в клинических исследованиях с привлечением пациентов с легкой и средней тяжестью БА. Увеличения чувствительности у пациентов с более мягкими КН можно добиться путем включения добавочных компонентов к оригинальной версии ADAS-Classic [20]. Кроме того, хорошие психометрические результаты могут быть получены при использовании батареи тестов NTB у пациентов с легкой и умеренной степенью БА [21], которые были применены для оценки исходов лечения в недавнем превентивном исследовании FINGER [22].

Шкала CDR-SB включает в себя сумму баллов шести компонентов измерения КФ, основана на интервью с клиницистом и позволяет оценить общую тяжесть деменции. CDR-SB была валидирована для длительной оценки когнитивной функции при БА [23] и отражает изменения в когнитивных функциях и общем функционировании в основном у пациентов в продромальном периоде и на стадии очень легких нарушений. Использование шкалы CDR-SB требует значительной тренировки персонала, проводящего исследование, и подвержено значительной межэтнической и лингвистической изменчивости. Кроме того, в недавнем исследовании, проведенном компанией Eli Lilly, было показано, что шкала ADAS-Cog способна регистрировать различия между группами терапии более часто, чем шкала CDR-SB у пациентов с КД при БА [24].

При проведении клинических исследований с пациентами, у которых установлена деменция на фоне БА, критерием эффективности терапии у пациентов с легкой и средней тяжестью заболевания могут быть, например, влияние лечения на КФ и общую функцию для подтверждения клинической значимости терапевтического вмешательства (в таких случаях требуется использование подхода двойных первичных точек эффективности). У пациентов с тяжелым течением БА изменения в КФ менее информативны и более трудны в оценке, поэтому в исследованиях с участием пациентов с тяжелой БА оправданной является оценка функционального домена и глобального домена в качестве первичной точки эффективности.

В исследованиях эффективности терапевтического вмешательства у пациентов с БА в преклинической стадии необходимы критерии собираемой оценки когнитивных нарушений, которые были бы достаточно чувствительны к изменениям, вызванным терапевтическим воздействием в разных группах пациентов. По данным J.B. Langbaum и соавт. [25], с целью выработки критериев оценки КФ у пациентов с БА было проведено длительное клиническое исследование с привлечением пациентов в возрасте 70–85 лет в трех когортных исследованиях процессов старения и деменции в Центре болезни Альцгеймера Университета Раш. Были рассчитаны отношения среднего к стандартному отклонению (MSDR) для изменений во времени, чтобы установить оптимальную комбинацию когнитивных тестов/подшкал, выделенных из батарей нейропсихологической оценки пациентов с ненарушенной КФ, которые впоследствии прогрессировали в клинические стадии БА в течение двух- и пятилетних периодов времени.

Для коррекции по возрасту и эффекту привыкания к проведению тестовых процедур использовались данные, полученные от субъектов, когнитивно здоровых в течение того же периода времени. Комбинация тестовых инструментов, которые показали хорошие результаты в условиях эксперимента, были оценены на их репрезентативность в отношении соответствующих когнитивных доменов, достоверности оценки в пределах индивидуальной длительности времени до установления диагноза и частоты встречаемости отдельных компонентов в наиболее эффективно действующих комбинациях инструментов. Сделан вывод, что оптимальный композитный тест КФ должен состоять из 7 когнитивных шкал/подшкал с MSDR, равным 0,964. При сравнении наиболее чувствительным индивидуальным критерием были признаны результаты теста Логического Отсроченного Воспоминания, который обладал MSDR, равным 0,64 [26].

ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДЕМЕНЦИЕЙ С ТЕЛЬЦАМИ ЛЕВИ

Деменция при болезни Паркинсона и деменция с тельцами Леви в данный момент объединены под термином деменция с тельцами Леви. Данный тип деменции является вторым по встречаемости после деменции при болезни Альцгеймера. Стандартными критериями для определения КН при деменции с тельцами Леви являются критерии I.G. McKeith и соавт. [26], которые обладают высокой специфичностью, но низкой чувствительностью.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОГНИТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДЕМЕНЦИЕЙ СОСУДИСТОГО ГЕНЕЗА И ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ

В клинических исследованиях КН при сосудистой деменции (СД) традиционно оцениваются по шкале Хачинского и ее измененным версиям или по критериям NINDS-AIREN. Шкала NINDS-

AIREN позволяет идентифицировать возможную и вероятную деменцию, показывает высокую специфичность, но низкую чувствительность для СД. В некоторых исследованиях сосудистой деменции в качестве критерия включения используются критерии ADDTC, которые демонстрируют высокую чувствительность, но также низкую специфичность. Вне зависимости от используемых критериев межоченочная надежность у больных с СД обычно ниже, чем в исследованиях с больными БА. Таким образом, вполне естественно, что в разных типах сравнительных клинических исследований популяции пациентов идентифицируются с помощью различных критериев. Исходя из этого, согласно «Guideline on the clinical investigation of medicines for the treatment of Alzheimer's disease and other dementias», EMA², у пациентов с сосудистой деменцией рекомендовано использование критериев NINDS-AIREN вследствие их высокой специфичности до того момента, пока не появятся критерии, превосходящие их по специфичности.

ПРИМЕНЕНИЕ НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ У ПОДРОСТКОВ

Исследования у здоровых подростков-атлетов указывают на значительные различия между полами в таких когнитивных доменах, как вербальная память, визуальная память и скорость реакции. В исследовании, проведенном М.Е.Е. Mormile и соавт. [27], применялась компьютеризированная батарея нейропсихологических тестов (ImPACT®) с участием 662 подростков старших классов (451 мальчик и 262 девочки). Различия между полами рассчитывались с применением дисперсионного анализа. Все статистические расчеты проводились с использованием программного обеспечения SPSS 23.0. В результате нейропсихологического тестирования была выявлена разница в общем времени реакции (F1,660 = 10,68; p = 0,001) и общем балле симптомов (F1,660 = 81,20; p < 0,001). Оценка проводилась с использованием F-test статистики с уровнем свободы исследуемых переменных df1 = 1 и значением ошибки df2 = 660 при уровне значимости p ≤ 0,001 [27]. Тем не менее не было выявлено значительных различий между полами в композитной вербальной памяти, визуальной памяти, визиомоторной памяти и контроле импульсного поведения (p > 0,05) с помощью батареи тестов ImPACT®.

Значительные различия между мальчиками и девочками могут объясняться тем, что девочки более склонны к репортированию симптомов, чем мальчики, что обусловлено гормональными различиями, а также более добросовестным исполнением заданий нейропсихологического инструмента ImPACT®. Более быстрая скорость реакции у мальчиков может свидетельствовать в пользу теории о том, что существует половое различие в моторных навыках и в скорости их приобретения [27].

Применение шкалы CNSVS, оценивающей память, скорость психомоторных реакций, комплексное внимание, когнитивную гибкость и нейроког-

² Guideline on the clinical investigation of medicines for the treatment of Alzheimer's disease. EMA/CPMP/EWP/553/95 Rev. 2, 22 February 2018.

нитивный индекс в виде компьютеризированного набора заданий, изучалось у 123 подростков в сравнении с тестами «бумага—карандаш» для доменов обучения, памяти, скорости обработки информации, скорости реакции, внимания и исполнительных функций. Максимальные корреляции между результатами изучения когнитивных доменов по шкалам CNSVS и нейропсихологическим исследованием формата «бумага—карандаш» были средними по своей выраженности [28]. За исключением более сильной корреляции между тестовыми результатами измерения психомоторной скорости, корреляции между тестами в схожих доменах не были статистически более значимы, чем между несвязанными когнитивными конструктами. Таким образом, применение батареи CNSVS у подростков оправдано, но следует использовать получаемые результаты с некоторой долей осторожности, так как измеряемые домены показывают высокую долю взаимосвязанности.

Избыточная масса тела связана с негативным влиянием на когнитивную функцию у подростков. В исследование когнитивной функции у подростков и детей от 8 до 16 лет были включены 92 добровольца с избыточной массой тела и 55 здоровых добровольцев. Когнитивную функцию определяли с помощью следующих нейропсихологических инструментов, настроенных на изучение КН у подростков: набора тестов CDI и скрининговой панели SCARED. Дети и подростки также выполняли задания нейрокогнитивной батареи вопросов CNSVS с помощью персонального компьютера [28]. Данная батарея рассчитывает балльные значения семи когнитивных доменов: памяти, психомоторной скорости, скорости обработки информации, времени реакции, комплексного внимания, исполнительных функций, когнитивной адаптивности, а также суммарный балл — нейрокогнитивный индекс (NCI). Во всех когнитивных доменах были зарегистрированы различия между исследуемыми группами подростков.

Средний балл NCI в группе подростков с избыточной массой тела составил $81,3 \pm 10,24$ балла в сравнении с группой здоровых детей, у которых этот балл был равен $97,29 \pm 4,97$ балла ($p < 0,001$). Результаты исследования других когнитивных доменов с помощью этой панели также выявили снижение финальной суммы баллов у подростков и детей с избыточной массой тела. Средние баллы по шкале SCARED у подростков с избыточной массой тела были выше, чем у здоровых участников исследования ($p < 0,05$). При этом не было установлено статистически значимого взаимодействия между показателями шкал SCARED и CNSVS. Нарушение когнитивной функции у детей и подростков с избыточной массой тела следует принимать во внимание при работе с данной популяцией в клинических исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количество имеющихся инструментов для исследования когнитивной функции и их применение в конкретных клинических условиях варьируется

в очень широких границах. При планировании клинических исследований следует ориентироваться на уже нарабатанный, в том числе зарубежный опыт, на рекомендации по клинической диагностике когнитивной дисфункции при различных заболеваниях, а также на цели и задачи клинического исследования. Современные тенденции в использовании инструментов нейропсихологического исследования и оценке когнитивных функций заключаются в адаптации имеющихся инструментов к конкретным целям и задачам с обязательной валидацией специфичности и чувствительности метода и с использованием методов статистического анализа. При этом приветствуется использование подшкал и компонентов различных инструментов в комбинациях исходя из поставленных целей проводимого клинического исследования. При планировании клинических исследований также необходимо помнить, что расстройства тревожно-депрессивного спектра могут являться распространенной причиной субъективной забывчивости, что требует проведения дифференциальной диагностики и отражения в критериях включения/невключения в протоколы клинических исследований.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Олефир ЮВ. Результаты проведенного анализа и обобщения материалов по безопасности клинических исследований. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2017;(1):5–10. [Olefir YuV. The results of the analysis of materials on the safety of clinical trials. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2017;(1):5–10 (In Russ..)]
2. Горячев ДВ, Тельных МЮ, Бунятян НД. Регуляторные подходы к оценке биоаналогов для лечения ревматических заболеваний. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2017;(3):155–63. [Goryachev DV, Telynykh MYu, Bunyatyan ND. Regulatory approaches to evaluation of biosimilars for treatment of rheumatic diseases. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2017;(3):155–63 (In Russ..)]
3. Захаров ВВ. Когнитивные нарушения в неврологической практике. *Трудный пациент*. 2005;3(5):4–9. [Zakharov VV. Cognitive disorders in neurological practice. *Trudny patsient = Difficult Patient*. 2005;3(5):4–9 (In Russ..)]
4. Дамулин ИВ. Сосудистая деменция: некоторые патогенетические, диагностические и терапевтические аспекты. *Русский медицинский журнал*. 2008;16(5):253–8. [Damulin IV. Vascular dementia: some pathogenetic, diagnostic and therapeutic aspects. *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*. 2008;16(5):253–8 (In Russ..)]

5. Larrabee GJ, Crook TH. Estimated prevalence of age-associated memory impairment derived from standardized tests of memory function. *Int Psychogeriatr*. 1994;6(1):95–104.
6. Lezak MD, Howieson DB, Bigler ED, Tranel D. *Neuropsychological assessment*. 5th ed. New York; Oxford University Press: 2012.
7. Carson N, Leach L, Murphy KJ. A re-examination of Montreal Cognitive Assessment (MoCA) cutoff scores. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2018;33(2):379–88. <https://doi.org/10.1002/gps.4756>
8. Kessels RPC, Brands AMA. Neuropsychological assessment. In: Biessels GJ, Luchsinger JA, eds. *Diabetes and the Brain*. Totowa, NJ: Humana Press; 2009. P. 77–102.
9. Vincent AS, Roebuck-Spencer TM, Fuenzalida E, Gilliland K. Test-retest reliability and practice effects for the ANAM General Neuropsychological Screening battery. *Clin Neuropsychol*. 2017;32(3):479–94. <https://doi.org/10.1080/13854046.2017.1368716>
10. Webber TA, Soble JR. Utility of various WAIS-IV Digit Span indices for identifying noncredible performance validity among cognitively impaired and unimpaired examinees. *Clin Neuropsychol*. 2018;32(4):657–70. <https://doi.org/10.1080/13854046.2017.1415374>
11. Mitrushina MN, Boone KB, Razani J, D'Elia LF. *Handbook of normative data for neuropsychological assessment*. New York: Oxford University Press; 2005.
12. Vanderploeg RD, ed. *Clinician's guide to neuropsychological assessment*. 2nd ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum; 2000.
13. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. «Mini-mental state». A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189–98.
14. Petersen RC, Stevens JC, Ganguli M, Tangalos EG, Cummings JL, DeKosky ST. Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). *Neurology*. 2001;56(9):1133–42.
15. Tsoi KK, Chan JY, Hirai HW, Wong SY, Kwok TC. Cognitive tests to detect dementia: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med*. 2015;175(9):1450–8. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.2152>
16. Lin JS, O'Connor E, Rossom RC, Perdue LA, Burda BU, Thompson M, et al. Screening for cognitive impairment in older adults: an evidence update for the U.S. Preventive Services Task Force. Report No. 14-05198-EF-1. Rockville (MD); 2013.
17. Stein J, Luppá M, Maier W, Tebarth F, Hesel K, Scherer M, et al. The assessment of changes in cognitive functioning in the elderly: age- and education-specific reliable change indices for the SIDAM. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2012;33(2–3):73–83. <https://doi.org/10.1159/000336864>
18. Stein J, Luppá M, Maier W, Wagner M, Wolfsgruber S, Scherer M, et al. Assessing cognitive changes in the elderly: reliable change indices for the Mini-Mental State Examination. *Acta Psychiatr Scand*. 2012;126(3):208–18. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2012.01850.x>
19. Stein J, Luppá M, Luck T, Maier W, Wagner M, Daerr M, et al. The assessment of changes in cognitive functioning: age-, education-, and gender-specific reliable change indices for older adults tested on the CERAD-NP battery: results of the German Study on Ageing, Cognition, and Dementia in Primary Care Patients (AgeCoDe). *Am J Geriatr Psychiatry*. 2012;20(1):84–97. <https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e318209dd08>
20. Skinner J, Carvalho JO, Potter GG, Thames A, Zelinski E, Crane PK, et al. The Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive-Plus (ADAS-Cog-Plus): an expansion of the ADAS-Cog to improve responsiveness in MCI. *Brain Imaging Behav*. 2012;6(4):489–501. <https://doi.org/10.1007/s11682-012-9166-3>
21. Karin A, Hannesdottir K, Jaeger J, Annas P, Segerdahl M, Karlsson P, et al. Psychometric evaluation of ADAS-Cog and NTB for measuring drug response. *Acta Neurol Scand*. 2014;129(2):114–22. <https://doi.org/10.1111/ane.12153>
22. Ngandu T, Lehtisalo J, Solomon A, Levalahti E, Ahtiluoto S, Antikainen R, et al. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2015;385(9984):2255–63. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60461-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60461-5)
23. Cedarbaum JM, Jaros M, Hernandez C, Coley N, Andrieu S, Grundman M, et al. Rationale for use of the Clinical Dementia Rating Sum of Boxes as primary outcome measure for Alzheimer's disease clinical trials. *Alzheimers Dement*. 2013;9(1 Suppl):45–55. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.11.002>
24. Wessels AM, Dowsett SA, Sims JR. Detecting treatment group differences in Alzheimer's disease clinical trials: a comparison of Alzheimer's disease Assessment Scale — Cognitive Subscale (ADAS-Cog) and the Clinical Dementia Rating — Sum of Boxes (CDR-SB). *J Prev Alzheimers Dis*. 2018;5(1):15–20. <https://doi.org/10.14283/jpad.2018.2>
25. Langbaum JB, Hendrix SB, Ayutyanont N, Chen K, Fleisher AS, Shah RC, et al. An empirically derived composite cognitive test score with improved power to track and evaluate treatments for preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2014;10(6):666–74. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.02.002>
26. McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, Emre M, O'Brien JT, Feldman H, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. *Neurology*. 2005;65(12):1863–72. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000187889.17253.b1>
27. Mormile MEE, Langdon JL, Hunt TN. The role of gender in neuropsychological assessment in healthy adolescents. *J Sport Rehabil*. 2018;27(1):16–21. <https://doi.org/10.1123/jsr.2016-0140>
28. Plourde V, Hrabok M, Sherman EMS, Brooks BL. Validity of a computerized cognitive battery in children and adolescents with neurological diagnoses. *Arch Clin Neuropsychol*. 2018;33(2):247–53. <https://doi.org/10.1093/arclin/acx067>

ОБ АВТОРАХ

Соловьева Анна Петровна, главный эксперт управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9244-8934>

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Архипов Владимир Владимирович, д-р мед. наук, проф., начальник отдела взаимодействия лекарственных средств и рациональной фармакотерапии Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1441-3418>

AUTHORS

Anna P. Solovyova, Chief Expert of the Division No. 2 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9244-8934>

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.), Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Vladimir V. Arkhipov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Drug Interactions and Rational Pharmacotherapy of the Clinical Pharmacology Center of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1441-3418>

Статья поступила 11.04.2018
После доработки 24.07.2018
Принята к печати 19.11.2018

Article was received 11 April 2018
Revised 24 July 2018
Accepted for publication 19 November 2018

Планирование и оценка исследований биоэквивалентности препаратов эналаприла

Д. П. Ромодановский^{1,*}, А. Л. Хохлов², А. Е. Мирошников²

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 бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Революционная, д. 5, Ярославль, 150000, Российская Федерация

Резюме. В настоящее время является актуальным проведение ретроспективного анализа исследований биоэквивалентности лекарственных средств определенного международного непатентованного наименования. За прошедшие годы в Российской Федерации накоплен достаточный пул данных, на основе которого можно провести анализ по выявлению многочисленных различий, сложностей и ошибок в исследованиях биоэквивалентности, что имеет особое значение для высоковариабельных лекарственных средств. Поскольку ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента могут быть высоковариабельными, проведен ретроспективный анализ исследований биоэквивалентности воспроизведенных препаратов эналаприла отечественного и зарубежного производства. Представлены результаты данного анализа с целью определения коэффициентов внутрииндивидуальной вариабельности и унификации подходов к планированию и оценке исследований биоэквивалентности эналаприла. Показано, что препараты эналаприла не обладают высокой вариабельностью ни по исходному соединению, ни по активному метаболиту. Однако были выявлены многочисленные различия в проведенных исследованиях: например, набиралось разное количество здоровых добровольцев, определялась концентрация либо только исходного вещества, либо совместно с активным метаболитом, использовались различные аналитические методы определения аналитов, отличались длительность забора образцов крови и временные точки забора. Выявленные различия позволили унифицировать ключевые параметры исследований, гармонизировать их с актуальными требованиями к проведению исследований биоэквивалентности и сформулировать рекомендации в отношении планирования и оценки исследований эналаприла. При выборе дизайна исследований, помимо стандартных условий, можно рекомендовать следующее: количество здоровых добровольцев для проведения исследований биоэквивалентности эналаприла должно быть не менее 18; необходимо определять фармакокинетические параметры как эналаприла, так и его основного активного метаболита (эналаприлата); длительность определения аналитов в крови должна быть не менее 24 ч; достаточный период отмывки составляет 7 сут; точки забора крови с целью оценки максимальной концентрации должны быть более частыми в диапазоне времени около 1 ч для эналаприла и около 3 ч у эналаприлата.

Ключевые слова: исследование биоэквивалентности; высоковариабельные препараты; ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; эналаприл; эналаприлат

Для цитирования: Ромодановский ДП, Хохлов АЛ, Мирошников АЕ. Планирование и оценка исследований биоэквивалентности препаратов эналаприла. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):231-237. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-231-237>

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

Planning and Evaluation of Bioequivalence Studies of Enalapril Products

D. P. Romodanovsky^{1,*}, A. L. Khokhlov², A. E. Miroshnikov²

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

² Yaroslavl State Medical University, 5 Revolutsionnaya St., Yaroslavl 150000, Russian Federation

Abstract. Nowadays retrospective analysis of bioequivalence studies of medicinal products that have the same International Nonproprietary Name is becoming particularly relevant. Over the past years we have accumulated a sufficient pool of data in the Russian Federation which make it possible to identify many differences, difficulties and errors associated with bioequivalence studies (especially those of highly variable drugs). Given that inhibitors of angiotensin-converting enzyme (ACE) can be highly variable, we conducted a retrospective analysis of bioequivalence studies of domestically-produced and foreign-made generic enalapril products. This article presents the results of the analysis whose aim was to determine intraindividual coefficients of variation and harmonise approaches to planning and evaluation of enalapril bioequivalence studies. It was demonstrated that enalapril products do not show high variability — both in terms of the original compound and the active metabolite. However, the analysis revealed many differences in the study designs: recruitment of a different number of healthy volunteers; determination of the concentration of either the original compound only, or in combination with the active metabolite; various analytical methods used for determination of analytes; different duration of blood sampling; and different sampling time points. The revealed differences made it possible to standardise the key research parameters, to harmonise them with the current requirements for conducting bioequivalence studies, and to formulate recommendations for planning and evaluation of enalapril studies. With respect to the study design, in addition to the standard conditions, the following can be recommended: at least 18 healthy volunteers should participate in enalapril bioequivalence studies; the pharmacokinetic parameters should be determined for both enalapril and its main active metabolite (enalaprilat); the duration of blood analyte determination should be at least 24 hours; the washout period should be 7 days; blood sampling for estimation of the maximum concentration should be more frequent around one hour after administration for enalapril and after three hours for enalaprilat.

Key words: bioequivalence study; highly variable drugs; inhibitors of angiotensin-converting enzyme; enalapril; enalaprilat

For citation: Romodanovsky DP, Khokhlov AL, Miroshnikov AE. Planning and evaluation of bioequivalence studies of enalapril products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(4):231-237. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-231-237>

***Corresponding author:** Dmitry P. Romodanovsky; Romodanovsky@expmed.ru

С регуляторной точки зрения среди множества лекарственных средств выделяют отдельную группу, которая характеризуется высокой вариабельностью таких фармакокинетических параметров, как максимальная концентрация в крови (C_{\max}) и площадь под кривой «концентрация — время» (AUC). Такие лекарства называют лекарственными препаратами с высоковариабельными фармакокинетическими параметрами (или высоковариабельными), т.е. это препараты, у которых коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности (CV_{intra}) по крайней мере одного из двух основных параметров биоэквивалентности (C_{\max} и AUC) составляет $\geq 30\%$. Другими словами, это препараты, скорость и степень всасывания которых демонстрируют высокую вариабельность у одного и того же субъекта при приеме лекарственного препарата в одинаковой дозировке [1–5].

Согласно анализу, проведенному экспертами Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA), в общей структуре заявлений на регистрацию воспроизведенных лекарственных препаратов в 11 % случаев по результатам исследований биоэквивалентности встречаются высоковариабельные препараты. Наиболее часто высоковариабельные препараты встречались в следующих фармакологических классах: ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), блокаторы «медленных» кальциевых каналов, статины и бифосфонаты [3].

Одним из наиболее распространенных ингибиторов АПФ является эналаприл, который представляет собой пролекарство. В основном эналаприл применяют в кардиологии для лечения артериальной гипертензии, сердечной недостаточности, профилактики сердечной недостаточности и коронарной ишемии у пациентов с дисфункцией левого желудочка. Препараты эналаприла входят в список важнейших лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения, а также в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов^{1,2} Российской Федерации.

Учитывая социально-экономическую важность препаратов эналаприла, целесообразно разработать основополагающие научно-методические подходы к планированию дизайна и оценке результатов исследований терапевтической эквивалентности препаратов эналаприла, что позволит повысить качество проводимых исследований, а также облегчить задачу признания взаимозаменяемости препаратов эналаприла.

Одним из основных критериев для подтверждения терапевтической эквивалентности воспроизведенных препаратов является доказательство их биоэквивалентности [6, 7].

Цель работы — подготовка рекомендаций в отношении планирования и оценки исследований биоэквивалентности эналаприла, а именно: коли-

чества субъектов для проведения исследования; необходимости определения исходного соединения или его основного активного метаболита; длительности периода отбора крови и выбора временных интервалов отбора крови; выбора аналитического метода определения аналитов; достаточного периода отмывки, а также оценки внутрииндивидуальной вариабельности эналаприла и его активного метаболита эналаприлата.

Для разработки таких научно-методических подходов необходимо провести анализ имеющихся требований к проведению фармакокинетических исследований *in vivo* препаратов эналаприла. Также необходим анализ результатов уже проведенных исследований эналаприла с оценкой CV_{intra} фармакокинетических параметров. Обобщив полученные данные, можно определить, относится ли эналаприл к лекарственным средствам с высокой вариабельностью параметров фармакокинетики, и сформировать методические рекомендации в отношении исследований биоэквивалентности препаратов эналаприла.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. В работе был использован информационно-аналитический метод для оценки имеющихся требований к проведению фармакокинетических исследований биоэквивалентности *in vivo* препаратов эналаприла по данным FDA, Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA), Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Министерства здравоохранения Канады (Health Canada), Японского Национального института медицинских наук (NIHS), Администрации терапевтических товаров Министерства здравоохранения Австралии (TGA). Поиск выполнялся по запросам на официальных сайтах вышеуказанных регуляторных органов и в поисковой системе «Google» информационно-телекоммуникационной сети Интернет. Критерии поиска: «руководство», «биоэквивалентность», «эналаприл».

2. Применен ретроспективный анализ десяти отчетов исследований биоэквивалентности по материалам дел, поступивших в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России с целью регистрации, на основании результатов исследований биоэквивалентности эналаприла за период с 2006 по 2015 г. Проведен пересчет основных фармакокинетических параметров C_{\max} и AUC_{0-t} из исходных данных о концентрациях эналаприла и/или эналаприлата исследуемых препаратов в сравнении с референтным препаратом. AUC_{0-t} рассчитывали методом трапеций в программе Microsoft Office Excel. Фармакокинетические параметры были log-трансформированы и подвергнуты дисперсионному анализу (Analysis of variance, ANOVA) с помощью программы Statistica 10. В дисперсионный анализ были включены следующие факторы, вносящие вклад в наблюдаемую вариацию

¹ WHO Model list of essential medicines. 20th edition. 2017.

² Распоряжение Правительства Российской Федерации от 23 октября 2017 г. № 2323-р «Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов на 2018 год, а также перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи».

данных: различия между препаратами, различия между субъектами (межиндивидуальные различия), последовательность приема препаратов, периоды исследования. На основании полученных значений были рассчитаны значения CV_{intra} .

3. Использован информационно-аналитический метод оценки ключевых аспектов дизайна проведенных исследований биоэквивалентности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При планировании любого исследования биоэквивалентности необходимо провести анализ имеющихся данных о фармакологических свойствах действующего вещества и, в частности, сведений о фармакокинетике.

Фармакокинетические свойства эналаприла

Эналаприл является пролекарством, которое после перорального приема и абсорбции гидролизуется в печени, превращаясь в активное вещество — эналаприлат. В кишечнике всасывается 60–70 % эналаприла, 60 % которого трансформируется в эналаприлат. Общая биодоступность эналаприла в перерасчете на эналаприлат — около 40 %. Абсорбция эналаприла не зависит от приема пищи. Максимальная концентрация эналаприла в крови достигается в течение 1 ч, а эналаприлата — через 3,5–4,5 ч после приема внутрь. Около 2/3 дозы эналаприла в виде неизмененного эналаприла и эналаприлата выводится почками, остальная часть дозы — через кишечник. Элиминация эналаприла из организма двухфазная: первая фаза с периодом полувыведения ($t_{1/2}$) 2–6 ч соответствует быстрой почечной экскреции циркулирующего в крови эналаприла и его активного метаболита; за ней следует вторая фаза (период полувыведения 36 ч), в ходе которой выводятся остатки препарата, распределенные в тканях и связанные с АПФ. Период полувыведения эналаприлата при курсовом применении составляет^{3,4} 11 ч.

Таким образом, при проведении исследований биоэквивалентности препаратов эналаприла необходимо учитывать следующее:

- эналаприл является пролекарством (наибольшей активностью обладает метаболит эналаприлат), и, соответственно, может потребоваться определение как исходного вещества, так и метаболита;
- максимальная концентрация эналаприла наблюдается в течение 1 ч после приема, а концентрация эналаприлата — в течение 3,5–4,5 ч, т.е. точки забора образцов плазмы крови для исследования должны быть в указанном диапазоне значений C_{max} ;
- период полувыведения составляет 11 ч для эналаприлата (для эналаприла 2–6 ч), поэтому достаточный период отмывки предполагается в течение 7 сут; длительность забора образцов считается достаточной до 44 ч (4 периода $t_{1/2}$).

Регуляторные требования

Общепринято, что в исследованиях для определения биоэквивалентности после однократного приема исследуемой дозы основными параметрами для анализа являются AUC_{0-t} (площадь под кривой «концентрация — время» в интервале времени 0–t), $AUC_{0-\infty}$ (площадь под кривой «концентрация — время» в интервале времени 0–∞) и C_{max} (максимальная концентрация лекарственного вещества). Критерием для установления биоэквивалентности лекарственных препаратов для применения внутрь является отношение фармакокинетических параметров C_{max} и AUC исходного вещества или активного метаболита исследуемого препарата к такому же отношению сравнения, которое должно лежать в заранее установленном 90 % доверительном интервале. Однако по критерию необходимости изучения фармакокинетики активных метаболитов требования к проведению и оценке исследований биоэквивалентности несколько различаются в разных странах.

Регуляторные органы, такие как FDA, EMA, Health Canada обычно рекомендуют, чтобы определялась концентрация исходного вещества^{5,6,7}. Основанием для этой рекомендации является то, что AUC исходного вещества более чувствительна к изменениям, чем метаболиты, которые в большей степени отражают метаболизм, распределение и выведение. В случае с лекарственными препаратами, чьи метаболиты вносят значительный вклад в безопасность и/или эффективность применения препарата, некоторые регулирующие органы, такие как FDA и TPD, требуют для подтверждения биоэквивалентности определения, помимо исходного активного компонента, также и метаболитов в качестве дополнительной информации. Так как в ряде случаев активные метаболиты превосходят по своей фармакологической активности исходные вещества, т.е. эффективность и безопасность препарата в большей степени обусловлена концентрацией метаболита, чем концентрацией исходного вещества, то определение концентрации активных метаболитов может иметь большое клиническое значение [8].

Тем не менее позиция EMA в отношении рассмотрения активных метаболитов для оценки биоэквивалентности отличается от позиций FDA и TPD в том смысле, что требуется только анализ исходного вещества при проведении исследований биоэквивалентности. В текущем руководстве EMA по проведению исследований биоэквивалентности четко указывается, что C_{max} исходного соединения, как правило, более чувствительна в обнаружении различий между сравниваемыми препаратами в скорости поглощения, а не C_{max} метаболита. Также уточняется, что нет необходимости в определении активных метаболитов, если есть возможность определения концентрации исходного вещества.

³ Инструкция по медицинскому применению препарата Ренитек. <https://grls.rosminzdrav.ru>

⁴ Summary of product characteristics of Renitec/Innovace. <http://www.mhra.gov.uk>

⁵ Bioequivalence studies with pharmacokinetic endpoints for drugs submitted under an ANDA. United States Food and Drug Administration. 2013.

⁶ Investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. 2010.

⁷ Comparative bioavailability standards: formulations used for systemic effects. Health Canada. 2012.

Таблица 1. Общие сведения по исследованиям, включенным в сравнительный анализ

Table 1. General information on the studies covered by the comparative analysis

Дизайн	Дозировка, мг	Референтный препарат	Количество добровольцев
2x2	10	Ренитек®	18
2x2	10	Ренитек®	18
2x2	10	Ренитек®	18
2x2	20	Ренитек®	18
2x2	10	Ренитек®	18
2x2	20	Ренитек®	18
2x2	10	Ренитек®	18
2x2	20	Ренитек®	28
2x2	20	Ренитек®	18
2x2	20	Ренитек®	24

Примечание. 2x2 — исследование с простым перекрестным дизайном с 2 периодами в 2 последовательностях.

По результатам анализа имеющихся требований к проведению фармакокинетических исследований биоэквивалентности *in vivo* препаратов эналаприла выявлено только одно полное совпадение в соответствии с критериями поиска — руководство по изучению биоэквивалентности препаратов эналаприла (эналаприла малеата)⁸, разработанное

Таблица 2. Сравнительные данные по графикам отбора образцов крови и периоду отмывки

Table 2. Comparative data on the blood sampling schedule and washout period

Длительность отбора образцов, ч	Временные точки, ч	Период отмывки, сут
24	0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 12; 24	7
24	0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 12; 15; 24	7
24	0; 1; 2; 3; 4; 6; 10; 12; 24	7
48	0; 2; 3; 4; 10; 24; 32; 48	4
30	0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 3,5; 4; 5; 8; 12; 24; 30	14
24	0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 10; 12; 24	Нет данных
30	0; 1; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 5; 7; 10; 24; 30	7
48	0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75; 2; 2,5; 3; 3,33; 3,67; 4; 4,5; 5; 6; 8; 12; 16; 24; 48	21
24	0; 0,17; 0,33; 0,66; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 9; 12; 24	7
48	0; 0,5; 2; 3; 4; 5; 8; 12; 24; 48	7

FDA. Во всех остальных случаях результатом поиска были общие руководства к исследованиям биоэквивалентности или статьи, посвященные проведенным исследованиям биоэквивалентности эналаприла. Согласно требованиям FDA, определяют и исходное вещество, и его метаболит, однако биоэквивалентность должна быть подтверждена для исходного соединения. Исследование рекомендуется проводить в условиях натощак и после приема пищи для дозировки 20 мг.

Ретроспективный анализ результатов исследований биоэквивалентности эналаприла с 2006 до 2015 г.

Проанализировано 10 наборов данных исследований биоэквивалентности препаратов эналаприла (табл. 1).

В исследованиях биоэквивалентности изучались дозы эналаприла 10 и 20 мг.

Количество здоровых добровольцев в различных исследованиях варьировало от 18 до 28, однако в большинстве случаев (в 8 из 10 исследований) количество здоровых добровольцев было равно 18 (табл. 1).

Длительность периода отбора образцов крови для фармакокинетического анализа варьировала от 24 ч (n = 5) до 48 ч (n = 3). Длительность периода отмывки составляла от 7 сут (n = 6) до 21 сут (n = 1) (табл. 2).

Среднее время достижения максимальной концентрации после приема воспроизведенных препаратов и референтного препарата составило для эналаприла — $0,89 \pm 0,22$ и $0,92 \pm 0,2$ ч, для эналаприлата — $3,26 \pm 0,25$ и $3,39 \pm 0,31$ ч соответственно.

В большинстве случаев для определения эналаприла и эналаприлата в плазме крови использовались методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрической

⁸ Draft guidance on enalapril maleate. United States Food and Drug Administration. 2008.

Таблица 3. Сравнительные данные по аналитическому методу и нижнему пределу количественного определения эналаприла и эналаприлата

Table 3. Comparative data on the analytical methods and lower limit of quantification for enalapril and enalaprilat

Аналитический метод	Аналит	НПКО, нг/мл
Радиоферментный анализ	Эналаприлат	4
ВЭЖХ-УФ	Эналаприлат	10
ИФА	Эналаприлат	0,1
ВЭЖХ-МС	Эналаприлат	2
ВЭЖХ-МС	Эналаприл и эналаприлат	0,5*
ИФА	Эналаприлат	0,03
ИФА	Эналаприлат	Нет данных
ВЭЖХ-МС	Эналаприл и эналаприлат	5*
ВЭЖХ-МС	Эналаприл и эналаприлат	1*
ВЭЖХ-МС	Эналаприл и эналаприлат	5*

Примечание. ВЭЖХ-УФ — высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовой детекцией; ВЭЖХ-МС — высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрической детекцией; ИФА — иммуноферментный анализ; НПКО — нижний предел количественного определения; * — значения НПКО применимы для эналаприла и эналаприлата.

детекцией (n = 5) и иммуноферментный анализ (n = 3). Нижний предел количественного определения варьировал от 0,03 до 10 нг/мл (табл. 3).

Во всех исследованиях внутрииндивидуальная вариабельность фармакокинетических показателей (C_{max} , AUC) не превышала 30 %, в ряде исследований наибольшая вариабельность была показана для эналаприлата — 25–26 % (табл. 4 и 5).

Таким образом, значения внутрииндивидуального коэффициента вариабельности для

Таблица 4. Сравнительные данные по коэффициентам внутрииндивидуальной вариабельности эналаприла

Table 4. Comparative data on intraindividual coefficients of variation for enalapril

Аналит	CV_{intra} AUC, %	CV_{intra} C_{max} , %
Эналаприл	14,21	17
Эналаприл	17,63	21,74
Эналаприл	10,51	15,23
Эналаприл	16,16	22,51
Среднее значение	14,63	19,12

Примечание. CV_{intra} — коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности; AUC — площадь под кривой «концентрация — время»; C_{max} — максимальная концентрация в плазме крови.

Таблица 5. Коэффициенты внутрииндивидуальной вариабельности эналаприлата

Table 5. Intraindividual coefficients of variation for enalaprilat

Аналит	CV_{intra} AUC, %	CV_{intra} C_{max} , %
Эналаприлат	7,75	17,74
Эналаприлат	4,47	5,48
Эналаприлат	16,54	17,74
Эналаприлат	15,25	12,69
Эналаприлат	8,35	12,92
Эналаприлат	12,16	10,43
Эналаприлат	8,56	15,28
Эналаприлат	25,82	24,43
Эналаприлат	3,21	12,53
Эналаприлат	20,45	15,91
Среднее значение	12,256	14,515

Примечание. CV_{intra} — коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности; AUC — площадь под кривой «концентрация — время»; C_{max} — максимальная концентрация в плазме крови.

параметров C_{max} и AUC эналаприла и эналаприлата свидетельствуют о невысокой вариабельности препарата (средние значения около 19 и 14 % по наиболее вариабельному параметру C_{max} соответственно). То есть среди ингибиторов АПФ эналаприл не является высоковариабельным, однако, учитывая ранее проведенный анализ FDA [3], целесообразно продолжить анализ данной группы препаратов для выявления высоковариабельных лекарственных средств.

Согласно данным портала Государственного реестра лекарственных средств и анализа проведенных исследований биоэквивалентности, в качестве референтного препарата в исследованиях биоэквивалентности следует использовать препарат Ренитек®.

Учитывая зарубежные и отечественные требования к исследованиям биоэквивалентности, следует определять концентрацию исходного соединения — эналаприла. В дополнение к определению исходного вещества также необходимо определять концентрацию метаболита — эналаприлата. Биоэквивалентность должна быть подтверждена для исходного соединения.

Определять в крови эналаприл и эналаприлат рекомендуется методом ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией, достаточно чувствительным и точным аналитическим методом, наиболее часто используемым для определения эналаприла и его метаболита согласно проанализированным исследованиям. Аналитическая методика должна быть надлежащим образом валидирована в соответствии с Правилами проведения исследований биоэквивалентности лекарствен-

ных препаратов⁹ в рамках Евразийского экономического союза.

Рекомендуется проведение исследования для дозировки 20 мг, являющейся, как правило, максимальной и наиболее чувствительной к выявлению различий.

Учитывая среднее значение CV_{intra} эналаприла около 19 % (по результатам 4 исследований), для достижения 80 % мощности исследования достаточно включения 18 субъектов.

Длительность определения концентрации эналаприла в плазме крови, учитывая данные по фармакокинетике, должна быть не менее 24 часов, период отмывки не менее 7 дней.

При выборе временных интервалов отбора крови следует учитывать более частый отбор образцов крови в диапазоне времени достижения C_{max} (около 1 ч для эналаприла и около 3 ч у эналаприлата). Можно порекомендовать следующий график отбора образцов крови: 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75; 2; 2,5; 3; 3,25; 3,5; 3,75; 4; 4,5; 5; 6; 8; 12; 16; 24 ч.

Оценивать результаты необходимо в соответствии с общими требованиями для исследований биоэквивалентности¹⁰ — 90 % доверительные интервалы для отношения средних значений C_{max} и AUC эналаприла должны находиться в диапазоне 80–125 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препараты эналаприла не являются высоковариабельными.

Проведенный анализ позволяет сформулировать следующие положения и рекомендации в отношении планирования и оценки исследований биоэквивалентности препаратов эналаприла:

1. Референтный препарат — Ренитек®.
2. Дозировка — 20 мг.
3. Количество добровольцев — 18.
4. Длительность и временные интервалы отбора крови — 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75; 2; 2,5; 3; 3,25; 3,5; 3,75; 4; 4,5; 5; 6; 8; 12; 16; 24 ч.
5. Период отмывки — 7 сут.
6. Аналит — эналаприл, эналаприлат.
7. Метод определения аналитов — ВЭЖХ-МС или ВЭЖХ-МС/МС.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.
Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ромодановский ДП, Драницына МА, Горячев ДВ, Ниязов РР, Гавришина ЕВ. Планирование дизайна и оценка результатов исследований биоэквивалентности высоковариабельных препаратов на примере розувастатина. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015;78(6):19–25. [Romodanovsky DP, Dranitsyna MA, Goryachev DV, Niyazov RR, Gavrichina EV. Design planning and evaluation of the results of bioequivalence studies of highly variable drugs using rosuvastatin as an example. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2015;78(6):19–25 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2015-78-6-19-25>
2. Ромодановский ДП, Еременкова ТВ, Драницына МА, Горячев ДВ, Ниязов РР, Гавришина ЕВ, Меркулов ВА. Высоковариабельные лекарственные препараты — особенности исследования биоэквивалентности. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015;(4):5–10. [Romodanovsky DP, Eremenkova TV, Dranitsyna MA, Goryachev DV, Niyazov RR, Gavrichina EV, Merkulov VA. Highly variable medicines — specific aspects of bioequivalence studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2015;(4):5–10 (In Russ.)]
3. Davit BM, Conner DP, Fabian-Fritsch B, Haidar SH, Jiang X, Patel DT, et al. Highly variable drugs: observations from bioequivalence data submitted to the FDA for new generic drug applications. *AAPS J*. 2008;10(1):148–56. <https://doi.org/10.1208/s12248-008-9015-x>
4. 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. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9406-x>
5. Tothfalusi L, Endrenyi L, Arieta AG. Evaluation of bioequivalence for highly variable drugs with scaled average bioequivalence. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48:725–43. <https://doi.org/10.2165/11318040-000000000-00000>
6. Жердев ВП, Колыванов ГБ, Литвин АА, Сариев АК. Гармонизация проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов: вопросы и их возможное решение. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2003;66(2):60–4. [Zherdev VP, Kolyvanov GB, Litvin AA, Sariev AK. Harmonization of testing drugs for bioequivalence: problems and solutions. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2003;66(2):60–4 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2003-66-2-60-64>
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. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2014;48(5):3–10 (In Russ.)]
8. Ромодановский ДП, Горячев ДВ. Актуальные аспекты планирования дизайна исследований биоэквивалентности препаратов аторвастатина. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013;(1):22–7. [Romodanovsky DP, Goryachev DV. Current aspects of planning bioequivalence studies design for atorvastatin preparations. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2013;(1):22–7 (In Russ.)]

⁹ Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза, утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85.

¹⁰ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. М.: Гриф и К; 2013.

ОБ АВТОРАХ

Ромодановский Дмитрий Павлович, канд. мед. наук, главный эксперт управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2980-4518>

Хохлов Александр Леонидович, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии с курсом Института последипломного образования ЯГМУ, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0032-0341>

Мирошников Алексей Евгеньевич, канд. мед. наук, доцент кафедры клинической фармакологии с курсом Института последипломного образования ЯГМУ, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6657-3950>

Статья поступила 12.03.2018

После доработки 14.06.2018

Принята к печати 19.11.2018

AUTHORS

Dmitry P. Romodanovsky, Cand. Sci. (Med.), Chief Expert of Division No. 2 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-2980-4518>

Alexander L. Khokhlov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Department of Clinical Pharmacology with the Course of Institute of Postgraduate Education of Yaroslavl State Medical University, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0032-0341>

Aleksey E. Miroshnikov, Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor of the Department of Clinical Pharmacology with the Course of Institute of Postgraduate Education of Yaroslavl State Medical University, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6657-3950>

Article was received 12 March 2018

Revised 14 June 2018

Accepted for publication 19 November 2018



Планирование регистрационной программы исследований препаратов базисной противовоспалительной терапии ревматоидного артрита

Д. В. Горячев, М. Ю. Тельных*

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

Резюме. Ревматоидный артрит — аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и системным поражением внутренних органов. Основное место в лечении ревматоидного артрита занимает медикаментозная терапия: нестероидные противовоспалительные препараты, простые анальгетики, глюкокортикоиды, синтетические базисные противовоспалительные препараты и средства таргетной терапии, которые в настоящее время представлены генно-инженерными биологическими препаратами. Выбор рациональных методов лечения этого тяжелого заболевания является актуальной задачей для современной медицины. Был проведен анализ регистрационной программы исследований препаратов базисной противовоспалительной терапии ревматоидного артрита, разработанной в соответствии с классификационными и диагностическими критериями заболевания. Отмечено, что при составлении регистрационной программы исследования определение показаний для применения препарата проводится на основании информации о его фармакологических свойствах с описанием целевой популяции пациентов. Должен быть представлен перечень клинических показателей, которые будут контролироваться в исследовании для подтверждения эффективности терапии. В зависимости от фармакологических особенностей препарата может быть выбран основной критерий эффективности. Для оценки эффективности используются интегральные показатели. Ожидаемые результаты лечения должны быть согласованы с заявленным показанием. В исследованиях, подтверждающих эффективность препарата, должен максимально полно оцениваться его терапевтический потенциал. До момента регистрации препарата должно быть получено достаточно данных по его безопасности с учетом возможной длительности его применения.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; противоревматическая терапия; критерии эффективности терапии; базисные противовоспалительные препараты; регуляторные подходы

Для цитирования: Горячев ДВ, Тельных МЮ. Планирование регистрационной программы исследований препаратов базисной противовоспалительной терапии ревматоидного артрита. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):238-245. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-238-245>

***Контактное лицо:** Тельных Марина Юрьевна; Telnykh@expmed.ru

Planning of a Clinical Data Registry for Basic Anti-Inflammatory Drugs for the Treatment of Rheumatoid Arthritis

D. V. Goryachev, M. Yu. Telnykh*

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

Abstract. Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune rheumatic disease of unknown etiology which manifests itself in chronic erosive arthritis (synovitis) and systemic lesions affecting internal organs. The main emphasis in the RA treatment is placed on the pharmacological therapy: non-steroidal anti-inflammatory drugs, ordinary analgesics, glucocorticoids, basic synthetic anti-inflammatory drugs, and targeted therapy drugs which are now represented by genetically engineered biologicals. The choice of rational treatment options for this severe disease is an important challenge facing modern medicine. The study reported in this paper analysed the clinical data registry for basic anti-inflammatory drugs for RA treatment, which was elaborated based on RA classification and diagnostic criteria. It was revealed that a product's indications for use are formulated in the clinical data registry based on the product's pharmacological properties and are accompanied with the description of the target population. It is necessary to provide a list of clinical parameters that will be monitored in the study to demonstrate the efficacy of treatment. The main efficacy endpoint may be chosen based on the product's pharmacological properties. The efficacy is assessed using integrated indicators. Expected endpoints should be in line with the declared indication for use. Trials that confirm efficacy of a product should assess its therapeutic potential to the fullest extent possible. Before a medicinal product is authorised, it is necessary to obtain sufficient data on its safety, taking into account potential risks of long-term use.

Key words: rheumatoid arthritis; antirheumatic treatment; criteria of treatment accuracy; basic anti-inflammatory drugs; regulatory approaches

For citation: Goryachev DV, Telnykh MYu. Planning of a clinical data registry for basic anti-inflammatory drugs for the treatment of rheumatoid arthritis. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(4):238-245. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-238-245>

***Corresponding author:** Marina Yu. Telnykh; Telnykh@expmed.ru

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и системным воспалительным поражением внутренних органов [1]. Заболевание характеризуется развитием деформации суставов, болевым синдромом, прогрессированием функциональной недостаточности суставов. Раннее начало адекватной терапии улучшает прогноз течения заболевания [2].

Терапия РА, согласно международным программам Американского колледжа ревматологов (American College of Rheumatology, ACR) и Европейской противоревматической лиги (European League Against Rheumatism, EULAR), ставит целью достижение ремиссии или низкой активности заболевания [3]. Эта цель вполне достижима на ранней стадии РА, когда еще не сформировались необратимые изменения суставов и восприимчивость больного к базисным противовоспалительным препаратам (БПВП) наиболее высока [4]. Лекарственная терапия ревматоидного артрита (РА) включает в себя [5]:

- нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП);
- ненаркотические анальгетики;
- глюкокортикостероиды;
- базисные противовоспалительные препараты (БПВП);
- генно-инженерные биологические препараты (ГИБП).

Из них первые 3 группы относятся к препаратам симптоматической терапии РА, а непосредственное лечение данного заболевания основано на применении БПВП и ГИБП [6].

К средствам базисной терапии РА относятся: метотрексат, лефлуномид, циклоспорин, азатиоприн, гидроксихлорохин, хлорохин, сульфасалазин, препараты золота (в Российской Федерации не зарегистрированы), D-пеницилламин и тофацитиниб (новый класс препаратов — ингибиторы семейства янус-киназ).

Цель работы — анализ регистрационной программы Американского колледжа ревматологов и Европейской противоревматической лиги (ACR/EULAR) и рекомендации по разработке отечественной регистрационной программы исследований препаратов базисной противовоспалительной (БПВП) терапии ревматоидного артрита.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ ИНФОРМАЦИИ ПО ПРЕПАРАТУ

При планировании регистрационной программы необходимо сформулировать механизм действия, определить патологию, при которой актуален данный механизм действия, и цели, которые планируется достичь в ходе изучения препарата.

Для начала планирования разработчиком регистрационной программы препарата для терапии РА должны быть представлены сведения о фармакологических свойствах препарата и показаниях к применению с описанием целевой популяции пациентов. Также должен быть представлен перечень

клинических показателей, которые будут контролироваться в исследовании для подтверждения эффективности препарата¹ [7, 8].

В формулировке показаний должно быть представлено, для какой популяции больных РА (тяжесть, активность, деструктивные изменения, предшествующая терапия) показано применение препарата с позитивной оценкой отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения [9].

При лечении РА должны преследоваться следующие цели [10]:

- уменьшение выраженности симптомов (боль);
- достижение ремиссии или низкой активности заболевания;
- уменьшение выраженности синовитов;
- улучшение функциональной активности суставов;
- предотвращение или торможение структурных изменений суставов.

При оценке вышеперечисленных показателей должны использоваться валидированные индексы или шкалы.

Профилактика развития нежелательных явлений, связанных с применением лекарственного средства и/или с наличием сопутствующих (коморбидных) заболеваний, может быть дополнительной целью при проведении исследования, и это должно быть указано при определении приемлемого метода диагностики [11].

Целевое показание должно быть четко и лаконично представлено в информации по лекарственному препарату и сформулировано как лечение ревматоидного артрита при условии, что болезнью модифицирующее действие продемонстрировано и обосновано клинически [12].

Популяция, для которой продемонстрировано приемлемое отношение ожидаемой пользы к возможному риску применения препарата, должна быть распределена как по активности заболевания (например, умеренная, высокая активность ревматоидного артрита), так и по предшествующей терапии РА (например, БПВП-наивные пациенты) и, если это приемлемо, по ответу на предыдущую терапию (например, больные, не ответившие на один или более БПВП, включая метотрексат). Кроме того, необходимо отметить, должен ли препарат использоваться один или в комбинации [13].

В первую очередь в исследованиях должна быть изучена информация о влиянии препарата на симптомы заболевания и функциональную активность. В программе исследований учитывается необходимость изучения влияния препарата на предотвращение или торможение структурных изменений суставов [14].

Критерии ремиссии РА пересматривались ACR и EULAR в 2010 году [7, 15], в связи с этим в исследовании необходимо предусмотреть возможность определения ремиссии по новым требованиям. Оценка эффективности препарата в исследованиях является основным критерием при изучении клинической значимости при терапии РА.

¹ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ (ПЕРВИЧНЫЕ ИЛИ ВТОРИЧНЫЕ КОНЕЧНЫЕ ТОЧКИ)

На момент начала исследования, на протяжении исследования и по завершении слепой фазы должна быть проведена оценка следующих характеристик (первичных показателей) РА [16]:

- число припухших суставов (28 суставов или более) (учитываются лучезапястные, пястно-фаланговые, проксимальные межфаланговые кистей, плечевые, локтевые, коленные суставы);

- число болезненных суставов (28 суставов или более) (учитываются лучезапястные, пястно-фаланговые, проксимальные межфаланговые кистей, плечевые, локтевые, коленные суставы);

- общая оценка выраженности симптоматики по 100-мм горизонтальной визуально-аналоговой шкале (ВАШ): общая оценка активности заболевания врачом и общая оценка состояния здоровья больным;

- интенсивность боли (оценка больным по ВАШ, шкале Ликерта);

- функциональная активность суставов (например, по шкале опросника оценки здоровья — Health Assessment Questionnaire, HAQ);

- острофазовые лабораторные показатели, такие как скорость оседания эритроцитов (СОЭ, мм/ч) по методике Вестергрена и С-реактивный белок (СРБ) в сыворотке крови, определенный количественным методом;

- рентгенографические характеристики (счет эрозий, счет сужений, например, по методу Шарпа в модификации van der Heijde (Sharp/van der Heijde) [17].

Представленные показатели эффективности терапии характеризуют также и тяжесть заболевания. В зависимости от фармакологических особенностей препарата из этого спектра может быть выбран основной критерий эффективности. Ожидаемые результаты должны быть согласованы с заявленным показанием. Иные критерии эффективности могут использоваться в качестве дополнительных в случае подтверждения их надежности [12].

ОЦЕНКА СИМПТОМОВ И АКТИВНОСТИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

В целом для оценки эффективности используются такие интегральные критерии как: ответ по ACR, ответ по EULAR, счет активности болезни для 28 суставов (Disease Activity Score, DAS28), в модификации с применением СОЭ и СРБ, упрощенный индекс активности болезни (Simplified Disease Activity Index, SDAI), клинический индекс активности болезни (Clinical Disease Activity Index, CDAI). Эти критерии должны использоваться в сочетании с описанием изменения отдельных первичных показателей [18]. Желательно применение двух основных интегральных индексов — по ACR и по EULAR [19]. Иные сложные индексы могут применяться только после их валидации.

Выбор критериев оценки должен проводиться не только с целью демонстрации положительного клинического эффекта, но и для оценки активности

заболевания в определенный момент времени и степени ухудшения [20].

Рекомендуется приводить данные описательной статистики всех первичных критериев оценки симптомов и активности заболевания в начале, на протяжении и по завершении исследования [21].

В исследованиях, подтверждающих эффективность, должен максимально полно оцениваться терапевтический потенциал препарата. В зависимости от особенностей лекарственного средства и особенностей набираемой популяции больных РА необходимо оценить валидированные критерии ремиссии. ACR и EULAR разработано определение ремиссии РА и дополнительно определены критерии ремиссии по SDAI и CDAI. Ремиссия оценивается в период прекращения применения препарата, если это возможно. Оценка эффективности препарата проводится на основании частоты достижения низкой активности заболевания и ремиссии по интегральным индексам DAS28, SDAI и CDAI [22].

Важно, чтобы до проведения клинического исследования был обоснован выбор критериев эффективности временных периодов для оценки состояния пациента с применением этих критериев. Оценка уменьшения симптомов и снижения активности заболевания по ACR должна проводиться через 3–6 месяцев в зависимости от характеристик лекарственного средства и дизайна исследования. Для исследований с активным препаратом сравнения ACR и частота ремиссии должны оцениваться не ранее чем через 6 месяцев после начала терапии [23]. Сопутствующая симптоматическая терапия может применяться, но должна подробно описываться в протоколе, как и методы ее учета при анализе данных. Дополнительно должен проводиться тщательный учет нелекарственных методов терапии [24].

ОЦЕНКА СТРУКТУРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СУСТАВОВ

Рентгенологическая прогрессия РА и долгосрочный ответ на терапию обычно оцениваются с применением количественных индексов, описывающих сужение суставных щелей и уменьшение эрозивных изменений на рентгенограммах. Рекомендуется применять стандартный метод Шарпа в модификации van der Heijde [17]. Применение иных методов должно быть обосновано в протоколе.

Рекомендуется оценивать рентгенологический индекс до и после проведения терапии при условии полной рандомизации по заранее определенным критериям. Проведение оценки рентгенологического индекса должно быть детально описано. Отклонения от стандартных методик оценки должны быть учтены дополнительно. Рентгенография должна проводиться в жестко фиксированные и заранее определенные промежутки времени. Оценку должны проводить, как минимум, два специалиста, не имеющие отношения к распределению больных в группы, определению последовательности оценок и не имеющие информации о предыдущих оценках. Метод окончательного подсчета индекса должен быть в деталях описан. Степень разброса значений, полученных разными специалистами, должна быть

оценена с учетом выявляемой разницы между начальными и конечными значениями индекса. Вопрос об отсутствующих рентгенограммах и методе обработки отсутствующих значений должен заранее обсуждаться в протоколе. Замедление рентгенологической прогрессии само по себе не является оценкой улучшения состояния пациента и считается суррогатной оценкой эффективности терапии. Однако этот показатель очень полезен для оценки течения ревматоидного артрита при длительном наблюдении популяции [25].

Прогрессирование рентгенографических изменений сильно варьирует в популяции больных РА, при этом отмечается зависимость от начальных изменений и активности заболевания. Минимальное клинически значимое прогрессирование должно быть последовательно определено. Некоторые выпадающие из общих закономерностей значения и изменения должны быть заранее оговорены в протоколе и соотнесены с вариантами начальных характеристик РА. Применение стандартной оценки рентгенологической прогрессии, т.е. оценки данных через 1 год, обычно достаточно для демонстрации предотвращения или торможения структурных изменений суставов. В особых случаях возможна демонстрация эффекта и при 6-месячном наблюдении, однако это должно быть обосновано как степенью наблюдаемых изменений, так и надежностью применяемой методики, что должно быть представлено в протоколе. Вместе с тем с клинической точки зрения важно продемонстрировать длительно сохраняющийся эффект на протяжении не менее 12 месяцев.

Включение дополнительных методов исследования: компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии, ультразвукового исследования суставов позволяет увеличить чувствительность определения деструктивных изменений. В то же время, в связи с отсутствием стандартных методик и надежности измерений, эти методы могут быть лишь дополнительными [26].

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО ЭФФЕКТИВНОСТИ

Дополнительные данные могут включать следующие показатели, если они не были использованы в качестве основных критериев эффективности:

- улучшение по ACR на 50 % — к 12 неделе;
- DAS28 — к 12 неделе;
- ремиссия на 12 и/или 24 неделе;
- индексы оценки качества жизни: улучшение функциональной активности по шкале HAQ, снижение утомляемости по шкале функциональной оценки терапии хронических заболеваний по показателю утомляемости (Functional Assessment Of Chronic Illness Therapy-Fatigue, FACIT-Fatigue), показатели физического и психического здоровья по неспецифическому опроснику для оценки качества жизни пациента SF-36.

Внесуставные проявления РА (например: узелки, васкулит) важно оценивать при системном варианте РА. Иные методы, такие как артроскопия, скинтиграфия, ультразвуковое исследование или биохимические анализы (например, крови, мочи,

синовиальной жидкости) могут оказаться полезными для подтверждения эффективности терапии, но только в том случае, если определены и описаны их надежность и значимость. Биомаркеры не являются обязательными, но могут оказаться полезными при подтверждении механизмов реализации клинического эффекта в особых популяциях больных [11].

Базисные препараты для терапии РА изучаются в клинических исследованиях с различным дизайном.

СТРАТЕГИЯ И ДИЗАЙН КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Фармакокинетика. Фармакокинетические характеристики лекарственных препаратов должны изучаться на основе существующих рекомендаций для соответствующей области исследований [27].

Исследования эффективной дозы. Исследования эффективной дозы должны проводиться в соответствии с действующими рекомендациями. В отношении II фазы исследований препаратов у больных РА следует отметить отсутствие данных об эффективности для длительных сроков применения препарата. Для этого этапа исследований подходит критерий ACR20, определяющийся по уменьшению выраженности объективных и субъективных признаков заболевания на 20 %. В некоторых случаях ACR20 может оказаться недостаточным для поиска различий в эффективности между дозами препарата, особенно при раннем РА и при оценке синтетических БПВП. Более подходящей альтернативой в этих условиях может быть число припухших суставов (ЧПС).

В целом продолжительность исследования зависит от механизма действия препарата. Для поиска эффективных доз обычно достаточно трехмесячной продолжительности терапии [28].

Взаимодействия. Исследования взаимодействий должны проводиться в соответствии с действующими рекомендациями. Должны быть оценены эффективность и безопасность препаратов, для которых велика вероятность совместного применения с изучаемым лекарственным средством в клинической практике. В связи с высокой частотой применения пациентами БПВП, отличающимися от изучаемого лекарственного средства, или иной терапии, используемой по причине наличия сопутствующих заболеваний, необходимо предусмотреть проведение исследований лекарственного взаимодействия. Выбор лекарственных веществ для подобных исследований должен быть обоснован их известными фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами. Рекомендации по проведению подобных исследований должны быть учтены.

Если необходимо прекращение предшествующей терапии БПВП/ГИБП, то период между отменой терапии и началом лечения изучаемым препаратом должен быть достаточным, чтобы избежать возможных фармакологических взаимодействий [29].

Исследования, подтверждающие эффект. Наблюдаемый эффект лечения зависит от использованных диагностических критериев при оценке пациента при включении в исследование и характеристик заболевания, таких как стадия, продолжительность или активность РА, которые должны

быть соответствующим образом обозначены в критериях отбора пациентов. С учетом общепринятых предикторов прогрессии заболевания информация о больных должна быть тщательно документирована, механизм действия и прогнозируемые показания также должны быть учтены. Таким образом, при наборе больных должны быть учтены симптомы и признаки активности РА, наличие внесуставных проявлений и сопутствующих заболеваний. Степень активности заболевания и выраженности симптомов в начале исследования должна быть достаточная для того, чтобы определить значимые изменения [30].

Доза и продолжительность предшествующей и настоящей терапии БПВП и ГИБП должны быть надлежащим способом документированы. Иные разновидности терапии, которые могут повлиять на развитие эффекта в данном случае, крайне важны. Тщательное документирование сопутствующей терапии должно проводиться вне зависимости от фармакотерапевтической группы лекарственных средств. Популяция набранных больных должна быть тщательно охарактеризована в связи с тем, что особенности больных могут существенно влиять как на эффективность, так и на безопасность терапии (например, общепризнаны особенности эффекта при раннем РА, при неэффективности предшествующей терапии БПВП, ГИБП, неэффективности комбинированной терапии, наличии сопутствующих заболеваний). Причины прекращения предшествующей терапии БПВП/ГИБП или причины признания ее неэффективной должны быть представлены. Целевая популяция должна соответствовать разрабатываемым показаниям для применения препарата, включая демографические особенности (возраст, пол).

Особенности набранной популяции могут быть охарактеризованы после завершения исследования с применением биомаркеров, генетических маркеров, которые могут существенно влиять на исходы заболевания, агрессивность течения РА и ассоциироваться с различной эффективностью терапии [31]. Эти маркеры могут быть важны для выделения ответчиков и индивидуального подбора терапии.

Дизайн исследования. Дизайн, оценка исходов и продолжительность исследования должны быть соответствующим образом оценены с учетом механизма действия лекарственного препарата, величиной и временем развития ожидаемого эффекта [32]. Клинические исследования эффективности и безопасности при РА должны быть рандомизированными, слепыми, предпочтение должно отдаваться дизайну в параллельных группах. Возможны варианты дизайна в параллельных группах или с расширенным дизайном. Каждый из этих дизайнов позволяет продолжать рандомизированно начатую терапию достаточный период времени для установления влияния на конечные точки. Для любого варианта должно учитываться, что применение терапии на ранних стадиях является предпочтительным. Кроме того, должна быть проведена оценка времени начала ответа на терапию по избранным критериям (ответ на

терапию или достижение низкой активности). Если исследования (например, с расширенным дизайном) требуют участия больных с неизменной тяжестью РА при приеме определенных БПВП (например, метотрексата), этот препарат должен применяться как минимум период времени, достаточный для развития полного клинического эффекта (для метотрексата это 6 месяцев). При этом стабильная доза должна использоваться от 6 недель до 3 месяцев до начала терапии изучаемым лекарственным средством.

Анализ подгрупп, в случае его проведения, должен быть заранее запланирован и оговорены условия его проведения (например, анализ зависимости эффекта от длительности применения препарата, степени деструктивных изменений суставов, сопутствующей терапии, устойчивости к предыдущей терапии).

Терапия пациентов, резистентных к метотрексату или с непереносимостью метотрексата. В этом отношении под резистентностью подразумевается неадекватный клинический ответ на предшествующую терапию метотрексатом. Резистентным к метотрексату считается пациент с сохраняющейся активностью РА несмотря на применение стабильной дозы не менее 15 мг в неделю (и более 25 мг в неделю) на протяжении как минимум 4 недель до скрининга, с 4 и более припухшими и 4 и более болезненными суставами и концентрацией С-реактивного белка более 1,5 мг/л. В клинических исследованиях у метотрексат-резистентных больных рекомендуется исключать больных с непереносимостью метотрексата. Аналогичного подхода следует придерживаться при изучении иных БПВП. В случае проведения подтверждающих² клинических исследований необходимо предусмотреть рандомизацию больных в три группы: изучаемый препарат, препарат сравнения, плацебо. В случае комбинации с метотрексатом он должен быть введен в схему терапии для каждой из трех групп. Основной целью изучения должно быть подтверждение не меньшей эффективности (non-inferiority) препарата по отношению к активному контролю с оценкой преимуществ по сравнению со стандартным лечением. В случае, если есть дополнительные данные из других исследований, подтверждающие большую безопасность препарата по сравнению с метотрексатом, это также следует оценивать в поддержку обоснованности использования принципа поиска не меньшей эффективности препарата (non-inferiority). Низкая активность РА может быть рекомендована в качестве основной конечной точки [33].

С целью учета особенностей хронического характера заболевания необходимо определять эффективность лечения с применением лекарственного средства и эффективность после его отмены. Особенно это актуально для изучения терапии при короткой продолжительности РА (до 6 месяцев) [34].

Препараты сравнения, сопутствующая терапия. Наиболее предпочтительным является сравнение с активным препаратом, учитывающее количество зарегистрированных для лечения РА лекарственных

² Подтверждающие исследования (Confirmatory Trials) представляют собой рандомизированные контролируемые исследования, в которых делается попытка доказать наличие у препарата обнаруженных в ранее проведенных исследованиях терапевтических эффектов.

средств. Выбор наиболее оптимального препарата сравнения зависит от предполагаемых свойств изучаемого препарата и от целевой популяции больных РА [35]. Поскольку существует несколько различных классов новых агентов с различными механизмами действия, выбор препарата сравнения должен быть обоснован. Демонстрация превосходства препарата над соответствующим препаратом сравнения по крайней мере в одном исследовании является более убедительной, чем демонстрация эквивалентности или не меньшей эффективности. Комбинированная терапия широко применяется у пациентов, не ответивших на монотерапию, при этом должно быть представлено обоснование применения комбинации и доз препаратов. Ожидания дополнительной или синергической активности комбинации должны быть подкреплены конкретными данными по изучению механизмов действия препаратов. Применение плацебо на непродолжительном сроке повышает надежность исследования. Однако использование плацебо должно быть ограничено только теми случаями, когда это сравнение является строго необходимым для значимого результата. В группе плацебо должна быть предусмотрена возможность перехода на активный препарат у неответчиков (терапия спасения). У больных, отвечающих на терапию, терапия плацебо может продолжаться.

Терапия спасения должна быть стандартизована, четко мониторироваться и фиксироваться у каждого пациента. Сроки оценки эффективности должны быть взаимосвязаны с возможностью применения терапии спасения для исключения возможности учета эффекта этой терапии [36].

Продолжительность клинических исследований. Требуемая длительность клинических исследований во многом зависит от выбранной цели, чувствительности применяемых методов оценки, фармакологических характеристик веществ и ожидаемой эффективности, а также от характеристик планируемой популяции больных РА. В целом выбор зависит от механизма действия препарата и должен быть обоснован. Должно быть достаточно времени, чтобы провести сопоставление эффекта и констатации исходов [37].

КЛИНИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Специфические нежелательные явления, нуждающиеся в мониторинге. До момента регистрации препарата должно быть получено достаточно данных по его безопасности. Достаточная надежность и широкий охват данных по безопасности особенно важен для случаев ранней стадии РА. Анализ данных о безопасности необходимо, в частности, сосредоточить на конкретных нежелательных явлениях (НЯ), связанных с механизмом действия или рисках, известных для конкретных классов лекарственных средств. Некоторые из специфических нежелательных явлений могут возникнуть уже после прекращения применения препарата, и они должны быть оценены и задокументированы в течение соответствующего периода после исследования. Наиболее часто наблюдаемыми НЯ у пациентов с РА являются

заболевания сердечно-сосудистой системы, и они должны мониторироваться надлежащим образом.

Также в клинических исследованиях необходимо продемонстрировать отсутствие у препарата свойств, способствующих усилению деструктивных изменений в суставах. Эти важные аспекты должны быть учтены в исследованиях, так как РА характеризуется длительным сохранением активности и требует пожизненного лечения, что делает раннее выявление НЯ очень важным. Раннее выявление побочного действия лекарственных средств, заметно влияющих на важные физиологические функции органов, является серьезной проблемой для любого вновь появившегося препарата нового класса и требует решения в рамках клинических исследований. Поэтому необходимо предусмотреть общие принципы эффективного решения этой проблемы в клинической программе разработки препарата для лечения РА [38].

Кроме того, клинические исследования должны оценить влияние препарата на иммунную систему, например, уровень сывороточных иммуноглобулинов и число лимфоцитов, чтобы лучше охарактеризовать его безопасность в долгосрочной перспективе. Для оценки клинической безопасности и определения характерных НЯ требуется период не менее 12 месяцев. Учитывая хроническое течение болезни и необходимость длительного лечения, желательна оценка безопасности препарата на протяжении и более длительных периодов. В случае изучения генно-инженерного биологического препарата принципиальным становится оценка его иммуногенности при длительных сроках применения [39].

Объем данных, необходимый для изучения безопасности препарата. База данных по безопасности препарата, которая будет представлена для оценки нового продукта, должна быть достаточно большой, учитывающая механизм действия препарата, особенности контроля безопасности и наличие сопутствующих заболеваний [40].

Если РА является дополнительным показанием для уже зарегистрированного продукта, данные по безопасности, полученные для других групп пациентов, могут быть достаточными при условии, что режим дозирования и способ применения препарата являются такими же. С учетом особенностей больных РА должны быть представлены достаточные данные, связанные с оценкой безопасности у пожилых пациентов в возрастных группах 65–74 года, 75–84 года, 85 лет и старше. Для лекарственных средств, имеющих существенные риски развития серьезных нежелательных явлений, должны быть получены данные для длительных сроков применения. Для дальнейшего изучения незарегистрированных НЯ, связанных с измененными условиями применения препарата, акцент должен быть сделан на постмаркетинговое наблюдение [41].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ регистрационной программы исследования препаратов базисной противовоспалительной (БПВП) терапии ревматоидного артрита включает

в себя изучение фармакологических свойств препарата, показаний к применению и описание целевой популяции пациентов. При определении показаний для применения препарата необходимо, чтобы была предоставлена информация по препарату с описанием его влияния на симптомы РА и функциональную активность пациента, и это должно быть подтверждено результатами клинических исследований. В информации о фармакологических свойствах препарата должен быть представлен перечень клинических показателей, которые будут контролироваться в исследовании для подтверждения эффективности терапии. В зависимости от фармакологических особенностей препарата может быть выбран основной критерий эффективности с использованием интегральных показателей. Ожидаемые результаты терапии должны быть согласованы с заявленным показанием. В исследованиях, подтверждающих эффективность препарата, должен максимально полно оцениваться его терапевтический потенциал. До момента регистрации препарата должно быть получено достаточно данных по его безопасности при применении у пациентов. Так как РА является хроническим заболеванием, то большинство препаратов применяется для длительной терапии или повторного применения, и это необходимо учитывать. Планируемая регистрационная программа должна содержать результаты клинических исследований с оценкой эффективности и безопасности, а также соответствовать жестким требованиям надлежущей клинической практики (ГСП) для обеспечения безопасности при долгосрочной терапии. Подробная информация о продукте должна быть составлена с учетом возможных рисков и соотношением их с длительностью и режимами применения препарата.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.
Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Насонов ЕЛ, Каратеев ДЕ, Балабанова РМ. Ревматоидный артрит. В кн.: Насонов ЕЛ, Насонова ВА, ред. *Ревматология. Национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. [Nasonov EL, Karateev DE, Balabanova RM. Rheumatoid arthritis. In: Nasonov EL, Nasonova VA. *Rheumatology. National guidance*. Moscow: GEOTAR-Media; 2008 (In Russ.)]
2. Combe B, Landewe R, Lukas C, Bolosiu HD, Breedveld F, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*. 2007;66(1):34–45. <https://doi.org/10.1136/ard.2005.044354>
3. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JW, Breedveld FC, Boumpas D, Burmester G, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of international task force. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(4):631–7. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.123919>
4. Korpela M, Laasonen L, Hannonen P, Kautiainen H, Leirisalo-Repo M, Hakala M, et al. Retardation of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis by initial aggressive treatment with disease-modifying antirheumatic drugs: five-year experience from the FIN-RACo study. *Arthritis Rheum*. 2004;50(7):2072–81. <https://doi.org/10.1002/art.20351>
5. Насонов ЕЛ, ред. *Ревматология. Клинические рекомендации*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. [Nasonov EL, ed. *Rheumatology. Clinical guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010 (In Russ.)]
6. Горячев ДВ, Тельных МЮ, Бунятян НД. Регуляторные подходы к оценке биоаналогов для лечения ревматических заболеваний. *Ведомости Научного Центра экспертизы средств медицинского применения*. 2017;7(3):155–63. [Goryachev DV, Telykh MYu, Bunyatyan ND. Regulatory approaches to evaluation of biosimilars for treatment of rheumatic diseases. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2017;7(3):155–63 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2017-7-3-155-163>
7. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2010;62(9):2569–81. <https://doi.org/10.1002/art.27584>
8. van der Woude D, Young A, Jayakumar K, Mertens BJ, Toes RE, van der Heijde D, et al. Prevalence of and predictive factors for sustained disease-modifying antirheumatic drug-free remission in rheumatoid arthritis: results from two large early arthritis cohorts. *Arthritis Rheum*. 2009;60(8):2262–71. <https://doi.org/10.1002/art.24661>
9. Aletaha D, Funovits J, Ward MM, Smolen JS, Kvien TK. Perception of improvement in patients with rheumatoid arthritis varies with disease activity levels at baseline. *Arthritis Rheum*. 2009;61(3):313–20. <https://doi.org/10.1002/art.24282>
10. de Wit MP, Smolen JS, Gossec L, van der Heijde D. Treating rheumatoid arthritis to target: the patient version of the international recommendations. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:891–5. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.146662>
11. Boers M. International consensus on which measures to use in rheumatoid arthritis clinical trials. *Neth J Med* 1993;43(1–2):55–8. PMID: 7694164
12. van Gestel AM, Anderson JJ, van Riel PL, Boers M, Haagsma CJ, Rich B, et al. ACR and EULAR improvement criteria have comparable validity in rheumatoid arthritis trials. *J Rheumatol*. 1999;26(3):705–11. PMID: 10090187
13. Fautrel B, Guillemin F, Meyer O, de Bandt M, Berthelot JM, Flipo RM, et al. Choice of second-line disease-modifying antirheumatic drugs after failure of methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: a decision tree for clinical practice based on rheumatologists' preferences. *Arthritis Rheum*. 2009;61(4):425–34. <https://doi.org/10.1002/art.24588>
14. van der Heijde D, Burmester G, Melo-Gomes J, Codreanu C, Martin Mola E, Pedersen R, et al. Inhibition of radiographic progression with combination etanercept and methotrexate in patients with moderately active rheumatoid arthritis previously treated with monotherapy. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(7):1113–8. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.094375>
15. Aletaha D, Landewe R, Karonitsch T, Bathon J, Boers M, Bombardier C, et al. Reporting disease activity in clinical trials of patients with rheumatoid arthritis: EULAR/ACR collaborative recommendations. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(10):1360–4. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.091454>
16. Bakker MF, Jacobs JW, Verstappen SM, Bijlsma JW. Tight control in the treatment of rheumatoid arthritis: efficacy and feasibility. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(Suppl. 3):iii56–iii60. <https://doi.org/10.1136/ard.2007.078360>
17. Bruynesteyn K, van der Heijde D, Boers M, Saudan A, Peloso P, Paulus H, et al. Determination of the minimal clinically important difference in rheumatoid arthritis joint damage of the Sharp/van der

- Heijde and Larsen/Scott scoring methods by clinical experts and comparison with the smallest detectable difference. *Arthritis Rheum.* 2002;46(4):913–20. PMID: 11953967
18. Aletaha D, Smolen J. The Simplified Disease Activity Index (SDAI) and the Clinical Disease Activity Index (CDAI): a review of their usefulness and validity in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2005; 23(5 Suppl. 39):S100–8. PMID: 16273793
 19. Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LH, Funovits J, et al. American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Arthritis Rheum.* 2011;63(3):573–86. <https://doi.org/10.1002/art.30129>
 20. Aletaha D, Ward MM, Machold KP, Nell VP, Stamm T, Smolen JS. Remission and active disease in rheumatoid arthritis: defining criteria for disease activity states. *Arthritis Rheum.* 2005;52(9):2625–36. <https://doi.org/10.1002/art.21235>
 21. Heiberg T, Kvien TK, Mowinckel P, Aletaha D, Smolen JS, Hagen KB. Identification of disease activity and health status cut-off points for the symptom state acceptable to patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(7):967–71. <https://doi.org/10.1136/ard.2007.077503>
 22. Smolen JS, Breedveld FC, Schiff MH, Kalden JR, Emery P, Eberl G, et al. A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. *Rheumatology (Oxford).* 2003;42(2):244–57. PMID: 12595618
 23. Smolen JS, Aletaha D. Activity assessments in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20(3):306–13. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e3282fbd382>
 24. Soubrier M, Dougados M. Selecting criteria for monitoring patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2005;72(2):129–34. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2004.05.007>
 25. Aletaha D, Smolen J, Ward MM. Measuring function in rheumatoid arthritis: Identifying reversible and irreversible components. *Arthritis Rheum.* 2006;54(9):2784–92. <https://doi.org/10.1002/art.22052>
 26. Bruynesteyn K, van der Heijde D, Boers M, Lassere M, Boonen A, Edmonds J, et al. Minimal clinically important difference in radiological progression of joint damage over 1 year in rheumatoid arthritis: preliminary results of a validation study with clinical experts. *J Rheumatol.* 2001;28(4):904–10. PMID: 11327274
 27. Machold KP, Stamm TA, Nell VP, Pflugbeil S, Aletaha D, Steiner G, et al. Very recent onset rheumatoid arthritis: clinical and serological patient characteristics associated with radiographic progression over the first years of disease. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(2):342–9. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kel237>
 28. van der Helm-van Mil AH, Detert J, le Cessie S, Filer A, Bastian H, Burmester GR, et al. Validation of a prediction rule for disease outcome in patients with recent-onset undifferentiated arthritis: moving toward individualized treatment decision-making. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2241–7. <https://doi.org/10.1002/art.23681>
 29. Gulfe A, Aletaha D, Saxne T, Geborek P. Disease activity level, remission and response in established rheumatoid arthritis: performance of various criteria sets in an observational cohort, treated with anti-TNF agents. *BMC Musculoskelet Disord.* 2009;10:41. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-10-41>
 30. Smolen JS, Aletaha D, Grisar JC, Stamm TA, Sharp JT. Estimation of a numerical value for joint damage-related physical disability in rheumatoid arthritis clinical trials. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(6):1058–64. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.114652>
 31. Schoels M, Kapral T, Stamm T, Smolen JS, Aletaha D. Step-up combination versus switching of non-biological disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis: results from a retrospective observational study. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(8):1059–65. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.061820>
 32. Boers M. Combination treatment in autoimmune diseases. Methodology of combination trials. *Springer Semin Immunopathol.* 2001;23(1–2):27–33. PMID: 11455857
 33. Kapral T, Demoschnig F, Machold KP, Stamm T, Schoels M, Smolen JS, et al. Remission by composite scores in rheumatoid arthritis: are ankles and feet important? *Arthritis Res Ther.* 2007;9(4):R72. <https://doi.org/10.1186/ar2270>
 34. Boers M, Anderson JJ, Felson DT. Deriving an operational definition of low disease activity state in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2003;30(5):1112–4. PMID: 12734919
 35. Suresh E, Lambert CM. Combination treatment strategies in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(9):1252–6. <https://doi.org/10.1136/ard.2004.032219>
 36. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, Anuntiyi J, Finney C, Curtis JR, et al. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;59(6):762–84. <https://doi.org/10.1002/art.23721>
 37. Ferraccioli GF, Gremese E, Tomietto P, Favret G, Damato R, Di Poi E. Analysis of improvements, full responses, remission and toxicity in rheumatoid patients treated with step-up combination therapy (methotrexate, cyclosporin A, sulphasalazine) or monotherapy for three years. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(8):892–8. PMID: 12154206
 38. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(9):1580–8. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.138461>
 39. Garnero P, Landewe R, Boers M, Verhoeven A, van der Linden S, Christgau S, et al. Association of baseline levels of markers of bone and cartilage degradation with long-term progression of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis: the COBRA study. *Arthritis Rheum.* 2002;46(11):2847–56. <https://doi.org/10.1002/art.10616>
 40. Puolakka K, Kautiainen H, Mottonen T, Hannonen P, Korpela M, Hakala M, et al. Early suppression of disease activity is essential for maintenance of work capacity in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: five-year experience from the FIN-RACo trial. *Arthritis Rheum.* 2005;52(1):36–41. <https://doi.org/10.1002/art.20716>
 41. Wolfe F, Rasker JJ, Boers M, Wells GA, Michaud K. Minimal disease activity, remission, and the long-term outcomes of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;57(6):935–42. <https://doi.org/10.1002/art.22895>

ОБ АВТОРАХ

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Тельных Марина Юрьевна, канд. мед. наук, эксперт 1-й категории управления № 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9879-4723>

Статья поступила 14.06.2018
После доработки 03.10.2018
Принята к печати 19.11.2018

AUTHORS

Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.), Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Marina Yu. Telnikh, Cand. Sci. (Med.), 1st Professional Category Expert of Division No. 2 on Medicinal Products' Efficacy and Safety of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9879-4723>

Article was received 14 June 2018
Revised 3 October 2018
Accepted for publication 19 November 2018



Взаимозаменяемость лекарственных препаратов флуконазола

Н. Д. Бунятян^{1,2}, Б. Б. Сысуюев^{2,*}, Е. А. Сокова^{1,2}, В. А. Евтеев¹

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 им. И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Резюме. В настоящее время препарат флуконазол, противогрибковое средство из группы производных триазола, представлен на российском фармацевтическом рынке большим количеством воспроизведенных препаратов. Важным вопросом рациональной фармакотерапии является доказательство идентичности референтного лекарственного препарата и воспроизведенного, с целью оценки взаимозаменяемости. Исходя из этого, целью работы являлся анализ лекарственных препаратов флуконазола в отношении лекарственных форм и способов введения, а также качественного и количественного состава действующих веществ, вспомогательных веществ для выявления возможных показателей, влияющих на взаимозаменяемость. Анализ номенклатуры и состава лекарственных препаратов флуконазола проведен в соответствии с данными Государственного реестра лекарственных средств Российской Федерации и Справочника лекарств РЛС®. Выявлено, что современная номенклатура лекарственных препаратов флуконазола представлена следующими формами выпуска: для парентерального применения, внутреннего применения, местного применения. Воспроизведенные препараты флуконазола в форме капсул отличаются от референтного препарата Дифлюкан® по составу вспомогательных веществ, по сроку хранения, упаковке. Обращает на себя внимание специфика субстанции флуконазола — наличие полиморфных модификаций, их особенностей, влияния параметров технологического процесса и хранения на их стабильность. Выявлено, что во многих случаях при производстве капсул флуконазола используется субстанция двух или более поставщиков, что может приводить к изменению показателей качества и биодоступности в процессе хранения. Полученные данные в дальнейшем могут быть использованы для оптимизации фармацевтической разработки и оценки взаимозаменяемости лекарственных препаратов флуконазола.

Ключевые слова: флуконазол; воспроизведенные препараты; взаимозаменяемость; вспомогательные вещества; фармацевтическая эквивалентность

Для цитирования: Бунятян НД, Сысуюев ББ, Сокова ЕА, Евтеев ВА. Взаимозаменяемость лекарственных препаратов флуконазола. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):246–251. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-246-251>

***Контактное лицо:** Сысуюев Борис Борисович; bsb500@yandex.ru

Interchangeability of Fluconazole Drugs

N. D. Bunyatyan^{1,2}, B. B. Sysuev^{2,*}, E. A. Sokova^{1,2}, V. A. Evteev¹

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 St., Moscow, 119991, Russian Federation

Abstract. Fluconazole — an antifungal agent belonging to the chemical class of triazole derivatives — is represented in the Russian pharmaceutical market by a large number of generic drugs. An important issue of rational pharmacotherapy is the demonstration of the reference and generic drugs' equivalence with the aim of assessing their interchangeability. Therefore, the aim of this study was to analyse fluconazole drug dosage forms and routes of administration, as well as qualitative and quantitative composition of active substances and excipients in order to identify characteristics that may affect interchangeability. The analysis of the nomenclature and composition of fluconazole drugs was carried out based on the data contained in the National Register of Medicinal Products of the Russian Federation and the Reference Book of Medicines®. It was shown that the current nomenclature of fluconazole drugs includes the following types of products: for parenteral use, internal use, and topical use. The generic fluconazole drugs in the form of capsules differ from the reference Diflucan® in excipients, shelf life, and packaging. The fluconazole substance has a number of specific features, i.e. the presence of polymorphic modifications, their specific characteristics, and the influence of the process parameters and storage on their stability. It was revealed that in many cases the production of fluconazole capsules involved the use of substances purchased from two or more suppliers, which may lead to changes in quality and bioavailability during storage. The obtained data can be used in the future for optimisation of pharmaceutical development and evaluation of interchangeability of fluconazole drugs.

Key words: fluconazole; generic drugs; interchangeability; excipients; pharmaceutical equivalence

For citation: Bunyatyan ND, Sysuev BB, Sokova EA, Evteev VA. Interchangeability of fluconazole drugs. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(4):246–251. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-246-251>

***Corresponding author:** Boris B. Sysuev; bsb500@yandex.ru

Флуконазол (альфа-(2,4-дифторфенил)-альфа-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-1H-1,2,4-триазол-1-этанол) был впервые синтезирован в 1981 г. производителем лекарственных средств Pfizer, зарегистрировавшим оригинальный лекарственный препарат Дифлюкан. Флуконазол — противогрибковое средство из группы производных триазола, являющееся мощным селективным ингибитором синтеза стеролов в клетке грибов.

Флуконазол показал активность *in vitro* и в клинических условиях в отношении *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*. Была также доказана активность флуконазола в отношении *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida lusitanae*. При приеме внутрь и внутривенном введении флуконазол продемонстрировал эффективность при оппортунистических микозах, в том числе вызванных *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium spp.* и *Trichophyton spp.* Выявлена активность флуконазола на моделях эндемичных микозов, включая инфекции, вызванные *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*. Флуконазол применяется для лечения криптококкового менингита, инвазивного кандидоза, хронического кожно-слизистого кандидоза, хронического атрофического кандидоза ротовой полости, вагинального кандидоза, острого или рецидивирующего дерматомикозов в случае, если местная терапия неприменима^{1,2} [1].

Лекарственные формы флуконазола системного действия входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. Несмотря на большое количество воспроизведенных препаратов флуконазола на российском фармацевтическом рынке, их клиническая эффективность и даже фармакологическая (микробиологическая) активность оцениваются неоднозначно [2].

В то же время использование качественных и более дешевых, чем референтные, воспроизведенных препаратов, может существенно сократить затраты на лечение, способствовать дополнительной конкуренции референтных и воспроизведенных лекарственных препаратов и совершенствованию потребительских характеристик, а также более широкому применению современных международных рекомендаций по осуществлению медикаментозной терапии [3].

Важным вопросом рациональной фармакотерапии является доказательство идентичности референтного лекарственного препарата и воспроизведенного с целью оценки их взаимозаменяемости. Взаимозаменяемый лекарственный препарат определяется как лекарственный препарат с доказанной терапевтической эквивалентностью или биоэквивалентностью в отношении референтного лекарственного препарата, имеющего эквивалентные ему качественный и количественный состав действующих веществ, состав вспомогательных веществ, лекарственную форму и способ введения³ [1, 3]. Таким образом, одним из этапов определения взаимозаме-

няемости является оценка фармацевтической эквивалентности препаратов.

Цель работы — анализ воспроизведенных и референтных лекарственных препаратов флуконазола в отношении лекарственных форм и способов введения, а также качественного и количественного состава действующих веществ, вспомогательных веществ с целью выявления возможных показателей, влияющих на взаимозаменяемость.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ номенклатуры лекарственных препаратов флуконазола проведен в соответствии с данными Государственного реестра лекарственных средств Российской Федерации (далее — ГРЛС) и Справочника лекарств РЛС® по состоянию на 15.06.2018. Также использованы данные информационно-поисковых и библиотечных баз eLIBRARY, Cyberleninka, PubMed и патентных поисковых систем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Современная номенклатура лекарственных препаратов флуконазола согласно ГРЛС представлена следующими формами выпуска: для парентерального применения, внутреннего применения, местного применения. Препараты для местного применения представлены суппозиториями вагинальными производства ЗАО «Фирн М»: Вагисепт®, содержащими метронидазол (250 мг) + флуконазол (50 мг); Вагиферон®, содержащими интерферон альфа-2b (не менее 50000 МЕ) + метронидазол (250 мг) + флуконазол (150 мг); гелем для наружного применения 0,5 % Флюкорем производства ООО «Ремедия», Россия. Однако большую часть составляют лекарственные формы системного действия — капсулы и таблетки для перорального применения, порошок для приготовления суспензии для приема внутрь, сироп, а также раствор для внутривенного введения.

Производителями предлагаются преимущественно следующие формы выпуска флуконазола:

- капсулы дозировкой 50, 100, 150 и 200 мг по 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, помещенные в упаковки ячеиковые контурные, контейнеры, банки, блистеры или стрипы;

- раствор для инфузий 2 мг/мл по 50 и 100 мл в бутылках и/или флаконах, упакованных в пачки картонные.

Основные производители твердых лекарственных форм препаратов флуконазола (капсул и таблеток) в соответствии с ГРЛС номенклатуры лекарственных препаратов представлены в таблице 1.

На основании представленных в таблице 1 данных можно заключить, что доминирующими являются воспроизведенные препараты флуконазола в форме капсул. Преобладающей дозировкой флуконазола являются 50 и 150 мг. Референтный препарат в форме капсул выпускается с дозировкой 50, 100, 150 мг.

Лекарственные препараты считаются фармацевтическими эквивалентами при условии, если содер-

¹ Государственный реестр лекарственных средств. 2018. <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>

² Справочник лекарств РЛС®. <https://www.rlsnet.ru>

³ Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

Таблица 1. Номенклатура твердых лекарственных препаратов флуконазола (по данным Государственного реестра лекарственных средств) для внутреннего применения

Table 1. The nomenclature of fluconazole solid dosage forms for internal use (according to the National Register of Medicinal Products)

Наименование лекарственного препарата	Производитель или обладатель регистрационного удостоверения	Форма выпуска препарата
Дифлюкан®	Пфайзер Инк, США Пфайзер ПГМ, Франция (референтный)	Капсулы, 50 мг, 100 мг, 150 мг
Флуконазол	ЗАО «Медисорб», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флюкостат®	Публичное акционерное общество «Отисифарм», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ООО «Астрафарм», Украина	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	АО «Фармпроект», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ООО «Озон», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ЗАО «Биоком», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ООО «Производство Медикаментов», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ЗАО «Аптеки 36.6», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	РЕПЛЕК ФАРМ ООО Скопье, Республика Македония	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ООО «Барнаульский завод медицинских препаратов», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол-Тева	Тева Фармацевтические Предприятия Лтд, Израиль	Капсулы, 50 мг, 100 мг, 150 мг
Флуконазол Сандоз®	Сандоз д.д., Словения	Капсулы, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг
Флуконазол Гексал	Гексал АГ, Германия	Капсулы, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг
Флуконазол	АО «Вертекс», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ПАО «Валента Фарм», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол ШТАДА	ОАО «Нижфарм», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ЗАО «Макиз-Фарма», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол	ЗАО «Технолог», Украина	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 50 мг, 100 мг, 150 мг
Флуконазол	Хемофарм А.Д., Сербия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконазол Канон	ЗАО «Канонфарма продакшн», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Веро-Флуконазол	ЗАО «Верофарм», Россия	Капсулы, 0,05 г, 0,1 г, 0,15 г
Флуконазол-OBL	АО «Фармацевтическое предприятие «Оболенское», Россия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флуконоорм	Русан Фарма Лтд, Индия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Микомакс®	АО «Санофи Россия», Россия; Зентива к.с., Чешская Республика	Капсулы, 100 мг, 150 мг
Медофлюкон®	Медокеми Лтд, Кипр	Капсулы, 100 мг, 150 мг
Фангифлю	Эдж Фарма Прайвет Лимитед, Индия	Капсулы, 150 мг
Микосист®	ОАО «Гедеон Рихтер», Венгрия	Капсулы, 50 мг, 100 мг, 150 мг
Дисорел-Сановель	Сановель Фармако-индустриальная торговая компания, Турция	Капсулы, 150 мг
Микофлюкан®	Д-р Редди'с Лабораторис Лтд, Индия	Таблетки, 50 мг, 150 мг
Проканазол	Протекх Байосистемс Пвт.Лтд, Индия	Капсулы, 50 мг, 150 мг
Флукозид	Кадила Хэлткэр Лтд, Индия	Капсулы 150 мг
Дифлазон®	КРКА, д.д., Ново место, Словения	Капсулы, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг
Цискан®	Торрент Фармасьютикалс Лтд, Индия	Капсулы, 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг
Форкан®	Ципла Лимитед, Индия	Капсулы, 50 мг, 150 мг, 200 мг

жат одинаковое количество одной и той же активной субстанции в одной и той же лекарственной форме и характеризуются сопоставимыми стандартами качества. При этом фармацевтический эквивалент может отличаться от оригинала по таким характеристикам, как пространственная конфигурация, механизм выведения, по составу вспомогательных веществ, по сроку хранения [4–6].

При оценке эквивалентности лекарственных препаратов принимаются во внимание физико-химические свойства действующего вещества (степень дисперсности, полиморфизм и др.). Полиморфные модификации лекарственного вещества могут обладать разной биологической активностью из-за отличий в растворимости. Изменения полиморфной модификации могут происходить под влиянием температуры, давления и других факторов, воздействующих на субстанцию в процессе получения лекарственной формы [4, 7].

Следует отметить, что, согласно данным Pfizer, установлено наличие полиморфных модификаций I, II, III и гидрата флуконазола. Для полиморфной модификации I флуконазола характерно несоответствие требованиям высокой растворимости согласно критериям биофармацевтической классификационной системы (БКС, BCS). Имеются данные, что модификация II флуконазола под действием давления прессования 200 кг/см² претерпевает превращение в модификацию I, что необходимо учитывать как при фармацевтической разработке таблетированных форм флуконазола, так и при оценке взаимозаменяемости препарата в форме таблеток [7–10].

Сравнительные исследования субстанций флуконазола производства Pfizer (образец А) и воспроизведенных субстанций производства Индии (образцы В и С) показали различия полиморфной структуры: образец А содержал модификацию III, образец В — полиморфную форму II, образец С представлял собой смесь модификаций III, II и моногидрата [8].

Отмечается, что несоблюдение условий хранения, в частности режимов влажности и температуры, также влияет на полиморфные превращения флуконазола [11].

Анализ источников получения субстанций флуконазола, используемых для производства воспроизведенных препаратов в форме капсул, показал, что отечественные предприятия используют субстанции преимущественно следующих производителей: ЗАО «Активный Компонент», Россия; «Кимика Синтетика» С.А., Испания; «Хетеро Драгс Лимитед», Индия; «Мантена Лабораториз Лимитед», Индия; «Ауктус Фарма Лимитед», Индия, а также ряда других индийских компаний. Следует отметить, что наряду с «Пфайзер ПГМ» и «Пфайзер Инк» (капсулы Дифлюкан®) субстанцию собственного производства использует ОАО «Гедеон Рихтер», Венгрия (капсулы Микосист®). Во многих случаях используется субстанция двух или более поставщиков, что может приводить к изменению показателей качества и биодоступности в результате хранения капсул.

Одним из методов подтверждения фармацевтической эквивалентности является тест на растворимость. Отмечается, что флуконазол в твер-

дых лекарственных формах системного действия с немедленным высвобождением в полиморфной модификации II и III относится к I классу по БКС (высокая растворимость и полная абсорбция) и характеризуется широким терапевтическим индексом. Таким образом, для твердых лекарственных форм флуконазола возможно использование процедуры биовейвера для полиморфной модификации II и III, их смеси или других форм, характеризующихся высокой растворимостью. В ходе тестирования испытуемое лекарственное средство и референтный препарат должны показать переход в среду растворения за 15 мин не менее 85 % активной субстанции при испытании в каждом из буферных растворов с рН 6,8; 4,5 и 1,2 и одинаковый профиль растворения [7, 12, 13].

Одним из этапов оценки фармацевтической эквивалентности является сравнение состава вспомогательных веществ референтного препарата и воспроизведенного препарата. Отмечается необходимость оценить наличие таких вспомогательных веществ, как сурфактанты (например, полисорбат-80) и сахарозаменители (манит и сорбит), которые могут повлиять на показатели абсорбции препаратов при содержании в большом количестве [6, 13, 14].

Был проведен сравнительный анализ состава вспомогательных веществ лекарственных препаратов флуконазола в форме капсул, которые имеют максимальное значение индекса Вышковского (от 0,7751 до 0,0011), отражающее число поисковых запросов в Интернете: Дифлюкан® (Пфайзер ПГМ, Франция); Флуконазол производства ООО «Озон», Россия, а также «Реплек Фарм Лтд Скопье», Республика Македония; ЗАО «Биоком», Россия; ООО «Астрафарм», Украина; АО «Медисорб», Россия; ООО «Барнаульский завод медицинских препаратов», Россия; Флюкостат® (ОАО «Фармстандарт-Лексредства», Россия); Микосист® (ОАО «Гедеон Рихтер», Венгрия); Микомак® (АО «Санофи Россия», Россия); Дифлазон® (KRKA, Словения); Форкан® (Ципла Лимитед, Индия); Флуконазол Сандоз® (Сандоз д.д., Словения); Флуконазол-Тева (Тева Фармацевтические Предприятия Лтд, Израиль), а также ряда других: Флуконазол ШТАДА (ОАО «Нижфарм», Россия); Флуконазол Канон (ЗАО «Канонфарма продакшн», Россия). Результаты представлены в таблице 2.

Как показал анализ вспомогательных веществ, используемых в составе капсул (за исключением компонентов оболочки), у препаратов Дифлазон®, Флюкостат® и Флуконазол-Тева наблюдалось совпадение по составу вспомогательных веществ с референтным препаратом или имелись незначительные различия в их количественном содержании. Основным вспомогательным веществом в составе капсул флуконазола в дозировке 150 мг является лактозы моногидрат (лактоза), выполняющий функцию разбавителя. Отдельные препараты содержали виды крахмала, отличные от имеющихся в составе Дифлюкан® (крахмал картофельный, крахмал прожелатинизированный). Флуконазол капсулы производства ООО «Барнаульский завод медицинских препаратов» отличаются отсутствием в составе смеси лактозы при

Таблица 2. Сравнительный анализ состава вспомогательных веществ флуконазола в капсулах 150 мг

Table 2. Comparative analysis of excipients present in fluconazole capsules 150 mg

Наименование вспомогательных веществ	Содержание в воспроизведенных лекарственных препаратах, мг	Содержание в референтном препарате, мг
Лактозы моногидрат	35,25–192,65	149,123
Крахмал кукурузный	33,4–51,00	49,5
Крахмал картофельный	7,2–129	–
Кремния диоксид коллоидный, безводный	0,23–4,8	0,352
Натрия лаурилсульфат	0,23–0,375	0,352
Магния стеарат	2,07–7,5	3,173
Крахмал прежелатинизированный	18,98–106,65	–
Повидон (поливинилпирролидон)	1,8–18	–
Кроскармеллоза натрия	11,8	–
Целлюлоза микрокристаллическая	87,9	–
Тальк	0,2–9,9	–

высоком содержании крахмала 129 мг. Отмечалось наличие таких вспомогательных веществ, как тальк, целлюлоза микрокристаллическая, кроскармеллоза натрия и повидон (поливинилпирролидон). Содержание натрия лаурилсульфата (сурфактанта) в рассмотренных воспроизведенных препаратах согласно ГРЛС и Справочнику лекарств РЛС® не превышает существенно его количество в референтном препарате [14].

Предусмотрена упаковка референтного препарата в блистеры, помещенные в картонные пачки, в то время как для воспроизведенных препаратов зарубежного производства в качестве первичной упаковки преимущественно используются блистеры, контейнеры и стрипы, реже упаковки ячейковые контурные. Препараты российского производства чаще всего упаковывают в упаковки ячейковые контурные. Для ряда препаратов отечественного производства в качестве первичной упаковки обозначена банка.

Обращает на себя внимание различие в сроках годности и условиях хранения референтного и воспроизведенных препаратов флуконазола в форме капсул. Так, срок годности референтного препарата флуконазола 5 лет в условиях хранения при температуре не выше 30 °С. Аналогичный срок годности при том же режиме хранения для лекарственных препаратов Микосист® (ОАО «Гедеон Рихтер», Венгрия). Для препаратов Флуконазол (ЗАО «Медисорб», Россия), Флокостат® (ПАО «Отисифарм», Россия), Микомакс® (Зентива к.с, Чешская республика) и ряда других срок годности составляет 3 года при хранении в сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С. Срок годности для капсул Веро-Флуконазол (ОАО, «Верофарм», Россия), Флуконазол (ЗАО «Фармпроект», Россия) и Проконазол («Протекх Биосистемс Pvt.Лтд», Индия) составляет 2 года при хранении в сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25 °С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная номенклатура лекарственных препаратов флуконазола представлена следующими формами выпуска: для парентерального применения, внутреннего применения, местного применения. Выявлено, что воспроизведенные препараты флуконазола в форме капсул отличаются от референтного Дифлюкан® (Пфайзер ПГМ, Франция) по составу вспомогательных веществ, по сроку хранения, упаковке. Обращает на себя внимание специфика субстанции флуконазола: наличие полиморфных модификаций, их особенностей и влияния параметров технологического процесса и хранения на их стабильность. Выявлено, что во многих случаях при производстве капсул флуконазола используется субстанция двух или более поставщиков, что может приводить к изменению показателей качества и биодоступности препарата в процессе хранения. Полученные данные в дальнейшем могут быть использованы для оптимизации фармацевтической разработки и оценки взаимозаменяемости лекарственных препаратов флуконазола.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Духанин АС. Выбор системного противогрибкового препарата для лечения вагинального кандидоза: оригинальный или генерический препарат флуконазола? *Медицинский совет*. 2015;(9):18–25. [Dukhanin AS. Choosing a systemic antifungal agent for the treatment of vaginal candidiasis: original or generic fluconazole? *Meditsinskiy sovet = Medical Advice*. 2015;(9):18–25 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2015-9-18-25>
2. Желтикова ТМ, Глушакова АМ. Оценка фунгицидной активности различных системных антимикотиков in vitro. *Медицинский совет*. 2010;(3–4):32–7. [Zheltikova TM, Glushakova AM. Evaluation of fungicidal activity of different systemic antifungals in vitro. *Meditsinskiy sovet = Medical Advice*. 2010;(3–4):32–7 (In Russ.)]
3. Романов БК, Бунятян НД, Олефир ЮВ, Бондарев ВП, Прокофьев АБ, 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, Prokofyev AB, Yagudina RI, et al. Recommendations on the procedure for determining the interchangeability of medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2015;(2):3–8 (In Russ.)]
4. Рейхарт ДВ. Исследование биоэквивалентности лекарственных препаратов в России. *Фармация*. 2010;(3):5–8. [Reikhardt DV. Investigation of the bioequivalence of drugs in Russia. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2010;(3):5–8 (In Russ.)]
5. Сысуюев ББ, Данилина ТФ, Ахмедов НМ, Китаева ТА. Фармацевтическая разработка как эффективный инструмент дизайна мягких лекарственных форм в рамках гармонизации требований GMP (на примере геля для стоматологии). *Современные проблемы науки и образования*. 2015;(4):569. [Sysuev BB, Danilina TF, Akhmedov NM, Kitaeva TA. Pharmaceutical development as an effective tool for the design soft dosage forms in the framework of the harmonization of the requirements of GMP. *Sovremennye problem nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2015;(4):569 (In Russ.)]
6. Кочеровец ВИ, Бунятян НД, Олефир ЮВ, Аляутдин РН, Романов БК, Прокофьев АБ. Критерии взаимозаменяемости медицинских препаратов левофлоксацина в Российской Федерации. *Химико-фармацевтический журнал*. 2016;50(10):41–6. [Kocherovets VI, Bunyatyan ND, Olefir YuV, Alyautdin RN, Romanov BK, Prokofyev AB. Criteria for interchangeability of levofloxacin based medicinal products in the Russian Federation. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016;50(10):41–6 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2016-50-10-41-46>
7. Charoo N, Cristofolletti R, Graham A, Lartey P, Abrahamson B, Groot DW, et al. Biowaiver monograph for immediate-release solid oral dosage forms: fluconazole. *J Pharm Sci*. 2014;103(12):3843–58. <https://doi.org/10.1002/jps.24181>
8. Bourichi H, Brik Y, Hubert P, Cherrah Y, Bouklouze A. Solid-state characterization and impurities determination of fluconazole generic products marketed in Morocco. *J Pharm Anal*. 2012;2(6):412–21. <https://doi.org/10.1016/j.jpaha.2012.05.007>
9. Крейдл Я, Цибула Л, Сантаи Ч, Фаркаш Е, Дзутшне ЮИ, Хегедюш И и др. Способ синтеза моногидрата флуконазола, способ синтеза кристаллической модификации II флуконазола (варианты) и способ синтеза кристаллической модификации I флуконазола Патент Российской Федерации, № 2260591; 2005. [Kreydl Ya, Tsubula L, Santai Ch, Farkash E, Deutshne Yul, Khegedyush I, et al. Method for synthesis of fluconazole monohydrate, method for synthesis of crystalline modification II of fluconazole (variants) and method for synthesis of crystalline modification I of fluconazole. Patent of the Russian Federation, No. 2260591; 2005 (In Russ.)]
10. Desai SR, Dharwadkar SR. Study of process induced polymorphic transformations in fluconazole drug. *Acta Pol Pharm*. 2009;66(2):115–22. PMID: 19719043
11. Товкес АН, Смехова ИЕ. Изучение влияния условий и сроков хранения на высвобождение флуконазола из капсул различных производителей. *Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. 2014;9(2):798–9. [Tovkes AN, Smekhova IE. Study of conditions and terms effect on the release of fluconazole from capsules of different manufacturers. *Zdorovie — osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya = Health — the Basis of Human Potential: Problems and Their Solutions*. 2014;9(2):798–9 (In Russ.)]
12. Смехова ИЕ, Перова ЮМ, Кондратьева ИА, Родыгина АН, Турецкова НН. Тест «Растворение» и современные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2013;1(2):50–61. [Smekhova IE, Perova YuM, Kondratieva IA, Rodygina AN, Turetskova NN. Dissolution studies and modern ways to equivalence evaluation of drug products. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug Development and Registration*. 2013;1(2):50–61 (In Russ.)]
13. Коношкова АН, Савченко АЮ, Давыдова КС, Раменская ГВ, Кукес ВГ. Обзор требований к исследованиям биоэквивалентности генерических лекарственных средств. Требования FDA. *Ремедиум*. 2011;(5):54–6. [Konyushkova AN, Savchenko AYU, Davydova KS, Ramenskaya GV, Kukes VG. Review of the requirements for bioequivalence studies of generic drugs. FDA guidelines. *Remedium = Remedium*. 2011;(5):54–6 (In Russ.)]
14. Лекарственное средство, обладающее противогрибковой активностью. Патент Российской Федерации, № 2397765; 2010. [Medication possessing antifungal activity. Patent of the Russian Federation, No. 2397765; 2010 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ

Бунятян Наталья Дмитриевна, д-р фарм. наук, проф., главный научный сотрудник Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, заведующий кафедрой фармацевтической технологии и биотехнологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>

Сысуюев Борис Борисович, д-р фарм. наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>

Сокова Елена Андреевна, канд. мед. наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела взаимодействия лекарственных средств и рациональной фармакотерапии Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, доцент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6389-2099>

Евтеев Владимир Александрович, младший научный сотрудник отдела персонализированной медицины и клинической фармакогенетики Центра клинической фармакологии ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>

Статья поступила 04.07.2018
После доработки 10.10.2018
Принята к печати 19.11.2018

AUTHORS

Natalia D. Bunyatyan, Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Chief Research Associate of the Clinical Pharmacology Centre of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Head of the Department of Pharmaceutical Technology and Biotechnology of Sechenov First Moscow State Medical University, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0936-5551>

Boris B. Sysuev, Dr. Sci. (Pharm.), Assistant Professor, Professor of the Department of Pharmaceutical Technology and Biotechnology of Sechenov First Moscow State Medical University, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9933-1808>

Elena A. Sokova, Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Leading Research Associate of the Department of Drug Interactions and Rational Pharmacotherapy of the Clinical Pharmacology Centre of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Assistant Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases of Sechenov First Moscow State Medical University, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6389-2099>

Vladimir A. Evteev, Junior Research Associate of the Department of Personalised Medicine and Clinical Pharmacogenetics of the Clinical Pharmacology Centre of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6150-5796>

Article was received 4 June 2018
Revised 10 October 2018
Accepted for publication 19 November 2018



Сравнительная оценка методов количественного определения антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах

Н. П. Антонова, И. М. Моргунов*, С. С. Прохвятилова, Е. П. Шефер, А. М. Калинин

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

Использование для количественного определения антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах методик, различающихся условиями анализа, вызывает необходимость корректировки установленных норм для суммы антраценпроизводных в соответствии с используемой методикой определения.

Цель работы: провести сравнительное исследование различных фармакопейных методик количественного определения антраценпроизводных, установленных норм содержания действующих веществ и возможности замены норм с учетом используемой методики испытания. **Материалы и методы:** количественное определение суммы антраценпроизводных в образцах крушины ольховидной коры (кора измельченная и порошок) и сенны листьев (листья измельченные и порошок) проводилось в соответствии с методиками Государственной фармакопеи Российской Федерации XI и XIII изданий и Европейской фармакопеи. **Результаты:** анализ отечественных и зарубежных фармакопейных требований по определению антраценпроизводных в препаратах слабительного действия выявил различия используемых экстрагентов в методиках анализа, условий детектирования и способов расчета полученных результатов. Экспериментально обоснованы использование 70 % спиртовых растворов в качестве оптимального экстрагента и целесообразность замены опосредованного стандарта кобальта хлорида на использование удельных показателей поглощения глюкофрангулина А и сеннозида В. Установлено, что нормы содержания суммы антраценпроизводных должны выбираться в соответствии с используемыми условиями экстрагирования. **Выводы:** проведенные сравнительные теоретические и экспериментальные исследования позволили определить оптимальные условия анализа и соответствующие им нормы содержания суммы антраценпроизводных при проведении контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов по показателю «Количественное определение».

Ключевые слова: спектрофотометрия; антраценпроизводные; лекарственное растительное сырье (ЛРС); лекарственные растительные препараты (ЛРП); фармакопейные методы анализа

Для цитирования: Антонова НП, Моргунов ИМ, Прохвятилова СС, Шефер ЕП, Калинин АМ. Сравнительная оценка методов количественного определения антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):252–261. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-252-261>

***Контактное лицо:** Моргунов Игорь Михайлович; Morgunov@expmed.ru

Comparative Evaluation of Assay Methods Used to Determine Anthracene Derivatives in Herbal Substances and Herbal Medicinal Products

N. P. Antonova, I. M. Morgunov*, S. S. Prokhvatilova, E. P. Shefer, A. M. Kalinin

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

Abstract: The use of assay methods with different test conditions for determination of anthracene derivatives in herbal substances and herbal medicinal products requires adjustment of the established limits for total anthracene derivatives content based on the test method used. **The aim of the study** was to compare different pharmacopoeial methods of quantitative determination of anthracene derivatives, and established limits for the active substance content, and to analyse the possibility of adjusting the limits based on the test method used. **Materials and methods:** the total content of anthracene derivatives was measured in the samples of frangula bark (fragmented bark and powder) and senna leaves (fragmented leaves and powder) using the test methods described in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (XI and XIII editions), and the European Pharmacopoeia. **Results:** the analysis of Russian and foreign pharmacopoeial requirements for determination of anthracene derivatives in laxative herbal medicinal products demonstrated differences in extraction solvents, extraction conditions, and calculation methods used. The experiments showed that the optimal extraction solvent was 70 % alcohol solutions, and that an indirect cobaltic chloride reference standard should be replaced by specific absorbance of glucofrangulin A and sennoside B. It was shown that the limits for total anthracene derivatives content should be chosen based on the extraction conditions used. **Conclusions:** comparative theoretical research and experimental studies helped to determine optimal assay conditions and respective limits for total anthracene derivatives content to be used in quality control of herbal substances and herbal medicinal products.

Key words: spectrophotometry; anthracene derivatives; herbal substances; herbal medicinal products; pharmacopoeial methods

For citation: Antonova NP, Morgunov IM, Prokhvatilova SS, Shefer EP, Kalinin AM. Comparative Evaluation of Assay Methods Used to Determine Anthracene Derivatives in Herbal Substances and Herbal Medicinal Products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2018;8(4):252–261. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-252-261>

***Corresponding author:** Igor M. Morgunov; Morgunov@expmed.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Слабительные средства являются широко используемой группой лекарственных средств для лечения функциональных расстройств пищеварительной системы. В медицинской практике наряду с синтетическими слабительными средствами применяются слабительные растительного происхождения, содержащие антраценпроизводные [1, 2].

Для количественного определения антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье (ЛРС) и лекарственных растительных препаратах (ЛРП) в качестве фармакопейного используется метод спектрофотометрии [3]. Существуют несколько вариантов этого метода, имеющих общий принцип пробоподготовки: экстракция → гидролиз и окисление → переэкстракция с образованием окрашенных фенолятов. В Государственную фармакопею СССР X и XI изданий (ГФ X и ГФ XI соответственно), а также в Государственную фармакопею Российской Федерации XIII издания (ГФ XIII) включен модифицированный метод Аутерхоффа для количественного определения суммы антрагликозидов в коре крушины в пересчете на истизин, основанный на том, что гидролиз гликозидов проводится одновременно с экстракцией ледяной уксусной кислотой^{1,2}.

При замене этой методики на методику определения суммы антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А, аналогичную методикам Европейской фармакопеи и Британской фармакопеи, нормы содержания действующих веществ не были скорректированы в сторону увеличения до норм, установленных зарубежными фармакопеями. В сложившейся ситуации возможен выход на рынок низкокачественного ЛРС и препаратов на его основе (ЛРП).

Другие методы для количественного определения антраценпроизводных, такие как хроматоспектрофотометрия и денситометрия, не получили широкого распространения [4, 5].

Цель работы — провести сравнительное исследование различных фармакопейных методик количественного определения антраценпроизводных, установленных норм содержания действующих веществ и возможности замены норм с учетом используемой методики испытания.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести анализ отечественных и зарубежных фармакопейных требований по определению антраценпроизводных в ЛРС и ЛРП слабительного действия;

- систематизировать полученные данные и провести сравнительные экспериментальные исследования для определения оптимальных условий анализа и норм по показателю «Количественное определение», соответствующих используемому методу экстрагирования антраценпроизводных.

В отечественную фармакопею в настоящее время включены несколько видов лекарственного растительного сырья, содержащего антраценпроизводные. Для исследований были выбраны два объекта, которые наиболее часто используются в медицинской практике: Крушины ольховидной кора и Сенны листья.

В качестве образцов лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов использовались:

- Крушины ольховидной кора, 2 серии (кора измельченная и порошок);

- Сенны листья, 2 серии (листья измельченные и порошок).

Каждый образец анализировался в виде трех параллельных проб, по результатам измерения которых рассчитывалось относительное стандартное отклонение (RSD).

Оборудование:

- спектрофотометр Cary 100 varian, сушильный шкаф Binder ED53, аналитические весы Mettler Toledo XPE205DR, баня водяная Julabo TW-12.

Для анализа использовались методы количественного определения антраценпроизводных Крушины ольховидной коры и Сенны листьев в соответствии с ГФ XI, ГФ XIII и зарубежными фармакопеями^{3,4,5,6}.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования был проведен сравнительный анализ методов количественного определения антраценпроизводных крушины, включенных в различные фармакопеи. Результаты представлены в таблице 1.

В фармакопейную статью ГФ XIII «Крушины ольховидной кора» (ФС 2.5.0021.15) включены две методики количественного определения антраценпроизводных, причем норма содержания антраценпроизводных одинаковая для обоих методов, независимо от способа пробоподготовки. Регламентировано, что и сумма антрагликозидов в пересчете на истизин, определяемая по модифицированному методу Аутерхоффа, и сумма антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А, определяемая после экстракции сырья 80 % раствором этанола, должна быть не менее 4,5 %.

По методике Европейской фармакопеи экстракция сырья для определения антраценпроизводных крушины проводится 70 % раствором метанола, при этом норма извлечения составляет не менее 7,0 % суммы глюкофрангулинов в пересчете на глюкофрангулин А. Согласно данным литературы, именно концентрация спиртового раствора 70 % является оптимальной для экстракции антраценпроизвод-

¹ Государственная фармакопея СССР. 11-е изд. М.: Медицина; 1990.

² Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1–3. М.; 2015.

³ European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg; 2017.

⁴ British Pharmacopoeia. London; 2016.

⁵ United States Pharmacopoeia. 39th ed. 2016.

⁶ Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2. Минск; 2008.

ных крушины, так как позволяет наиболее полно провести извлечение анализируемых веществ [6].

Методы 1, 2 и 3 (табл. 1) отличаются применяемыми стандартными образцами. В соответствии с методом 1 содержание производных антрацена в пересчете на истизин вычисляют по калибровочному графику для оптической плотности растворов кобальта хлорида различной концентрации. Методами 2 и 3 предусмотрено использование удельного показателя поглощения стандартного образца глюкофрангулина А.

На втором этапе исследования было проведено сравнительное экспериментальное определение суммы антраценпроизводных параллельно в двух в образцах коры крушины (кора измельченная и порошок) методами 1, 2 и 3, выбранными на основании анализа таблицы 1. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Экстракция биологически активных веществ из ЛРС/ЛРП — это сложный процесс, зависящий от сочетания свойств конкретного сырья и экстрагента: способности к смачиванию, коэффициента поглощения, диффузионной способности, десорбирующих свойств и т. д. [7].

При сравнении результатов анализа коры крушины, полученных тремя методами (табл. 2), выяв-

лено несоответствие качества испытуемых образцов по содержанию суммы антраценпроизводных в пересчете на истизин. Также установлено, что результаты определения суммы антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А, полученные методами 2 и 3, различаются между собой. При проведении анализа методом 2 получены более низкие результаты, чем при анализе, проведенном методом 3. Это объясняется различием в концентрации спирто-водной смеси, используемой в качестве экстрагента.

Установлено также, что использование кобальта хлорида в качестве опосредованного стандарта (метод 1) может увеличить ошибку определения, связанную с несовпадением максимумов поглощения испытуемого и стандартного растворов. Максимум поглощения щелочно-аммиачного раствора антрахинонов коры крушины, полученного методом 1, находится в области длин волн 531 ± 3 нм (рис. 1).

Максимум поглощения стандартных растворов кобальта хлорида не совпадает с максимумом испытуемого раствора и находится в области длин волн 510 ± 2 нм (рис. 2).

В соответствии с методом 1 измерение оптической плотности испытуемого раствора предусмотрено проводить при длине волны 540 нм, а растворов кобальта хлорида при длине волны около 530 нм,

Таблица 1. Сравнение фармакопейных методов количественного определения антраценпроизводных в коре крушины

Название фармакопей	Метод	Определяемая группа веществ и норма	Длина волны
ГФ XI и ГФ XIII	Фотоколориметрический	Сумма антрагликозидов в пересчете на истизин не менее 4,5 % (модифицированный метод Аутерхоффа) (метод 1)	540 нм
ГФ XIII	Спектрофотометрический	Сумма антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А не менее 4,5 % (метод 2)	515 нм
Государственная фармакопея Республики Беларусь	Спектрофотометрический	Сумма глюкофрангулинов в пересчете на глюкофрангулин А не менее 7,0 %	515 нм
Британская фармакопея	Спектрофотометрический	Сумма глюкофрангулинов в пересчете на глюкофрангулин А не менее 7,0 %	515 нм
Европейская фармакопея	Спектрофотометрический	Сумма глюкофрангулинов в пересчете на глюкофрангулин А не менее 7,0 % (метод 3)	515 нм
Фармакопея США	Спектрофотометрический	Сумма производных гидроксидантрацена в пересчете на каскарозид А не менее 7,0 %	515 нм

Таблица 2. Результаты сравнительного количественного определения суммы антраценпроизводных коры крушины тремя различными методами

Методы и нормы	Наименование ЛРП; лекарственная форма	Результат, %
Метод 1: ГФ XI и ГФ XIII (модифицированный метод Аутерхоффа) Сумма антраценпроизводных в пересчете на истизин не менее 4,5 %	Крушины кора; кора измельченная	4,1 (RSD = 2,9 %)
	Крушины кора; кора порошок	4,4 (RSD = 2,6 %)
Метод 2: ГФ XIII Сумма антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А не менее 4,5 %	Крушины кора; кора измельченная	7,2 (RSD = 1,4 %)
	Крушины кора; кора порошок	7,2 (RSD = 0,8 %)
Метод 3: Европейская фармакопея Сумма антрагликозидов в пересчете на глюкофрангулин А не менее 7,0 %	Крушины кора; кора измельченная	8,0 (RSD = 0,6 %)
	Крушины кора; кора порошок	8,6 (RSD = 1,7 %)

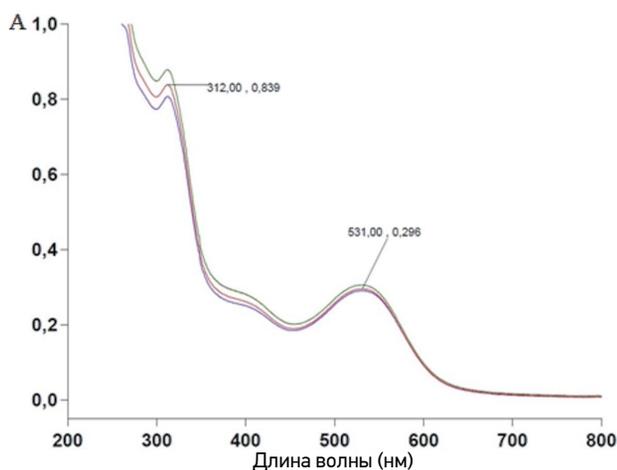


Рис. 1. Спектры испытуемых растворов коры крушины (пробоподготовка по методу 1, параллельные пробы)

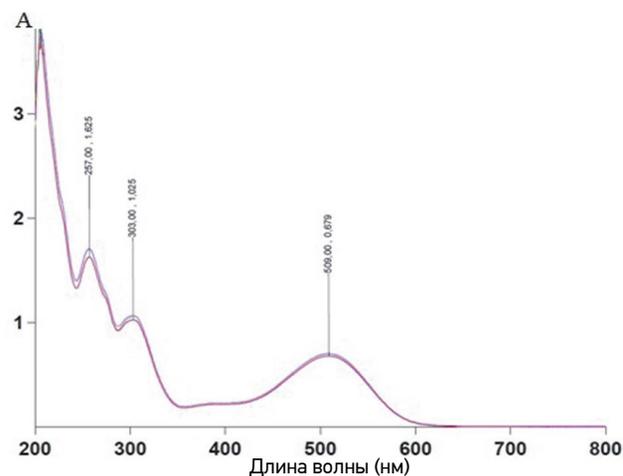


Рис. 3. Спектры испытуемых растворов коры крушины (пробоподготовка по методу 2, параллельные пробы)

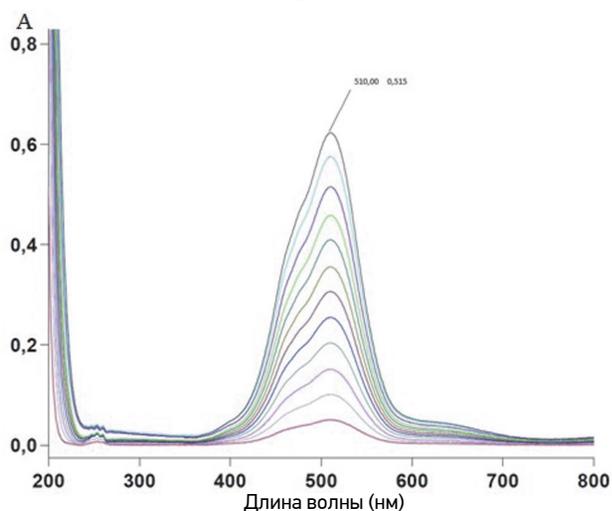


Рис. 2. Спектры растворов опосредованного стандарта — кобальта хлорида 2,5 мг/мл, 5,0 мг/мл, 7,5 мг/мл, 10,0 мг/мл, 12,5 мг/мл, 15,0 мг/мл, 17,5 мг/мл, 20,0 мг/мл, 22,5 мг/мл, 25,0 мг/мл, 27,5 мг/мл, 30,0 мг/мл (метод 1)

что может привести к получению некорректных результатов. Использование истизина (хризофановой кислоты) вместо кобальта хлорида в качестве стандартного образца в настоящее время невозможно, так как на рынке вышеуказанный стандартный образец не представлен.

Фактический максимум поглощения фенолятов антрагликозидов коры крушины ломкой, полученных методами 2 и 3, находится в области 509 ± 3 нм (рис. 3). Измерение оптической плотности испытуемого раствора в соответствии с методами 2 и 3 предусмотрено проводить при 515 нм, что вносит меньшую ошибку в результаты анализа, чем при использовании метода 1.

Аналогичные сравнительные исследования были проведены для методов количественного определения антраценпроизводных листьев сенны. Результаты представлены в таблице 3.

Согласно фармакопейной статье ГФ XIII «Сенны листья» (ФС.2.5.0038.15) для методики определения содержания суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту предусмотрены два способа расчета результатов. В одном случае расчет проводят с использованием калибровочного графика оптической плотности растворов кобальта хлорида различной концентрации (метод 1). В другом случае допускается проводить вычисления с использованием величины удельного показателя поглощения хризофановой кислоты при длине волны 523 нм (метод 2). По Европейской фармакопее предусмотрено определение суммы гидроксиантраценгликозидов в пересчете на сеннозид Б с нормой не менее 2,5 %, для расчетов при этом используется удельный показатель поглощения сеннозида Б (метод 3).

Таблица 3. Сравнение фармакопейных методов количественного определения антраценпроизводных в листьях сенны

Название фармакопей	Метод	Определяемая группа веществ и норма	Длина волны
ГФ XI и ГФ XIII	Спектрофотометрический	Сумма агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту не менее 1,35 % (методы 1 и 2)	523 нм
Государственная фармакопея Республики Беларусь	Спектрофотометрический	Содержание гидроксиантраценгликозидов в пересчете на сеннозид Б не менее 2,5 %	515 нм
Британская фармакопея	Спектрофотометрический	Содержание гидроксиантраценгликозидов в пересчете на сеннозид Б не менее 2,5 %	515 нм
Европейская фармакопея	Спектрофотометрический	Содержание гидроксиантраценгликозидов в пересчете на сеннозид Б не менее 2,5 % (метод 3)	515 нм
Фармакопея США (USP)	Спектрофотометрический	Сумма производных гидроксиантрацена в пересчете на каскарозид А не менее 2,5 %	515 нм

Таблица 4. Результаты сравнительного количественного определения суммы антраценпроизводных в листьях сенны

Метод и нормы	Наименование ЛРП; лекарственная форма	Результат, %
Метод 1: ГФ XI и ГФ XIII Сумма агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту не менее 1,35 % (калибровочный график)	Сенны листья; листья измельченные	1,85 (RSD = 1,9 %)
	Сенны листья; листья порошок	1,98 (RSD = 2,1 %)
Метод 2: ГФ XIII Сумма агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту не менее 1,35 % (удельный показатель поглощения)	Сенны листья; листья измельченные	1,84 (RSD = 1,9 %)
	Сенны листья; листья порошок	1,97 (RSD = 2,1 %)
Метод 3: Европейская фармакопея Сумма гидроксиантраценгликозидов в пересчете на сеннозид Б не менее 2,5 %	Сенны листья; листья измельченные	2,50 (RSD = 2,9 %)
	Сенны листья; листья порошок	2,60 (RSD = 2,7 %)

После проведения экспериментального исследования было установлено, что результаты испытаний образцов листьев сенны (табл. 4) при использовании метода 3 почти на 25 % выше, чем результаты, полученные методами 1 и 2.

Выявленные различия связаны с методикой пробоподготовки, способом расчета и выбранной длиной волны, при которой определяется оптическая плотность испытуемого раствора. При использовании методов 1 и 2 требуемая для проведения измерений длина волны составляет 523 нм. При этом фактически полученный в испытании максимум поглощения испытуемого раствора составил 527 нм (рис. 4). При использовании метода 3 для проведения измерений установлена длина волны 515 нм, что соответствует фактически полученному в испытании максимуму поглощения испытуемого раствора — 514 нм (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена сравнительная оценка методов количественного определения антраценпроизводных в ЛРС и ЛРП Крушины ольховидной кора и Сенны листья. Установлено, что при разработке методики ГФ XIII ФС.2.5.0021.15 для количественного определения суммы антрагликозидов Крушины ольховидной коры в пересчете на глюкофрангулин А не были учтены следующие факторы: выбор наиболее подходящего экстрагента для анализа и необходимость увеличения нормы содержания суммы антраценпроизводных в условиях новой методики. В качестве оптимального экстрагента при анализе Крушины ольховидной коры по данной методике является 70 % метанол или этанол; норма содержания антраценпроизводных должна составлять «не менее 7,0 %».

Установлено, что методика количественного определения суммы антраценпроизводных Сенны листьев по ГФ XIII ФС.2.5.0038.15 должна быть согласована с методикой Европейской фармакопеи, а норма содержания должна составлять «не менее 2,5 %».

При определении содержания антраценпроизводных в ЛРС/ЛРП целесообразно взамен методики с использованием калибровочного графика, построенного по растворам кобальта хлорида, вклю-

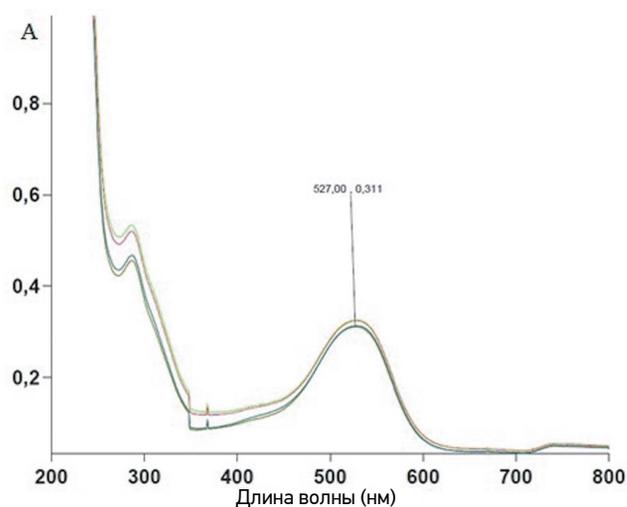


Рис. 4. Спектры испытуемых растворов листьев сенны (пробоподготовка по методам 1 и 2, параллельные пробы)

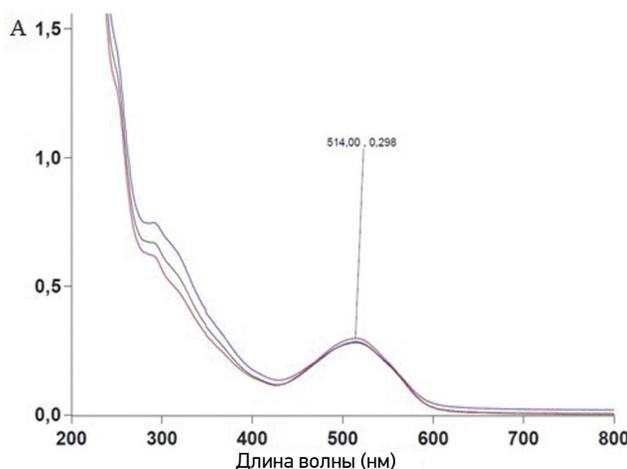


Рис. 5. Спектры испытуемых растворов листьев сенны (пробоподготовка по методу 3, параллельные пробы)

чать методики, предусматривающие использование удельных показателей поглощения стандартных образцов, которые соответствуют присутствующим в сырье активным веществам — глюкофрангулин А, сеннозид Б.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Laxatives are a widely used group of medicines that help resolve digestive system disorders. Laxatives used in medical practice include chemicals and herbal medicinal products containing anthracene derivatives [1, 2].

Pharmacopoeias describe the spectrophotometric method for anthracene derivatives determination in herbal substances and herbal medicinal products [3]. This method has a number of variations that share a common sample preparation algorithm: extraction → hydrolysis and oxidation → re-extraction resulting in the formation of coloured phenolates. The State Pharmacopoeia of the USSR, X and XI editions (SPh X and XI, respectively) and the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII edition (SPh XIII) include the modified Auterhoff's method for quantitative determination of the total content of anthraglycosides expressed as istizin (1,8-dihydroxyanthraquinone) in frangula bark. The method is based on hydrolysis of glycosides and extraction of anthracene derivatives with glacial acetic acid performed simultaneously^{1,2}.

When this method was replaced in the SPh III by a procedure of determination of total anthraglycosides expressed as glucofrangulin A which is similar to the methods described in the European Pharmacopoeia and British Pharmacopoeia, the limits for active substance content were not increased to meet the norms established by the foreign pharmacopoeias. This might be fraught with appearance of low quality herbal substances and herbal medicinal products in the market.

Other types of assays for anthracene derivatives determination, such as chromatophotometry, or densitometry are rather uncommon [4, 5].

The aim of the study was to compare different pharmacopoeial methods of quantitative determination of anthracene derivatives, and established limits for the active substance content, and to analyse the possibility of adjusting the limits based on the test method used.

To achieve this aim the following objectives had to be addressed:

- analysis of Russian and foreign pharmacopoeial requirements for determination of anthracene derivatives in laxative herbal substances and herbal medicinal products;

- systematisation of obtained data and conducting a comparative experimental study to determine optimal assay conditions and respective limits consistent with the anthracene derivatives extraction method being used.

MATERIALS AND METHODS

The Russian Pharmacopoeia includes monographs on several types of herbal substances containing anthracene derivatives. Two of them, which are most widely used in medical practice, were included into the study: frangula bark and senna leaves.

Samples of herbal substances and herbal medicinal products analysed in the study included:

- frangula bark, 2 batches (fragmented bark and powder);

- senna leaves, 2 batches (fragmented leaves and powder).

Three parallel analyses were performed for each sample, and the obtained results were used to calculate the relative standard deviation (RSD).

Equipment:

- Varian Cary 100 spectrophotometer, Binder ED53 oven, Mettler Toledo XPE205DR analytical balance, Julabo TW-12 water bath.

Quantitative determination of anthracene derivatives in frangula bark and senna leaves was performed using the assay methods described in the SPh XI, SPh XIII, and foreign pharmacopoeias^{3,4,5,6}.

RESULTS AND DISCUSSION

The first stage of the study involved comparative analysis of the pharmacopoeial assay methods used for determination of anthracene derivatives in frangula bark. The results are given in table 1.

The «Frangula bark» monograph included into the SPh XIII (FS.2.5.0021.15) describes two methods of anthracene derivatives determination, and the limits for anthracene derivatives content are the same for both these methods irrespective of the sample preparation procedure used. It states that both the total content of anthraglycosides expressed as istizin which is determined using the modified Auterhoff's method, and the total content of anthraglycosides expressed as glucofrangulin A which is determined after anthracene derivatives extraction from the raw material with 80 % ethanol — have to account for not less than 4.5 %.

The European Pharmacopoeia method of anthracene derivatives determination in frangula bark includes anthracene derivatives extraction from the raw material with 70 % methanol, and the content is minimum 7.0 % of glucofrangulins expressed as glucofrangulin A. According to literary sources the alcohol solution concentration of 70 % is the optimal one for extraction of frangula anthracene derivatives, as it allows for maximum extraction of the test substances [6].

Methods 1, 2 and 3 (table 1) differ in the reference standards used. Method 1 involves calculation of anthracene derivatives expressed as istizin using a calibration curve for optical density of cobaltic chloride solutions

¹ State Pharmacopoeia of the USSR. XI ed. Moscow: Meditsina; 1990.

² State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII ed. V 1–3. Moscow; 2015.

³ European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg; 2017. Available from: <http://online.edqm.eu/EN/entry.htm>

⁴ British Pharmacopoeia. London; 2016. Available from: <http://pharmacopoeia.com/downloads/bp/2016>

⁵ United States Pharmacopoeia. 39th ed. 2016. Available from: <http://www.uspnf.com/uspnf>

⁶ State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. V. 2. Minsk; 2008.

with different concentrations. Methods 2 and 3 rely on specific absorbance values for the glucofrangulin A reference standard.

At the second stage an experimental study was carried out that compared the results of determination of total anthracene derivatives performed simultaneously for two samples of frangula bark (fragmented bark and powder) by methods 1, 2, and 3 which were chosen following analysis of data in table 1. The obtained results are given in table 2.

The extraction of bioactive substances from herbal substances/herbal medicinal products is a complex process which depends on the combination of properties of a particular raw material and extraction solvent: wettability, absorbance, diffusibility, desorption characteristics, etc. [7].

The comparison of the results of frangula bark testing by three methods (table 2) demonstrated inconsistent quality of the test samples in terms of the total content of anthracene derivatives expressed as istizin. The results of determination of the total content of anthraglycosides expressed as glucofrangulin A by methods 2 and 3 showed some variation. The values obtained with method 2 were lower than those obtained with method 3. This can be accounted for by different concentrations of the water-alcohol mixture used as extraction solvent.

It was also shown that the use of cobaltic chloride as an indirect reference standard (method 1) could increase

measurement error associated with the discrepancy between absorption maxima of the test and reference solutions. The absorption maxima of the alkali-ammonia solutions of frangula bark anthraquinones obtained by method 1 occur at 531 ± 3 nm (fig. 1).

The absorption maxima of the cobaltic chloride reference solutions do not coincide with those of the test solution and occur at 510 ± 2 nm (fig. 2).

According to method 1 the optical density of the test solution is measured at 540 nm, and the optical density of cobaltic chloride solutions is measured at about 530 nm, which may give rise to inaccurate results. Replacing cobaltic chloride with istizin (methyl chrysozine) as a reference standard is not feasible now since the latter is not available on the market.

The actual absorption maxima of solutions of anthraglycoside phenolates contained in frangula bark and obtained using methods 2 and 3 fall within the range of 509 ± 3 nm (fig. 3). According to methods 2 and 3 the optical density of the test solution is measured at 515 nm, which is associated with a smaller measurement error than that characteristic of method 1.

A similar comparative study was carried out for assays that are used to determine anthracene derivatives in senna leaves. The results are given in table 3.

The «Senna leaves» monograph included into the SPh XIII (FS.2.5.0038.15) describes two ways of deter-

Table 1. Comparison of the pharmacopoeial assay methods used for determination of anthracene derivatives in frangula bark

Pharmacopoeia	Test method	Group of substances to be determined	Wavelength
SPh XI and SPh XIII	Photocolorimetry	Total content of anthraglycosides expressed as istizin — NLT 4.5 % (the modified Auferhoff's method), Method 1	540 nm
SPh XIII	Spectrophotometry	Total content of anthraglycosides expressed as glucofrangulin A — NLT 4.5 %, Method 2	515 nm
State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus	Spectrophotometry	Total content of glucofrangulins expressed as glucofrangulin A — NLT 7.0 %	515 nm
British Pharmacopoeia	Spectrophotometry	Total content of glucofrangulins expressed as glucofrangulin A — NLT 7.0 %	515 nm
European Pharmacopoeia	Spectrophotometry	Total content of glucofrangulins expressed as glucofrangulin A — NLT 7.0 %, Method 3	515 nm
United States Pharmacopoeia	Spectrophotometry	Total content of hydroxyanthracene derivatives expressed as cascarioside A — NLT 7.0 %	515 nm

Table 2. Results of comparative quantitative determination of total anthracene derivatives in frangula bark by three different methods

Method and limits	Medicinal product; dosage form	Result, %
Method 1: SPh XI and SPh XIII (the modified Auferhoff's method) Total content of anthracene derivatives expressed as istizin — NLT 4.5 %	Frangula bark; fragmented bark	4.1 (RSD = 2.9 %)
	Frangula bark; powdered bark	4.4 (RSD = 2.6 %)
Method 2: SPh XIII Total content of anthraglycosides expressed as glucofrangulin A — NLT 4.5 %	Frangula bark; fragmented bark	7.2 (RSD = 1.4 %)
	Frangula bark; powdered bark	7.2 (RSD = 0.8 %)
Method 3: European Pharmacopoeia Total content of anthraglycosides expressed as glucofrangulin A — NLT 7.0 %	Frangula bark; fragmented bark	8.0 (RSD = 0.6 %)
	Frangula bark; powdered bark	8.6 (RSD = 1.7 %)

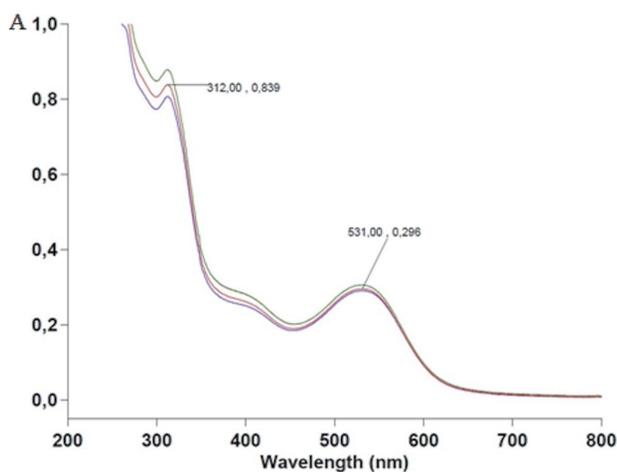


Fig. 1. The spectra of the frangula bark test solutions (sample preparation performed according to method 1, replicates)

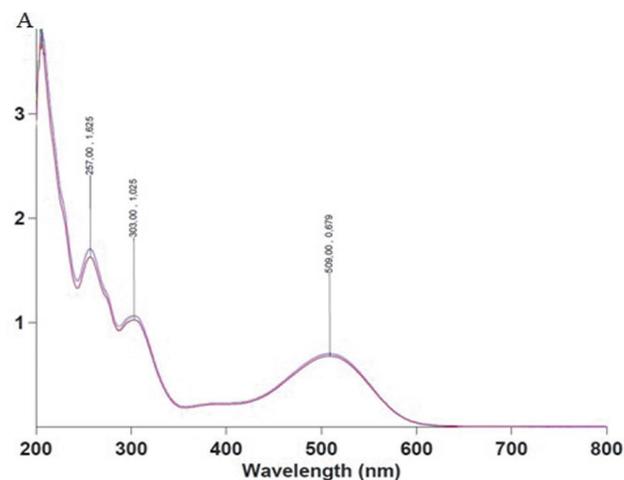


Fig. 3. The spectra of frangula bark test solutions (sample preparation performed according to method 2, replicates)

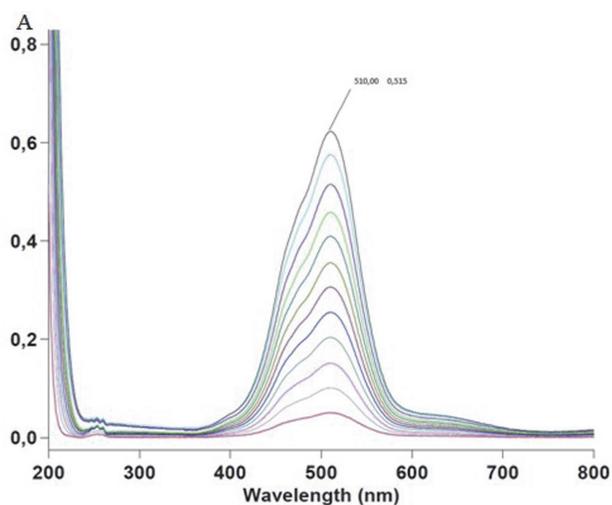


Fig. 2. The spectra of the indirect reference standard solutions — cobaltic chloride 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml, 7.5 mg/ml, 10.0 mg/ml, 12.5 mg/ml, 15.0 mg/ml, 17.5 mg/ml, 20.0 mg/ml, 22.5 mg/ml, 25.0 mg/ml, 27.5 mg/ml, 30.0 mg/ml (method 1)

mination of the total content of anthracene aglycones expressed as methyl chryszazin. The first method involves calculation using a calibration curve for optical density of cobaltic chloride solutions with different concentrations (method 1). The other method allows for calculations

using the specific absorbance value of methyl chryszazin at 523 nm (method 2). The European Pharmacopoeia method determines the total content of hydroxyanthracene glycosides expressed as sennoside B, and the limit is set at no less than 2.5 %. The calculations are made using the specific absorbance of sennoside B (method 3).

The experimental part of the study showed that the results of senna leaves testing (table 4) using method 3 were almost 25 % higher than those obtained with methods 1 and 2.

The revealed differences are attributed to the sample preparation procedure, the calculation method, and the wavelength at which the optical density of the test solution was determined. Methods 1 and 2 require measurements to be made at 523 nm, and the actual absorption maximum obtained for the test solution was 527 nm (fig. 4). Method 3 requires measurements to be made at 515 nm, and this is very close to the actual absorption maximum obtained for the test solution — 514 nm (fig. 5).

CONCLUSION

The study reported in this paper compared the assay methods used for determination of anthracene derivatives in herbal substances and herbal medicinal products — frangula bark and senna leaves. It was demonstrated that the SPh XIII monograph FS.2.5.0021.15 was elaborated without due regard to a number of factors essential

Table 3. Comparison of pharmacopoeial assay methods used to determine anthracene derivatives in senna leaves

Pharmacopoeia	Test method	Group of substances to be determined	Wavelength
SPh XI and SPh XIII	Spectrophotometry	Total content of anthracene aglycones expressed as methyl chryszazin — NLT 1.35 % (methods 1 and 2)	523 nm
State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus	Spectrophotometry	Content of hydroxyanthracene glycosides expressed as sennoside B — NLT 2.5 %	515 nm
British Pharmacopoeia	Spectrophotometry	Content of hydroxyanthracene glycosides expressed as sennoside B — NLT 2.5 %	515 nm
European Pharmacopoeia	Spectrophotometry	Content of hydroxyanthracene glycosides expressed as sennoside B — NLT 2.5 % (method 3)	515 nm
United States Pharmacopoeia (USP)	Spectrophotometry	Total content of hydroxyanthracene derivatives expressed as cascarioside A — NLT 2.5 %	515 nm

Table 4. Results of comparative quantitative determination of total anthracene derivatives in senna leaves

Method and limits	Medicinal product; dosage form	Result, %
Method 1: SPh XI and SPh XIII Total content of anthracene aglycones expressed as methyl chrysozarin — NLT 1.35 % (calibration curve)	Senna leaves; fragmented leaves	1.85 (RSD = 1.9 %)
	Senna leaves; powdered leaves	1.98 (RSD = 2.1 %)
Method 2: SPh XIII Total content of anthracene aglycones expressed as methyl chrysozarin — NLT 1.35 % (specific absorbance value)	Senna leaves; fragmented leaves	1.84 (RSD = 1.9 %)
	Senna leaves; powdered leaves	1.97 (RSD = 2.1 %)
Method 3: European Pharmacopoeia Total content of hydroxyanthracene glycosides expressed as sennoside B — NLT 2.5 %	Senna leaves; fragmented leaves	2.50 (RSD = 2.9 %)
	Senna leaves; powdered leaves	2.0 (RSD = 2.7 %)

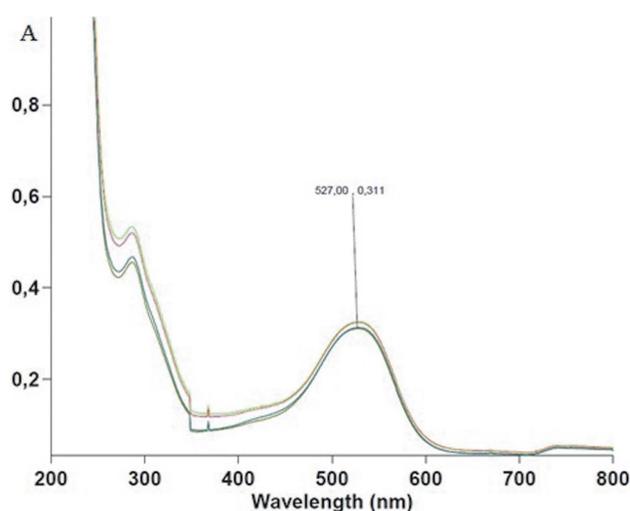


Fig. 4. The spectra of senna leaves test solutions (sample preparation performed according to methods 1 and 2, replicates)

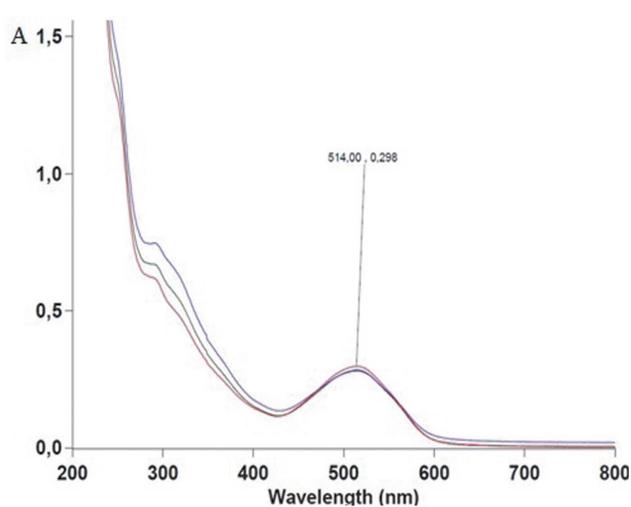


Fig. 5. The spectra of senna leaves test solutions (sample preparation performed according to method 3, replicates)

for determination of the total content of frangula bark anthraglycosides expressed as glucofrangulin A, i.e. the choice of the optimal extraction solvent and the need to increase the limits for the total anthracene derivatives given the conditions of the new test procedure. The optimal extraction solution for testing frangula bark using this method is 70 % methanol/ethanol, and the anthracene derivatives content should be «no less than 7.0 %».

It was demonstrated that the assay method used for determination of the total content of anthracene derivatives in senna leaves according to the SPh XIII monograph FS.2.5.0038.15 should be brought in line with the European Pharmacopoeia method, and the content should be «no less than 2.5 %».

Determination of anthracene derivatives in herbal substances or herbal medicinal products should not be based on the calibration curve for cobaltic chloride solutions, instead it should include methods relying on specific absorbance of reference standards corresponding to the active pharmaceutical ingredients present in the herbal substances — glucofrangulin A and sennoside B.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590049-0).

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Куркин ВА, Шмыгарева АА. Новые подходы к стандартизации листьев сенны. *Химия растительного сырья*. 2016;(1):71–7. [Kurkin VA, Shmygareva AA. New approaches to standartization of Cassia leaves. *Khimiya rastitel'nogo syriya = Chemistry of Plant Raw Material*. 2016;(1):71–7 (In Russ.)]
2. Зайцева НВ, Куркин ВА, Авдеева ЕВ. Перспективы комплексного использования щавеля конского. *Известия Самарского научно-го центра Российской академии наук*. 2012;14(1):2222–5. [Zaytseva NV, Kurkin VA, Avdeeva EV. Prospects of complex using the Horse sorrel. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = Izvestiya of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2012;14(1):2222–5 (In Russ.)]
3. Марахова АИ, Аврач АС, Скалзубова ТА, Сорокина АА, Сергунова ЕВ, Федоровский НН. Спектрофотометрия в анализе сборов. *Медицина и образование в Сибири*. 2012;(2):79–89. [Marakhova AI,

- Avrach AS, Skalozubova TA, Sorokina AA, Sergunova EV, Fedorovsky NN. Spectrophotometry in analysis of preparations. *Meditsina i obrazovanie v Sibiri = Journal of Siberian Medical Sciences*. 2012;(2):79–89 (In Russ.)
4. Rai PP. Thin-layer densitometric determination of individual dehydroxy-anthraquinone derivatives. *Chromatographia*. 1980;13(12):763–4.
5. Lemmens L. Determination of dehydroxyanthrones by densitometry after thin-layer chromatographic separation. *Journal of Chromatography A*. 1977;132(2):363–5.
6. Куркин ВА, Шмыгарева АА. Определение антраценпроизводных в коре крушины. *Фармация*. 2010;(8):9–11. [Kurkin VA, Shmygareva AA. Determination of anthracene derivatives in the buckthorn (*Frangula*) bark. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2010;(8):9–11 (In Russ.)]
7. Саламатин АА, Хазиев РШ, Макарова АС, Иванова СА. Кинетика экстракции биологически активных веществ из растительного сырья кипящим растворителем. *Теоретические основы химической технологии*. 2015;49(2):206–13. [Salamatina AA, Khaziev RSh, Makarova AS, Ivanova SA. Kinetics of boiling solvent extraction of bioactive compounds from herbal substances. *Teoreticheskie osnovy khimicheskoy tekhnologii = Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. 2015;49(2):206–13 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ

Антонова Наталья Петровна, канд. биол. наук, начальник лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-7818-5303>
Моргунов Игорь Михайлович, эксперт 2-й категории лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3907-3456>
Прохватилова Светлана Степановна, канд. фарм. наук, главный эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3278-1994>
Шефер Елена Павловна, канд. фарм. наук, главный эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8389-4799>
Калинин Артем Михайлович, ведущий эксперт лаборатории фитопрепаратов и гомеопатических средств Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4980-3248>

Статья поступила 14.06.2018
После доработки 03.10.2018
Принята к печати 19.11.2018

AUTHORS

Natalia P. Antonova, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Herbal and Homeopathic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-7818-5303>
Igor M. Morgunov, 2nd Professional Category Expert of the Laboratory of Herbal and Homeopathic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3907-3456>
Svetlana S. Prokhvatilova, Cand. Sci. (Pharm.), Chief Expert of the Laboratory of Herbal and Homeopathic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3278-1994>
Elena P. Shefer, Cand. Sci. (Pharm.), Chief Expert of the Laboratory of Herbal and Homeopathic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8389-4799>
Artem M. Kalinin, Leading Expert of the Laboratory of Herbal and Homeopathic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4980-3248>

Article was received 14 June 2018
Revised 3 October 2018
Accepted for publication 19 November 2018



Совершенствование методик определения примесей в антимикробных лекарственных средствах хроматографическими методами на примере анализа ципрофлоксацина

С. И. Кулешова*, В. С. Удалов, Е. П. Симонова, И. А. Денисова, Д. В. Мишкин

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

Необходимость сокращения времени анализа при мониторинге содержания примесей в лекарственных средствах является актуальной проблемой. **Цель работы:** выбор условий хроматографирования, позволяющих значительно ускорить и упростить определение примесей в лекарственных средствах на примере анализа ципрофлоксацина. **Методы:** для достижения поставленной цели были использованы хроматографические колонки Chromolith® Performance RP-18e 100 × 4,6 мм и Acquity UPLC BEH C18 1,7 мкм 100 × 2,1 мм. Исследования проводились на хроматографе «Agilent 1290 Infinity» с диодно-матричным детектором. **Результаты:** разработаны режимы градиентного элюирования примесей ципрофлоксацина со временем хроматографирования 15 минут для варианта быстрой высокоэффективной жидкостной хроматографии и 12 минут для варианта ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии. Идентификация примесей проведена с использованием относительных времен удерживания их пиков и при сравнении с эталонной хроматограммой. **Выводы:** показана возможность замены метода тонкослойной хроматографии для определения фторхинолоновой кислоты (примеси А ципрофлоксацина) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Предложенные условия анализа позволяют идентифицировать примеси ципрофлоксацина, нормируемые ведущими фармакопеями и нормативными документами. На основе полученных данных возможна дальнейшая разработка экспрессных методик определения примесей ципрофлоксацина в лекарственных средствах.

Ключевые слова: быстрая высокоэффективная жидкостная хроматография; ультравысокоэффективная жидкостная хроматография; примеси ципрофлоксацина; фторхинолоновая кислота; идентификация примесей

Для цитирования: Кулешова СИ, Удалов ВС, Симонова ЕП, Денисова ИА, Мишкин ДВ. Совершенствование методик определения примесей в антимикробных лекарственных средствах хроматографическими методами. *Ведомости Научного Центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(4):262–270. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-262-270>

***Контактное лицо:** Кулешова Светлана Ивановна; Kuleshova@expmed.ru

Improvement of Tests for the Control of Impurities in Antimicrobial Medicinal Products by Chromatographic Methods: Ciprofloxacin Case Study

S. I. Kuleshova*, V. S. Udalov, E. P. Simonova, I. A. Denisova, D. V. Mishkin

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

The need to reduce analysis time when controlling impurities in medicinal products remains an urgent challenge. **The aim of the study** was to use the example of ciprofloxacin in order to select chromatographic conditions that will significantly accelerate and simplify determination of impurities in medicinal products. **Methods:** the study was performed using the Chromolith® Performance RP-18e 100 × 4.6 mm and Acquity UPLC BEH C18 1.7 μm, 100 × 2.1 mm columns and the Agilent 1290 Infinity chromatography system with a diode array detector. **Results:** the authors of the study worked out gradient elution modes for determination of ciprofloxacin impurities that involved 15 min run time for fast high-performance liquid chromatography and 12 min run time for ultra-performance liquid chromatography. The identification of impurities was performed based on relative retention times of impurity peaks and their comparison with the reference standard chromatogram. **Conclusions:** the study demonstrated the possibility of replacing the thin-layer chromatography method used for determination of fluoroquinolonic acid (ciprofloxacin impurity A) with high-performance liquid chromatography. The proposed test conditions allow for identification of ciprofloxacin impurities specified in well-established pharmacopoeias and manufacturers' product specification files. The obtained data may be used for further development of rapid methods of ciprofloxacin impurities determination in medicinal products.

Key words: fast high-performance liquid chromatography; ultra-performance liquid chromatography; ciprofloxacin impurities; fluoroquinolonic acid; impurity identification

For citation: Kuleshova SI, Udalov VS, Simonova EP, Denisova IA, Mishkin DV. Improvement of tests for the control of impurities in antimicrobial medicinal products by chromatographic methods: ciprofloxacin case study. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(4):262–270. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-4-262-270>

***Corresponding author:** Svetlana I. Kuleshova; Kuleshova@expmed.ru

Мониторинг содержания органических примесей в лекарственных средствах является необходимым как на этапе производства, так и при оценке качества готового продукта^{1,2,3}. В настоящее время основной метод для определения технологических примесей и продуктов деградации действующего вещества — это метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)^{4,5,6}. Данный метод обладает высокой селективностью и дает возможность изменения условий разделения посредством выбора сочетаний определенных свойств стационарной и подвижной фаз [1]. При этом условия испытания должны быть подобраны таким образом, чтобы обеспечить разделение всех возможных гомологов действующего вещества или его примесей [2]. В последние годы получила развитие быстрая и ультравысокоэффективная жидкостная хроматография (УВЭЖХ), которая позволяет не только сокращать время проведения испытания в несколько раз, но и увеличивает селективность и чувствительность, что расширяет возможности использования хроматографических методик в контроле качества лекарственных средств [3, 4]. В литературе описаны примеры использования как быстрой ВЭЖХ, так и УВЭЖХ для анализа антибиотиков фторхинолонового ряда [5, 6]. Определение примесей ципрофлоксацина, который признан одним из наиболее эффективных фторхинолонов второго поколения, представляется актуальной задачей. Препараты ципрофлоксацина широко используются в клинической практике и представлены на фармацевтическом рынке Российской Федерации в различных лекарственных формах (твердые лекарственные формы для приема внутрь, глазные капли, растворы для инфузий).

Цель работы — выбор условий хроматографирования, позволяющих значительно ускорить и упростить определение примесей в лекарственных средствах на примере анализа ципрофлоксацина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были выбраны следующие стандартные образцы ципрофлоксацина (1-циклопропил-6-фтор-4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты) и его примесей:

- ципрофлоксацина гидрохлорид для идентификации пиков (Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification) EP CRS;
- фторхинолоновая кислота (примесь А) (Ciprofloxacin impurity A) EP CRS;
- этилендиаминовый аналог ципрофлоксацина (примесь С) USP RS.

В монографии Европейской фармакопеи на субстанцию ципрофлоксацина для определения фторхинолоновой кислоты (7-хлор-1-циклопропил-6-

фтор-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты) предусмотрен метод тонкослойной хроматографии, другие примеси определяются методом ВЭЖХ. Последовательность элюирования идентифицированных примесей устанавливается по хроматограмме стандартного образца ципрофлоксацина для идентификации пиков CRS, что позволяет оценить не только основной продукт деградации ципрофлоксацина — его этилендиаминовый аналог, примесь С (7-[(2-аминоэтил)амино]-1-циклопропил-6-фтор-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота), — но и примеси В (1-циклопропил-6-фтор-4-оксо-7-(пиперазин-1-ил)-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота), Д (7-хлор-1-циклопропил-6-фтор-4-оксо-6-(пиперазин-1-ил)-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота) и Е (1-циклопропил-6-фтор-7-(пиперазин-1-ил)хинолин-4(1H)-один). Химические названия примесей и их буквенные обозначения даны по Европейской фармакопее. В монографии Фармакопеи США для всех примесей, включая фторхинолоновую кислоту, предусмотрен метод ВЭЖХ.

Работа проводилась с использованием хроматографа Agilent 1290 Infinity с диодно-матричным детектором («Agilent Technologies», США). Были изучены два варианта проведения испытания, оба в градиентном режиме элюирования. Градиентный режим был выбран по аналогии с монографией Фармакопеи США для идентификации примеси А одновременно с другими примесями в ципрофлоксацине. В первом варианте (быстрая ВЭЖХ, метод 1) для разделения примесей использовали хроматографическую колонку Chromolith® Performance RP-18e 100 × 4,6 мм. Под маркой Chromolith® выпускаются колонки, содержащие высокопористые монолитные стержни силикагеля с комбинацией макропор (2 мкм) и мезопор (13 нм), что позволяет при низком давлении обеспечивать высокую степень разделения [7]. Анализ проводился при температуре колонки 30 °С, скорости потока 1,5 мл/мин с детектированием при длине волны 278 нм, объем вводимой пробы 10 мкл. Состав подвижной фазы (ПФ): ПФ А — 0,025 М раствор фосфорной кислоты, доведенный триэтиламино до pH 3,0 ± 0,1; ПФ В — ацетонитрил в режиме градиентного элюирования. Программа градиента приведена в таблице 1. Время хроматографирования 15 минут.

Во втором варианте (УВЭЖХ, метод 2) для разделения примесей использовали колонку Acquity UPLC BEH C18 1,7 мкм 100 × 2,1 мм. Температура колонки 40 °С, скорость потока 0,5 мл/мин, детектирование при длине волны 278 нм, объем вводимой пробы 10 мкл. Состав подвижной фазы, как и для метода 1, состоял из двух компонентов. ПФ А₁ — 0,025 М раствор фосфорной кислоты, доведенный

¹ ICH, Q3B(R) Impurities in Drug Products (Nov. 2003).

² FDA, Guidance for Industry — ANDAs: Impurities in Drug Substances (Rockville, MD, Jan. 2005).

³ ICH, Q3A(R) Impurities in New Drug Substances (Feb. 2003).

⁴ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. М.; 2015.

⁵ European Pharmacopoeia. 9.0th ed.

⁶ United States Pharmacopoeia. USP 41-NF36.

Таблица 1. Программа градиента для метода 1

Время, мин	ПФ А (об/об, %)	ПФ В (об/об, %)
0,0	88	12
4,0	88	12
8,5	50	50
12,0	50	50
12,5	88	12
15,0	88	12

Таблица 2. Программа градиента для метода 2

Время, мин	ПФ Аi (об/об, %)	ПФ Vi (об/об, %)
0,0	100	0
3,0	100	0
5,5	65	35
9	65	35
9,1	100	0
12	100	0

триэтиламин до pH $3,0 \pm 0,1$ с ацетонитрилом в соотношении 87:13 (данная ПФ рекомендована Европейской фармакопеей для определения примесей ципрофлоксацина). ПФ Vi — ацетонитрил,

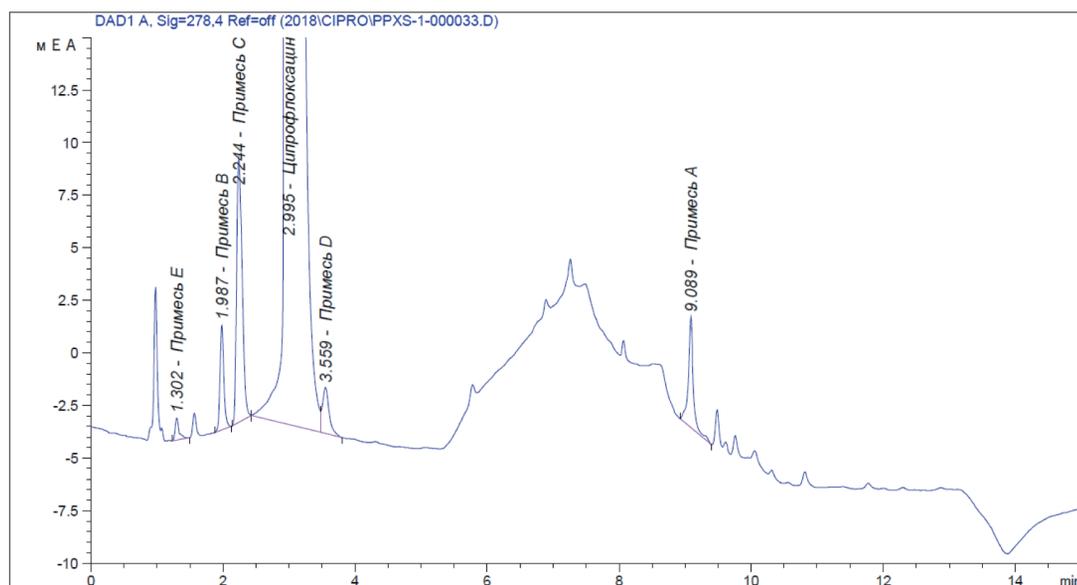
добавление которого необходимо для элюирования фторхинолоновой кислоты. Программа градиента представлена в таблице 2. Время хроматографирования 12 минут.

Испытуемые растворы для обоих вариантов метода готовили с использованием в качестве растворителя ПФ Ai. Исходные растворы стандартных образцов примеси А и примеси С разводили до концентрации 1 мг/мл. Для приготовления испытуемого раствора 10 мг стандартного образца ципрофлоксацина для идентификации пиков растворяли в мерной колбе вместимостью 50 мл, добавляли 1 мл раствора примеси А, доводили объем раствора ПФAi до метки и перемешивали. Для идентификации пиков примесей А и С готовили растворы примесей в той же концентрации, что и примеси А в испытуемом растворе — 0,02 мг/мл разведением исходных растворов стандартных образцов этих примесей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

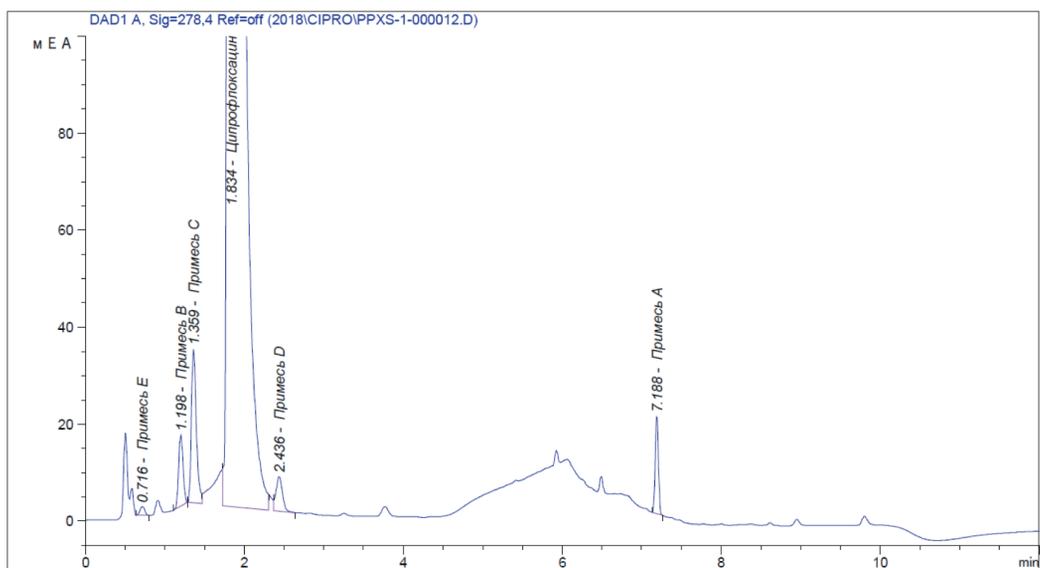
Выбранное соотношение компонентов подвижной фазы и использование хроматографической колонки марки Chromolith® («Merck», Германия) позволило сократить время анализа на 5 мин по сравнению со временем хроматографирования, которое затрачивается при выполнении методики, приведенной в монографии Фармакопеи США на ципрофлоксацин.

Хроматограммы испытуемого раствора приведены на рисунках 1 и 2. В условиях анализа по ме-



RetTime [мин]	k'	Площадь [мЕА*s]	Высота [мЕА]	Симм.	Ширина [мин]	Тарелки	Разре- шение	Селектив- ность
1.302	-	4.41594	1.04752	0.56	0.0550	3109	-	-
1.987	-	19.61435	4.99385	0.81	0.0593	6229	7.04	1.53
2.244	-	71.34546	12.57355	0.59	0.0911	3357	2.01	1.13
2.995	-	1.20553e4	1560.23792	0.43	0.1185	3539	4.21	1.33
3.559	-	15.34337	2.19052	0.80	0.1133	5455	2.85	1.19
9.089	-	28.24831	5.25643	0.93	0.0667	102986	36.10	2.55

Рис. 1. Хроматограмма испытуемого раствора, полученная по методу 1 (быстрая ВЭЖХ)



RetTime [мин]	k'	Площадь [мЕА*s]	Высота [мЕА]	Симм.	Ширина [мин]	Тарелки	Разре шение	Селектив ность
0.716	-	7.42844	1.79240	0.99	0.0683	614	-	-
1.198	-	56.23303	14.60897	0.89	0.0633	1987	4.31	1.67
1.359	-	137.04329	31.61367	0.71	0.0674	2253	1.45	1.13
1.834	-	2.76459e4	3241.32739	0.38	0.1387	967	2.71	1.35
2.436	-	40.48493	7.12929	0.91	0.0892	4146	3.10	1.33
7.188	-	56.26017	20.05651	0.95	0.0479	124796	40.75	2.95

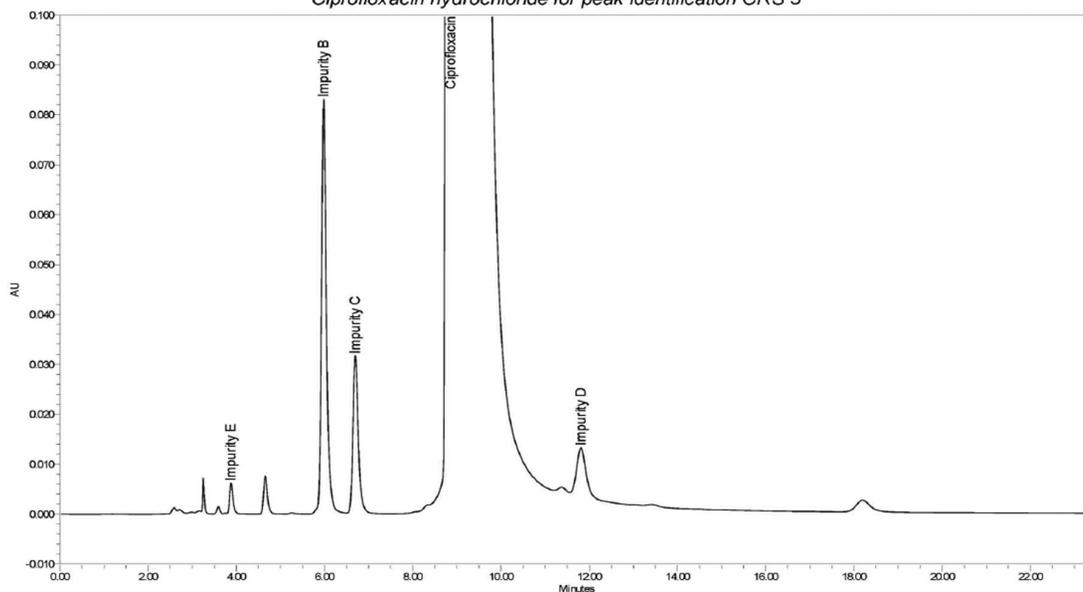
Рис. 2. Хроматограмма испытуемого раствора, полученная по методу 2 (УВЭЖХ)

Annex 1:



LIQUID CHROMATOGRAPHY REPORT

Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification CRS 3



Project Name: LC10757CiprofloxacinHCl

Result Id 1299

Рис. 3. Хроматограмма стандартного образца ципрофлоксацина гидрохлорида для идентификации пиков EP CRS

тоту 1 и по методу 2 на хроматограммах пик примеси А (фторхинолоновая кислота) элюируется после пика ципрофлоксацина. Время удерживания примеси А около 9 мин (метод 1) и около 7 мин (метод 2) соответственно было определено по совпадению со временем удерживания основного пика раствора, содержащего примесь А, что позволило точно идентифицировать пик фторхинолоновой кислоты. Положение пика примеси С определяли по хроматограмме раствора этой примеси. Профиль хроматограммы испытуемого раствора до 4 минут хроматографирования (рис. 1) близок по порядку выхода пиков к профилю хроматограммы, прилагаемой к стандартному образцу ципрофлоксацина гидрохлорида для идентификации пиков EP CRS (рис. 3). Относительное время удерживания (RRT) примеси С составило 0,75, по Европейской фармакопее — около 0,7.

На хроматограммах испытуемого раствора, полученных по методу 2, также наблюдается порядок выхода пиков, соответствующий их последовательности до 2,5 минут на хроматограмме стандартного образца ципрофлоксацина гидрохлорида для идентификации пиков EP CRS, при этом относительное время удерживания для примеси С также близко к RRT, указанному в монографии Европейской фармакопее, и равно 0,74. Полученные аналогичные RRT для этилендиаминового аналога ципрофлоксацина позволили предположить, что и остальные примеси, заявленные в составе стандартного образца ципрофлоксацина гидрохлорида для идентификации пиков, в частности примеси Е, В и D, также можно идентифицировать по относительным временам удерживания. Согласно Европейской фармакопее, RRT примеси Е составляет около 0,4; примеси В — около 0,6 и примеси D — около 1,2. На хроматограммах, полученных по методу 1, RRT примеси Е составило 0,4; примеси В — 0,7 и примеси D — 1,2. При использовании метода 2 RRT примеси Е также составило 0,4; примеси В — 0,7, а примеси D — 1,3. Проведенные расчеты подтвердили возможность идентифицировать пики примесей по их относительным временам удерживания. Все пики идентифицированных примесей симметричны, хорошо разделены, разрешение между близлежащими пиками на хроматограмме испытуемого раствора по методу 1 не менее 2,0, по методу 2 — не менее 1,5.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований подобраны условия для унифицированного определения идентифицированных примесей ципрофлоксацина, содержание которых регламентируется ведущими фармакопеями и нормативными документами на субстанции лекарственных препараты ципрофлоксацина, зарегистрированные в Российской

Федерации. Применение быстрой ВЭЖХ и УЭВЖХ исключает значительно сократить время анализа, уменьшить расход дорогостоящих реагентов. Полученные данные могут служить основанием для разработки методик определения примесей в субстанции и препаратах ципрофлоксацина.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Control of organic impurities in medicinal products is essential both at the production stage, and during evaluation of the final product's quality^{1,2,3}. At present the main method used for determination of process-related impurities and active ingredient degradation products is high-performance liquid chromatography (HPLC)^{4,5,6}. This is a highly selective method which allows for adjustment of chromatographic separation conditions by choosing a combination of specific characteristics of stationary and mobile phases [1]. The test conditions should be selected to ensure separation of all possible active ingredient homologues or respective impurities [2]. In recent years fast HPLC and ultra-performance liquid chromatography (UPLC) have grown in popularity, since they help to reduce several times the duration of analysis and at the same time have greater selectivity and sensitivity, which taken all together enhance opportunities to use chromatographic methods for medicinal products evaluation [3, 4]. Literature sources describe the use of both fast HPLC and UPLC for the analysis of fluoroquinolone antibiotics [5, 6]. Determination of ciprofloxacin impurities is an important priority, since ciprofloxacin is one of the most efficacious of all second-generation fluoroquinolones. Ciprofloxacin drugs are widely used in Russian clinical practice in different dosage forms (solid oral dosage forms, eye drops, solutions for infusion).

The aim of the study was to use the example of ciprofloxacin in order to select chromatographic conditions that will significantly accelerate and simplify determination of impurities in medicinal products.

MATERIALS AND METHODS

The study covered the following reference standards of ciprofloxacin (1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(1-piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid) and its impurities:

- ciprofloxacin hydrochloride for peak identification, EP CRS;
- fluoroquinolonic acid (Ciprofloxacin impurity A), EP CRS;

¹ ICH, Q3B(R) Impurities in Drug Products (Nov. 2003).

² FDA, Guidance for Industry — ANDAs: Impurities in Drug Substances (Rockville, MD, Jan. 2005).

³ ICH, Q3A(R) Impurities in New Drug Substances (Feb. 2003).

⁴ State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII ed. Moscow; 2015.

⁵ European Pharmacopoeia. 9.0th ed.

⁶ United States Pharmacopoeia. USP 41-NF36.

- ciprofloxacin ethylenediamine analog (impurity C) USP RS.

The European Pharmacopoeia monograph on ciprofloxacin active ingredient includes a thin-layer chromatography method for determination of fluoroquinolonic acid (7-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid), and the other impurities are determined by HPLC. The elution order of identified impurities is determined using the chromatogram of Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification CRS. This makes it possible to assess not only the main ciprofloxacin degradation product — ciprofloxacin ethylenediamine analog, impurity C (7-[(2-aminoethyl)amino]-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid), but also impurity B (1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid), impurity D (7-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-6-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid), and impurity E (1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(piperazin-1-yl)quinolin-4(1H)-one). The chemical names and letter symbols of impurities are given according to the European Pharmacopoeia. The United States Pharmacopoeia (USP) includes the HPLC method for all impurities, including fluoroquinolonic acid.

The Agilent 1290 Infinity chromatography system with a diode array detector was used in the study («Agilent Technologies», USA). Two variants of the test were analysed, both of them in gradient elution mode. The gradient elution was chosen by analogy with the USP monograph in order to perform determination of impurity A simultaneously with the other ciprofloxacin impurities. The first variant (fast HPLC, method 1) used the Chromolith® Performance RP-18e 100 × 4.6 mm chromatographic column for separation of impurities. Chromolith® columns consist of highly porous monolithic rods of silica with a bimodal pore structure of macro- (2 µm) and mesopores (13 nm), which makes it possible to ensure high separation power at low pressure [7]. The operating conditions used for the test were: column temperature of 30 °C, flow rate of 1.5 ml/min, detection at 278 nm, injection volume of 10 µl. The mobile phase (MP) composition: MP A — 0.025 M phosphoric acid adjusted with triethylamine to a pH of 3.0 ± 0.1; MP B — acetonitrile in gradient elution mode. The gradient programme is given in table 1. The run time was 15 minutes.

The second variant (UPLC, method 2) used the Acquity UPLC BEH C18 1.7 µm 100 × 2.1 mm column for separation of impurities. The operating con-

ditions used for the test were: column temperature of 40 °C, flow rate of 0.5 ml/min, detection at 278 nm, injection volume of 10 µl. The mobile phase consisted of two components (as in method 1): MP Ai — 0.025 M phosphoric acid adjusted with triethylamine to a pH of 3.0 ± 0.1 and acetonitrile at the ratio of 87:13 (this MP is recommended by the European Pharmacopoeia for ciprofloxacin impurities detection). MP Bi — acetonitrile which is needed for fluoroquinolonic acid elution. The gradient programme is given in table 2. The run time was 12 minutes.

The test solutions for both methods were prepared using MP Ai as a solvent. The standard stock solutions of impurity A and impurity C were diluted to achieve the concentration of 1 mg/ml. The test solution was prepared by transferring 10 mg of Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification CRS to a 50-mL volumetric flask, adding 1 ml of impurity A solution, diluting the mixture with MP Ai to volume and mixing. To identify the peaks due to impurities A and C, the impurity solutions were prepared with the same concentration as that of impurity A in the test solution (i.e. 0.02 mg/ml) by diluting the standard stock solutions of these impurities.

RESULTS AND DISCUSSION

The chosen proportion of mobile phase components and the use of Chromolith® («Merck», Germany) column made it possible to reduce the analysis time by 5 minutes as compared to the run time needed to perform the test described in the USP monograph for ciprofloxacin.

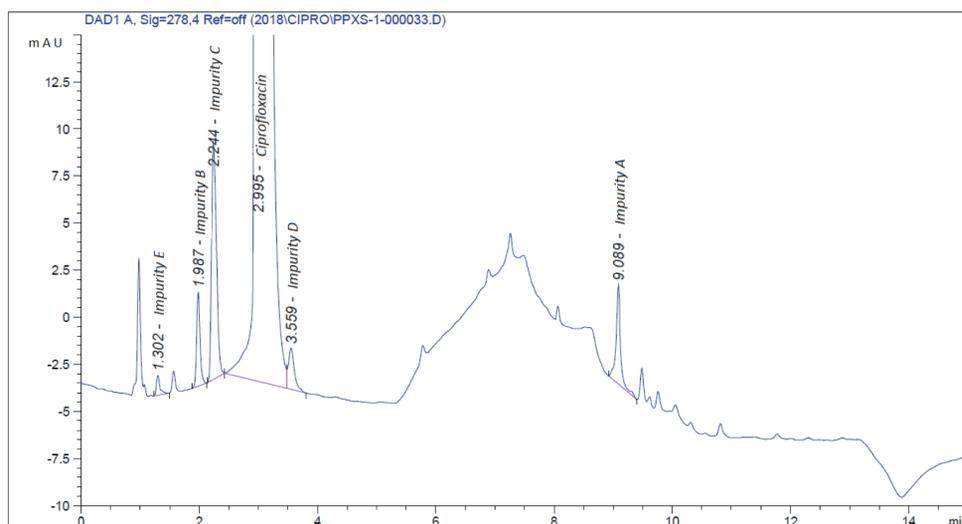
The test solution chromatograms are given in figures 1 and 2. When using test conditions described in method 1 and method 2, the chromatograms were obtained on which impurity A (fluoroquinolonic acid) peak eluted after the ciprofloxacin peak. The retention times of impurity A — about 9 min for method 1 and about 7 min for method 2 — were determined by assessing the coincidence with the retention time of the main peak in the chromatogram of the solution containing impurity A, which allowed for accurate identification of fluoroquinolonic acid peak. The impurity C peak position was determined by analysing the chromatogram of the solution containing impurity C. The chromatographic profile in figure 1 demonstrates similarity during the first 4 min of run time to that of Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification CRS in terms of peak elution order (fig.3). The relative retention time of impurity C was 0.75, while the European Pharmacopoeia cites the relative retention time of about 0.7.

Table 1. The gradient programme for method 1

Time, min	MP A (v/v, %)	MP B (v/v, %)
0,0	88	12
4,0	88	12
8,5	50	50
12,0	50	50
12,5	88	12
15,0	88	12

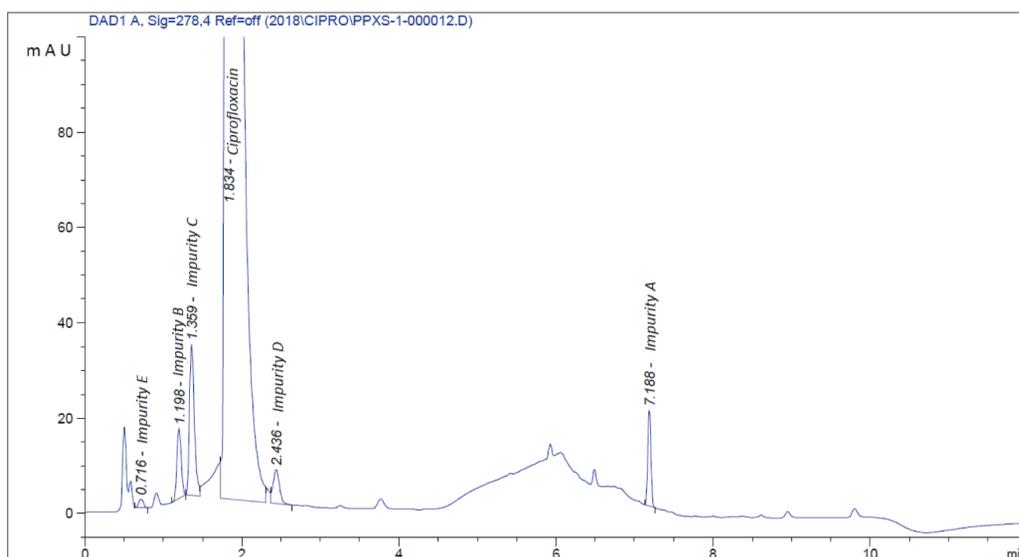
Table 1. The gradient programme for method 2

Time, min	MP Ai (v/v, %)	MP Bi (v/v, %)
0,0	100	0
3,0	100	0
5,5	65	35
9	65	35
9,1	100	0
12	100	0



RetTime [min]	k'	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Symm.	Width [min]	Plates	Resolution	Selectivity
1.302	-	4.41594	1.04752	0.56	0.0550	3109	-	-
1.987	-	19.61435	4.99385	0.81	0.0593	6229	7.04	1.53
2.244	-	71.34546	12.57355	0.59	0.0911	3357	2.01	1.13
2.995	-	1.20553e4	1560.23792	0.43	0.1185	3539	4.21	1.33
3.559	-	15.34337	2.19052	0.80	0.1133	5455	2.85	1.19
9.089	-	28.24831	5.25643	0.93	0.0667	102986	36.10	2.55

Fig. 1. The test solution chromatogram obtained using method 1 (fast HPLC)



RetTime [min]	k'	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Symm.	Width [min]	Plates	Resolution	Selectivity
0.716	-	7.42844	1.79240	0.99	0.0683	614	-	-
1.198	-	56.23303	14.60897	0.89	0.0633	1987	4.31	1.67
1.359	-	137.04329	31.61367	0.71	0.0674	2253	1.45	1.13
1.834	-	2.76459e4	3241.32739	0.38	0.1387	967	2.71	1.35
2.436	-	40.48493	7.12929	0.91	0.0892	4146	3.10	1.33
7.188	-	56.26017	20.05651	0.95	0.0479	124796	40.75	2.95

Fig. 2. The test solution chromatogram obtained using method 2 (UPLC)

Annex 1:



LIQUID CHROMATOGRAPHY REPORT

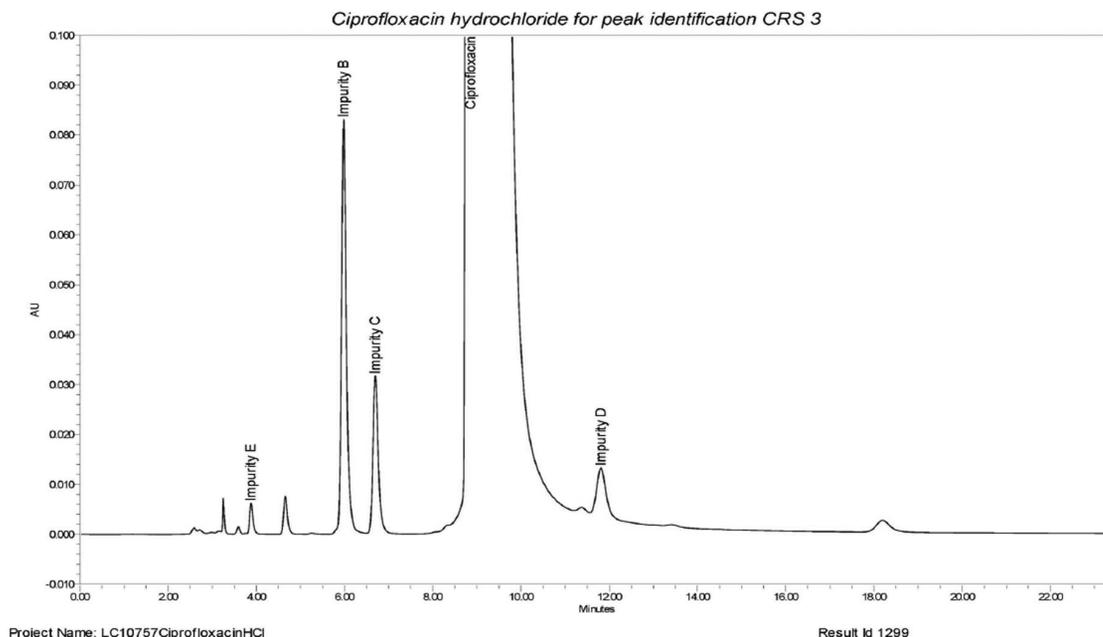


Fig. 3. The chromatogram of Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification, EP CRS

The test solution chromatograms obtained using method 2 also show peak elution order similar to that observed in the chromatogram of Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification CRS during the first 2.5 min of run time. The impurity C relative retention time (RRT) was also close to the RRT indicated in the European Pharmacopoeia, and was equal to 0.74. The similar RRTs obtained for ciprofloxacin ethylenediamine analog suggest that the other impurities present in the Ciprofloxacin hydrochloride for peak identification CRS, in particular, impurities E, B, and D, may also be identified by their relative retention times. According to the European Pharmacopoeia the RRT of impurity E is about 0.4, impurity B — about 0.6, and impurity D — about 1.2. The chromatograms obtained using method 1 showed the RRT of impurity E — 0.4, impurity B — 0.7, and impurity D — 1.2. The results obtained using method 2 demonstrated the RRT of impurity E — 0.4, impurity B — 0.7, and impurity D — 1.3. The performed calculations proved that impurity peaks could be identified by their relative retention times. All the peaks of the identified impurities were symmetrical and well-separated, the resolution between adjacent peaks in the test solution chromatogram obtained using method 1 was minimum 2.0, and in the chromatogram obtained using method 2 — minimum 1.5.

CONCLUSION

The study helped to select standardised conditions for determination of ciprofloxacin identified impurities which are controlled by well-established pharmacopoeias and by product specification files for ciprofloxacin

APIs authorised in the Russian Federation. The use of fast HPLC and UPLC helps to significantly reduce the analysis time, avoid the thin-layer chromatography method, and cut expenses on costly reagents. The obtained data may be used for development of methods for determination of impurities in ciprofloxacin API and ciprofloxacin drugs.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590049-0).

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Георгиевский ВП, ред. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств. Т. 2. Харьков: НТМТ; 2011. [Georgievsky VP, ed. *Analytical Chemistry in the Creation, Standardization and Quality Control of Medicines*. V. 2. Kharkov: NTMT; 2011 (In Russ.)]
2. Осипов АС, Попова ОА, Милкина СЕ, Грецкая ТН, Сулименкова АИ. Применение хроматографической колонки с амидным сорбентом для анализа парабенов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(1):56–60. [Osipov AS, Popova OA, Milkina SE, Gretskaia TN, Sulimenkova AI. The use of a chromatographic column packed with amide sorbent for the analysis of parabens. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(1):56–60 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-1-56-60>
3. Исупова НЮ. Быстрая хроматография. От сокращения времени анализа к новым областям применения. *Фармацевтические технологии и упаковка*. 2013;(3):70–2. [Isupova NYu. Fast chromatography. From reducing analysis times to new applications. *Farmat-*

sevticheskie tekhnologii i upakovka = Pharmaceutical Technology and Packaging. 2013;(3):70–2 (In Russ.)]

4. Яшин ЯИ, Яшин АЯ. Современные тенденции в хроматографических методах и приборостроении. В кн.: *Материалы Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез»*. Краснодар; 2013. [Yashin YaI, Yashin AYa. Current trends in chromatographic methods and instrumentation. In: *Materials of the All-Russian Conference «Analytical Chromatography and Capillary Electrophoresis»*. Krasnodar; 2013 (In Russ.)]
5. Pena A, Chmielova D, Lino CM, Solich P. Determination of fluoroquinolone antibiotics in surface waters from Mondego River by high performance liquid chromatography using a monolithic column. *J Sep Sci*. 2007;30(17):2924–8. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700363>
6. Hubicka U, Zmudzki P, Zuromska-Witek B, Zajdel P, Krzek J. Determination and characterization of selected fluorquinolones oxidation products under potassium permanganate treatment. *Acta Poloniae Pharmaceutica — Drug Research*. 2015;72(6):1101–14.
7. Pous-Torres S, Torres-Lapasio JR, Garcia-Alvarez-Coque MC. Comparison of the performance of Chromolith® Performance RP-18e, 1.8-mm Zorbax Eclipse XDB-C18 and XTerra MSC18, based on modelling approaches. *Anal Bioanal Chem*. 2013;405(7):2219–31. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6448-y>

ОБ АВТОРАХ

Кулешова Светлана Ивановна, канд. биол. наук, начальник лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9103-9239>

Удалов Владимир Сергеевич, главный эксперт лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Симонова Елена Павловна, ведущий эксперт лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Денисова Ирина Анатольевна, ведущий эксперт лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Мишкин Дмитрий Викторович, инженер-лаборант лаборатории антибиотиков Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

AUTHORS

Svetlana I. Kuleshova, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Antibiotics of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9103-9239>

Vladimir S. Udalov, Chief Expert of the Laboratory of Antibiotics of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products

Elena P. Simonova, Leading Expert of the Laboratory of Antibiotics of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products

Irina A. Denisova, Leading Expert of the Laboratory of Antibiotics of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products

Dmitry V. Mishkin, Laboratory Technician of the Laboratory of Antibiotics of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products

Статья поступила 27.07.2018

После доработки 19.10.2018

Принята к печати 19.11.2018

Article was received 27 July 2018

Revised 19 October 2018

Accepted for publication 19 November 2018



**Подписку на журнал можно оформить
в любом отделении «Почты России».**

Подписной индекс издания:
в каталоге Агентства «Роспечать»

**«Издания органов научно-технической
информации» — 57942**

С любого номера
в региональных агентствах подписки:

Урал-Пресс (www.ural-press.ru) — 57942

По объединенному каталогу

«Пресса России» (www.pressa-rf.ru) — Ф57942



9771991291005