

Volume 9, No. 3 2019

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 9, № 3 2019

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 — 0,394.

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:

Агатонович-Куштрин Снежана, д-р фарм. наук, проф.,
Университет Ла Троба (Бендиго, Австралия)

Аляутдин Ренат 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, Институт
токсикологии (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)

Ордабаева Сауле Кутымовна, д-р фарм. наук, проф.,
Южно-Казахстанская медицинская академия (Шым-
кент, Республика Казахстан)

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

Прокофьева Вера Ивановна, д-р фарм. наук, проф., Пер-
вый 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.
(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, проф., РМАНПО (Москва, Россия)

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

Ягудина Роза Исмаиловна, д-р фарм. наук, проф., Пер-
вый 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 Гуломкоиди Мукамал, д-р биол. наук, д-р
фарм. наук, проф., ТГПУ им. С. Айни (Душанбе,
Республика 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)

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

Лепяхин Владимир Константинович, член-корр. РАН,
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)

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 (Мо-
сква, Россия)

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

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:

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

РЕДАКТОР:

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

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

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

Хрущева Мария Леонидовна, канд. хим. 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 licensing 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,
Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF:

Boris K. Romanov, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof.,
Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD:

Snezana Agatonovic-Kustrin, Dr. Sci. (Pharm.), Prof.,
La Trobe University (Bendigo, Australia)

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)

Saule K. Ordabaeva, Dr. Sci. (Pharm.), Prof., South Kazakhstan
Medical Academy (Shymkent, Republic of Kazakhstan)

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. (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., Gabrichievsky
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,
Republic of 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)

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Prof., 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)

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)

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)

EDITOR:

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

SCIENCE EDITORS:

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

Maria L. Khrushcheva, Cand. Sci. (Chem.), 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 9, № 3 2019

ОБЗОРЫ

- О. А. Горошко, Л. М. Красных, В. Г. Кулес, В. И. Зозина
Значение редокс-статуса коэнзима Q10 как биомаркера окислительного стресса 146
- Ю. Р. Биглова, Н. В. Гадасина, Т. Н. Боковой, Е. Л. Ковалева, С. А. Немыкина, Т. В. Моргунова,
Т. В. Мастеркова, Л. А. Стронова, Е. П. Герникова
Неспецифические примеси в фармацевтических субстанциях: особенности методик их определения . . . 153
- Е. А. Сокова, Р. А. Чилова, О. А. Демидова, К. О. Аюпов
Клинико-фармакологические аспекты применения некоторых токолитических препаратов
у беременных с угрозой преждевременных родов 162
- В. М. Щукин, А. А. Ерина, Е. С. Лисман, О. А. Ваганова
Проблемы нормирования мышьяка в бурых водорослях и лекарственных препаратах на их основе . . . 167

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- А. А. Безъязычная, В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая
Оптимизация процедуры изолирования цефепима из биологического материала 173
- Н. П. Антонова, Е. П. Шефер, Н. Е. Семенова, А. М. Калинин, С. С. Прохвятилова, И. М. Моргунов
Применение метода ВЭЖХ для экспертизы и стандартизации лекарственного растительного сырья
«Боярышника цветки» 177
- Д. В. Горячев, Н. Е. Уварова
Оценка биоэквивалентности воспроизведенных препаратов иматиниба и такролимуса
на основе косвенного сравнения результатов изучения их биоэквивалентности 184
- К. А. Кошечкин, Ю. В. Олещук
Оценка эффективности внедрения информационных систем для экспертизы лекарственных средств . . 191

МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

- А. В. Сорокина, С. В. Алексеева, Н. В. Еремина, А. Д. Дурнев
Опыт проведения клинико-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств
(часть 1: гематологические исследования) 197

ИНФОРМАЦИЯ

- Автопробеги в поддержку национальных целей в области здравоохранения 207

ЮБИЛЕЙ

- Владимир Григорьевич Кулес (к 85-летию со дня рождения) 209

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

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное
учреждение «Научный центр экспертизы средств меди-
цинского 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.vedomostincsmpr.ru

Издатель: ООО «НЭИКОН ИСП»
Юридический адрес: 115114, Москва,
ул. Летниковская, д. 4, стр. 5, офис 2.4
Тел./факс: +7 (499) 754-99-94
E-mail: isupport@neicon.ru
Сайт: https://neicon.ru/

Подписано в печать: 16.08.2019
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 9, No. 3 2019

REVIEWS

- O. A. Goroshko, L. M. Krasnykh, V. G. Kukes, V. I. Zozina
Evaluation of Coenzyme Q10 Redox Status as a Biomarker of Oxidative Stress146
- Yu. R. Biglova, N. V. Gadasina, T. N. Bokovikova, E. L. Kovaleva, S.A. Nemykina, T. V. Morgunova,
T. V. Masterkova, L. A. Stronova, E. P. Gernikova
Nonspecific Impurities in Pharmaceutical Substances: Characteristics of Test Methods153
- E. A. Sokova, R. A. Chilova, O. A. Demidova, K. O. Akopov
Clinical Pharmacology Aspects of Some Tocolytic Drugs Used in Pregnant Women at Risk of Preterm Birth . . 162
- V. M. Shchukin, A. A. Erina, E. S. Lisman, O. A. Vaganova
Problems of Establishing Limits for Arsenic Content in Brown Algae
and Brown Algae-Containing Medicinal Products167

ORIGINAL ARTICLES

- A. A. Bezyazchnaya, V. K. Shormanov, L. E. Siplivaya
Optimisation of the Procedure of Cefepime Extraction from Biological Material173
- N. P. Antonova, E. P. Shefer, N. E. Semenova, A. M. Kalinin, S. S. Prokhvatilova, I. M. Morgunov
Application of HPLC for Evaluation and Standardisation of Hawthorn Flower Herbal Substance177
- D. V. Goryachev, N. E. Uvarova
Evaluation of Bioequivalence of Generic Imatinib Products and Generic Tacrolimus Products
Based on Indirect Comparison of the Results of Their Bioequivalence Studies184
- K. A. Koshechkin, Yu. V. Olefir
Assessment of the Effectiveness of Implementation of Information Systems for Medicines Evaluation191

METHODICAL APPROACHES

- A. V. Sorokina, S. V. Alekseeva, N. V. Eremina, A. D. Durnev
Summary of Clinical Laboratory Studies Performed During Preclinical Safety Evaluation of Medicinal Products
(Part I: Haematological Studies)197

INFORMATION

- Motor routes to support national healthcare objectives207

ANNIVERSARY

- Vladimir Grigorievich Kukes (on the 85th Anniversary)209

Mass media registration certificate: PI No. FS77-53169 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

Publisher: «NEICON ISP» LLC
Registered office: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow
115114, Russian Federation
Tel./fax: +7 (499) 754-99-94
E-mail: isupport@neicon.ru
Website: <https://neicon.ru/>

Postal address: 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051
E-mail: vedomosti@expmed.ru
Tel.: +7 (495) 625-43-48, ext. 63-33, 63-34, 63-41
Website: www.vedomostinccsmp.ru

Passed for printing: August 16, 2019
Format 60×90/8. Conventional printed sheets: 8,75
Enamel-paper. Offset printing

Значение редокс-статуса коэнзима Q10 как биомаркера окислительного стресса

О. А. Горошко^{1,*}, Л. М. Красных¹, В. Г. Кукеc¹, В. И. Зозина²

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

²Федеральное 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. Рассмотрена роль убихинона как редокс-молекулы, функциями которой являются перенос электронов в дыхательной цепи митохондрии и регенерация эндогенных антиоксидантов. Изменение редокс-путей электронов вызывает неконтролируемую выработку активных форм кислорода, что приводит к окислительному стрессу и развитию патологий. Цель работы — выявление содержания коэнзима Q10 и значения его редокс-статуса в организме как биомаркера окислительного стресса при различных патологиях, для чего были оценены и обобщены данные о динамике концентраций окисленной, восстановленной формы и общего убихинона при различных патологиях. Содержание общего убихинона в сыворотке крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью было снижено ($0,68 \text{ мкмоль/л}$) по сравнению с контрольной группой ($0,97 \text{ мкмоль/л}$). Редокс-статус, выраженный как отношение концентрации [убихинол]/[убихинон], снижался у пациентов с ишемической болезнью сердца ($0,49 \pm 0,34$), диабетом ($0,26 \pm 0,16$) по сравнению со здоровыми лицами ($1,23\text{—}1,41$). При этом наблюдалась отрицательная корреляция с малоновым диальдегидом. Проведен анализ возможности оценки эффективности статинотерапии по содержанию убихинона в плазме крови пациентов. У пациентов с гиперлипидемией, получавших статины, были достоверно снижены концентрация убихинола после приема препарата (с $0,81$ до $0,46 \text{ мкг/мл}$) и соотношение [убихинол]/[общий убихинон] (с 11 до 10%), что подтверждает потенциальный механизм возникновения статин-ассоциированных поражений мышц. Таким образом, редокс-статус коэнзима Q10, а также концентрация окисленного, восстановленного и общего убихинона могут быть эффективными биомаркерами окислительного стресса при сердечно-сосудистых заболеваниях, диабете, а также важным показателем при оценке эффективности лечения гиперлипидемии.

Ключевые слова: убихинон; убихинол; коэнзим Q10; редокс-статус; сердечно-сосудистые патологии; гиперлипидемия; статины

Для цитирования: Горошко ОА, Красных ЛМ, Кукеc ВГ, Зозина ВИ. Значение редокс-статуса коэнзима Q10 как биомаркера окислительного стресса. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):146–152. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-146-152>

***Контактное лицо:** Горошко Ольга Александровна; olga_goroshko@mail.ru

Evaluation of Coenzyme Q10 Redox Status as a Biomarker of Oxidative Stress

O. A. Goroshko^{1,*}, L. M. Krasnykh¹, V. G. Kukes¹, V. I. Zozina²

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

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

Abstract. The article examines the role of ubiquinone as a redox molecule whose functions consist in electron transport in the mitochondrial respiratory chain and regeneration of endogenous antioxidants. Changes in electron redox pathways cause uncontrolled release of reactive oxygen species, which leads to oxidative stress and development of pathologies. The objective of the study was to determine the content of coenzyme Q10 and its redox status in the human body as a biomarker of oxidative stress in various pathologies. This was achieved by assessing and consolidating data on changes in concentrations of the oxidized, reduced ubiquinone forms and total ubiquinone in various pathologies. Total serum ubiquinone was reduced in patients with chronic heart failure ($0.68 \text{ }\mu\text{mol/L}$) compared with the control group ($0.97 \text{ }\mu\text{mol/L}$). The redox status, expressed as the [ubiquinol]/[ubiquinone] concentration ratio, decreased in patients with coronary heart disease (0.49 ± 0.34), diabetes (0.26 ± 0.16) compared with the healthy subjects ($1.23\text{—}1.41$). A negative correlation with malonic dialdehyde was observed. The authors analysed the possibility of assessing the efficacy of statin therapy by plasma ubiquinone concentration in patients. Patients with hyperlipidemia who received statins showed a statistically significant reduction in ubiquinol concentration after taking the drug (from 0.81 to $0.46 \text{ }\mu\text{g/mL}$) and the [ubiquinol]/[total ubiquinone] ratio (from 11 to 10%), which confirms the potential mechanism of statin-associated muscle injury development. Thus, coenzyme Q10 redox status, as well as the concentrations of oxidized, reduced and total ubiquinone can be effective biomarkers of oxidative stress in cardiovascular diseases, diabetes, as well as an important indicator in evaluating the efficacy of hyperlipidemia treatment.

Key words: ubiquinone; ubiquinol; coenzyme Q10; redox status; cardiovascular pathologies; hyperlipidemia; statins

For citation: Goroshko OA, Krasnykh LM, Kukes VG, Zozina VI. Evaluation of coenzyme Q10 redox status as a biomarker of oxidative stress. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):146–152. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-146-152>

***Corresponding author:** Olga A. Goroshko; olga_goroshko@mail.ru

Основным окислителем органических соединений в аэробных организмах является кислород. При его участии в окислительно-восстановительных процессах (редокс-реакциях) образуются реакционно-способные активные формы кислорода, которые могут выполнять как регуляторные, так и деструктивные действия в биохимических процессах.

В настоящее время много внимания уделяют вопросам поддержания редокс-гомеостаза клетки, характеризующегося равновесием между донорами и акцепторами электронов. Однако четкого представления о редокс-состоянии организма и его количественных характеристиках до сих пор нет.

Процессы переноса электронов в мембранах митохондрий являются ключевым механизмом запасания энергии в клетке и регулируют активность белков и клетки в целом. Сбои в цепи переноса электронов приводят к энергетическим нарушениям в организме, следствием чего является возникновение различных патологий. Нарушение энергетического обмена является одним из звеньев патогенеза гипоксии органов и тканей, что сопровождается снижением тканевого дыхания, падением содержания в клетках аденозинтрифосфата (АТФ) и креатинфосфата. Поэтому мы сочли целесообразным заострить внимание на компонентах ферментативных систем, обеспечивающих транспорт электронов в процессе клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях, в частности коэнзиме Q10. В связи с этим нами были рассмотрены и соответствующие патологии, возникающие в результате нарушения энергетического обмена.

В обратимых окислительно-восстановительных реакциях участвуют парные редокс-молекулы, способные переносить электроны, например никотинамидадениндинуклеотидфосфат окисленный/восстановленный (НАДФ⁺/НАДФН), никотинамидадениндинуклеотид окисленный/восстановленный (НАД⁺/НАДН), аскорбиновая кислота/дегидроаскорбиновая кислота, глутатион восстановленный / глутатион окисленный и др. С участием редокс-молекул формируются редокс-цепи, образующие редокс-системы (система глутатиона, тиоредоксина, Q-цикл превращения убихинона и др.).

Зачастую парные редокс-молекулы являются коферментами оксидоредуктаз, катализирующих окислительно-восстановительные реакции. Одной из таких редокс-молекул является липофильный хинон — коэнзим Q10 (CoQ10), представленный окисленной (убихинон (CoQ10)) и восстановленной (убихинол (CoQ10H₂)) формами. Основой участия CoQ10 в биохимических процессах является протекание обратимого окислительно-восстанови-

тельного процесса благодаря каталитическому действию соответствующего фермента. Редокс-статус убихинона может определяться разными способами: либо как отношение концентраций восстановленной и окисленной форм, либо как отношение концентрации восстановленной формы к концентрации общего убихинона (убихинол + убихинон) или окисленной формы к общему убихинону.

Цель работы — определение значения коэнзима Q10 и его редокс-статуса в организме как биомаркера окислительного стресса при различных патологиях.

РОЛЬ КОЭНЗИМА Q10 В ОРГАНИЗМЕ

Коэнзим Q10 играет значительную роль в биореакциях организма и имеет несколько функций, одна из которых — участие в энергетических процессах. Убихинон выполняет роль переносчика электронов в дыхательной цепи митохондрии от комплекса I (белковый комплекс, включающий НАДН — убихинон — оксидоредуктазу) и от комплекса II (катализатор сукцинатдегидрогеназы) к комплексу III (включающий убихинон — цитохром C-оксидоредуктазу). Таким образом он «собирает» водород, поставляемый различными коферментами и простетическими группами компонентов дыхательной цепи, и передает его далее к цитохромам. При этом молекулы убихинона содержатся в 10–15-кратном избытке по отношению к другим компонентам дыхательной цепи.

Участие CoQ10 во внутриклеточном транспорте электронов сопряжено с окислительным фосфорилированием. Отданные субстратами протоны и электроны переносятся убихиноном на внутреннюю мембрану митохондрий. Через мембрану они транспортируются таким образом, что между внутренней и внешней сторонами мембраны создается электрохимический градиент с положительным потенциалом снаружи и отрицательным внутри. Неравновесное распределение зарядов служит движущей силой для процесса регенерации АТФ из аденозиндифосфата (АДФ) с участием АТФ-синтазы, а также других процессов, требующих затраты энергии.

Таким образом, CoQ10 опосредованно способствует выработке АТФ и включается во все энергетически зависимые процессы сердца, такие как сердечное сокращение и работа АТФ-зависимых мембранных каналов [1]. Дефицит убихинона приводит к снижению возможности передачи электронов, что тормозит процесс окислительного фосфорилирования и уменьшает выработку АТФ.

Другая функция CoQ10 — это функция основного и регенерирующего антиоксиданта, который

защищает плазматическую мембрану клетки от перекисного окисления липидов, предотвращает окислительные модификации белков, липидов и ДНК, а также принимает участие в контроле структуры мембраны и ее фосфолипидного состава [2, 3].

Способность коэнзима Q10 обратимо окисляться и восстанавливаться проявляется в восстановлении других антиоксидантов. Зависящий от кофермента транспорт электронов через клеточную мембрану через Q-зависимые оксидоредуктазы используется в регенерации токоферил-радикала, аскорбата из его радикала монодегидроаскорбата и др. [4].

От концентрации убихинола и α -токоферола в мембране зависит активность ферментов, участвующих в транспорте электронов через мембрану (НАДН-цитохром-b5-редуктаза, НАДН/НАДФН-оксидоредуктазы и НАДФН-коэнзим-Q-редуктаза), в совокупности составляющих редокс-систему плазматической мембраны и обеспечивающих нормальное функционирование редокс-системы клетки [1, 5].

Коэнзим Q10 обнаруживается во всех тканях организма. В клетках он локализован преимущественно в митохондриях. В результате поддержания определенного редокс-гомеостаза концентрации основных восстановителей и окислителей в клетках и тканях существенно различаются. В сыворотке крови отношение [убихинон]/[убихинол] составляет 5:95.

Ткани организма с усиленным метаболизмом в таких органах, как сердце, мозг, почки, печень, скелетные мышцы характеризуются более высоким содержанием убихинона. Обнаружено, что при разных патологиях прием препаратов, влияющих на синтез убихинона, оказывает положительный эффект именно на работу этих органов (табл. 1) [2, 6].

При изучении влияния возраста и пола на содержание CoQ10 в сыворотке крови было выявлено,

что независимо от возраста у женщин концентрация CoQ10 была ниже, чем у мужчин. У пожилых людей обоих полов снижение концентрации CoQ10 сопровождалось сдвигом редокс-статуса в сторону окисленной формы [7].

Исследования показали, что CoQ10 в большей степени содержится в плазме, а не в клеточных компонентах. Однако имеется взаимосвязь между убихиноном плазмы и цельной крови. В крови убихинон существует как часть хиломикрон, из которых он извлекается и после отложения в печени переносится липопротеинами низкой (ЛПНП) или высокой (ЛПВП) плотности, где проявляет антиоксидантные свойства, регенерируя токоферил-радикалы до токоферола. Доля CoQ10, переносимого ЛПНП, составляет $58 \pm 10\%$, в то время как количество переносимого ЛПВП — $26 \pm 8\%$. Содержание CoQ10 в отдельных классах липопротеинов взаимосвязано с концентрацией CoQ10 в плазме. Неудивительно поэтому, что концентрация общего убихинона растет с увеличением концентрации холестерина (коэффициент корреляции (r) равен 0,63, уровень значимости (p) $< 0,001$) [8].

В середине прошлого столетия появилась свободнорадикальная теория окислительного повреждения организма, которая до сегодняшнего дня остается доминирующей [9]. Согласно этой теории свободнорадикальные процессы являются сугубо патологическими. Однако со временем стало понятно, что генерация свободных радикалов и активных форм кислорода физиологически оправдана в определенных концентрациях и при определенной интенсивности. Опасным для организма является напряжение антиоксидантной системы. Поэтому новым подходом к изучению окислительного стресса стало формулирование положений редокс-гипотезы окислительного стресса [10].

Таблица 1. Распределение убихинона и убихинола в тканях

Table 1. The distribution of ubiquinone and ubiquinol in tissues

Орган Body organ	Концентрация убихинона (мкг/г) Ubiquinone concentration ($\mu\text{g/g}$)	Концентрация убихинола (мкг/г) Ubiquinol concentration ($\mu\text{g/g}$)
Сердце Heart	132,0	61,0
Почки Kidneys	77,0	75,0
Печень Liver	63,6	95,0
Мышцы Muscle	39,7	65,0
Мозг Brain	13,4	23,0
Легкие Lungs	7,9	25,0
Плазма (мкмоль/мл) Plasma ($\mu\text{mol/mL}$)	1,1	96,0

Из редокс-гипотезы следует, что окислительный стресс — это нарушение функционирования редокс-цепей, обусловливаемое неспецифичными реакциями с тиоловыми элементами редокс-молекул или других специфических редокс-цепей, например митохондриальной дыхательной цепи, с последующим изменением пути переноса электронов или разобщением узловых механизмов, контролирующих поток электронов через эти пути. Повреждения координации редокс-путей электронов вызывают неконтролируемую выработку активных форм кислорода, что может приводить к окислительному стрессу и развитию патологий [11].

Нарушение функционирования убихинон-ассоциированных редокс-цепей напрямую связано с содержанием CoQ10 в биологических средах организма. Не так давно определение содержания коэнзима Q10 приобрело клинико-диагностическое значение, в особенности при метаболических и митохондриальных нарушениях, аномалиях окислительного стресса [12]. Снижение уровня кофермента Q10 у человека наблюдается при многих патологиях (например, при сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваниях, СПИДе, раке) и связано с интенсивным образованием свободных радикалов [13].

ДИНАМИКА КОЭНЗИМА Q10 ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) характеризуется потерей сократительной функции, основной причиной которой является неспособность митохондрий к адекватному снабжению миокарда АТФ, что приводит к недостатку энергии в клетках и последующему некрозу [14]. Повышение уровня активных форм кислорода на фоне снижения содержания убихинона служит пусковым механизмом к открытию митохондриальных пор и активации апоптоза.

Установлено, что содержание CoQ10 в плазме крови у больных ХСН на 33 % ниже, чем у здоровых, и составляет в среднем около 0,68 мкмоль/л. Таким образом, CoQ10 является важным маркером состояния энергоснабжения миокарда, и чем тяжелее заболевание, тем ниже уровень коэнзима [15].

Проведено исследование, где показана взаимосвязь между содержанием CoQ10 в плазме крови и выживаемостью у пациентов с ХСН. При концентрациях убихинона ниже 0,49 мкмоль/л смертность увеличивалась. Кроме того, более высокая смертность коррелировала с очень низкими концентрациями общего холестерина, а, как уже было сказано, уровень содержания CoQ10 в плазме связан с уровнем липопротеинов и холестерина. Дефицит CoQ10 можно рассматривать как негативный показатель прогноза ХСН, что обосновывает исследования медикаментозной коррекции содержания CoQ10 [16]. Также наблюдается зависимость тяжести течения

ХСН от уровня других маркеров окислительного стресса: отмечается повышение уровня малонового диальдегида (МДА) в крови и изопростана в моче, а также снижение уровня внеклеточной супероксиддисмутазы (СОД) [17].

Исследований, касающихся изучения непосредственно редокс-статуса CoQ10 при ХСН, нами не выявлено, поэтому данная тема актуальна для дальнейшей экспериментальной работы.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ КОЭНЗИМА Q10 ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Ряд исследований указывает на связь ишемической болезни сердца (ИБС) и низкого содержания кофермента Q10 в плазме. Согласно имеющимся данным [18], концентрация CoQ10 в плазме крови у нормолипидемических пациентов с ИБС была ниже, чем у здоровых лиц в контрольной группе, и составила 0,41 и 0,77 мкмоль/л соответственно. Концентрация восстановленной формы (убихинола) также была значительно ниже контроля. Отношение [убихинол]/[убихинон] у пациентов с ИБС и здоровых лиц составило $0,49 \pm 0,34$ и $1,23 \pm 0,84$ соответственно. Также у этих пациентов наблюдаются меньшие значения отношения [общий убихинон]/[ЛПНП] по сравнению с контрольной группой.

Известно, что существует связь между степенью повреждения ДНК и тяжестью ИБС [19]. 8-Гидрокси-2-дезоксигуанозин (8-ОНдГ) является одним из наиболее распространенных маркеров повреждения ДНК, в частности дезоксигуанозина, активными формами кислорода. Повреждение ДНК также в значительной степени способствует развитию и прогрессированию атеросклероза. Проведенные исследования показали наличие достоверной отрицательной корреляции между отношениями [8-ОНдГ]/[дезоксигуанозин] и [убихинол]/[убихинон] ($r = -0,514$; $p < 0,01$), а также между уровнями МДА и отношением [убихинол]/[убихинон] ($r = -0,190$; $p < 0,05$). Таким образом убихинон выполняет протекторную функцию по отношению к ДНК.

Дефицит коэнзима снижает энергетические возможности митохондрий. В одном из исследований [19] было показано, что ИБС сопровождается значительным снижением концентрации коэнзима Q10 в плазме и активности каталазы и глутатионпероксидазы, а также более высоким уровнем МДА и СОД по сравнению с контрольной группой. Выявлено, что более высокий уровень коэнзима Q10 в плазме ($\geq 0,52$ мкмоль/л) связан с уменьшением риска ИБС [20].

Наряду с высоким уровнем общего холестерина и триглицеридов в плазме у пациентов с ИБС отмечался и более высокий уровень убихинола. Это объясняется его липофильной природой и локализацией в липидах плазмы. Однако процентное отношение [убихинол]/[общий убихинон] оказалось

значительно ниже у пациентов с ИБС (76,3 %), с гиперлипидемией (76,7 %) или у пациентов с заболеваниями печени (72,4 %) по сравнению с контролем (80,6, 83,1 и 84,6 % соответственно). Это может быть связано с возникающей при гиперлипидемии дисфункцией печени. При этом у пациентов с ИБС без гиперлипидемии значительного снижения концентрации убихинола не наблюдалось. Исследователи пришли к выводу, что снижение уровня убихинола в плазме человека может быть показателем наличия дисфункции печени [21].

ДИНАМИКА КОЭНЗИМА Q10 ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ И СТАТИНОТЕРАПИИ

По некоторым данным, атеросклероз при сердечно-сосудистых заболеваниях развивается вследствие нарастания перекисного окисления липидов и окисления липопротеинов низкой плотности.

Отмечено, что высокие уровни CoQ10 в плазме коррелируют с низким уровнем перекисного окисления липидов и окисленных ЛПНП у пожилых людей. При этом коэнзим Q10 ингибирует окисление ЛПНП гораздо сильнее, чем токоферол и бета-каротин [4, 22]. Установлена также положительная корреляция между отношением [ЛПНП]/[CoQ10] и отношением [общий холестерин]/[ЛПВП] ($r = 0,3$; $p < 0,05$), которое обычно считается фактором риска развития атеросклероза [8].

При ИБС с высоким уровнем холестерина и атерогенных липопротеинов для снижения сердечно-сосудистого риска пациентам рекомендованы гиполипидемические лекарственные препараты, в первую очередь относящиеся к категории статинов. Статины представляют собой ингибиторы фермента 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим-А-редуктазы (HMG-CoA), катализирующего первый этап образования холестерина — синтез мевалоновой кислоты, предшественника холестерина в печени. Кроме этого, мевалонат является предшественником и синтеза CoQ10.

Из-за общего пути биосинтеза холестерина и убихинона при лечении статинами их синтез тормозится одновременно. Дефицит CoQ10 в результате лечения статинами может нарушить клеточный энергетический обмен и способствовать развитию миалгии, миопатии и других мышечных симптомов вплоть до рабдомиолиза [23, 24].

В ряде исследований рассматривали, как влияет прием статинов на уровень общего убихинона и его редокс-статус. В работе [25] показана динамика содержания окисленной и восстановленной формы убихинона у пациентов с гиперхолестеринемией, получавших аторвастатин в течение 8 недель. Было отмечено снижение уровней убихинола и убихинона в сыворотке крови с $0,81 \pm 0,21$ до $0,46 \pm 0,10$ мкг/мл и с $0,1 \pm 0,01$ до $0,06 \pm 0,02$ мкг/мл соответственно. Также значительно уменьшился редокс-статус,

выраженный в процентах как отношение концентраций убихинона и общего убихинона (11 % до начала лечения и 10 % после приема статинов соответственно), общий уровень холестерина и ЛПНП в сыворотке крови. Была выявлена положительная корреляция между снижением убихинола и общего холестерина ($r = 0,627$, $p = 0,0165$).

В другой работе применение аторвастатина у пациентов с гиперхолестеринемией привело к значительному снижению (в 2 раза) концентрации общего убихинона уже на 14 сутки. Двойное слепое плацебо-контролируемое исследование на здоровых добровольцах, получавших правастатин или симвастатин в течение 4 недель, показало аналогичное снижение содержания CoQ10 в крови (на 50 и 54 % соответственно) [26].

У пациентов с гиперхолестеринемией, получавших симвастатин, снижение концентрации убихинона сопровождалось уменьшением максимальной емкости окислительного фосфорилирования в митохондриях скелетных мышц. Это частично объясняет такие побочные действия статинов, как мышечная боль и непереносимость физических нагрузок [27]. При терапии препаратами с коэнзимом Q10 в течение 30 дней у пациентов с симптомами миопатии выраженность мышечных болей снижалась на 40 % [28].

Однако данные о нарушении статинами редокс-статуса убихинона противоречивы. В других работах не было обнаружено различий в содержании общего коэнзима между группами принимающих и не принимающих статины [29, 30].

Авторы работы [31] провели метаанализ рандомизированных контролируемых исследований (РКИ) с использованием статинов при сердечно-сосудистых заболеваниях, где было оценено 12 РКИ с 1778 участниками. Лечение статинами привело к снижению концентрации CoQ10 по сравнению с плацебо. Анализ в подгруппах показал, что и липофильные, и гидрофильные статины снижали концентрацию CoQ10, между этими двумя группами различий не наблюдалось. При этом концентрация CoQ10 снижалась как при умеренной, так и при высокоинтенсивной статинотерапии. Результаты регрессионного метаанализа не позволили связать снижение концентрации CoQ10 с продолжительностью лечения статинами. Таким образом, данное исследование подтверждает потенциальный механизм возникновения статин-ассоциированных мышечных симптомов и предполагает, что убихинон-содержащие препараты можно применять для коррекции статинотерапии.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ КОЭНЗИМА Q10 ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Известно, что уровень CoQ10 в плазме снижается при сахарном диабете. По некоторым данным,

при нарушении углеводного обмена и стойкой гиперлипидемии изменяется редокс-статус убихинона. При этом развивается гиперпродукция активных форм кислорода и состояние окислительного стресса. Интересно, что изменение соотношения восстановленной и окисленной форм убихинона может быть более варибельным фактором, чем уровень общего убихинона [32, 33].

Высокий уровень убихинона при низком уровне убихинола указывает на неэффективную конверсию между убихиноном и убихинолом, что усиливает скорость образования свободных радикалов. В исследовании [33] было выявлено, что соотношение [убихинол]/[убихинон] намного ниже у пациентов с диабетом, чем у здоровых людей ($0,26 \pm 0,16$ и $1,41 \pm 0,68$ соответственно). При этом так же, как и при сердечно-сосудистых заболеваниях, была установлена отрицательная корреляция между концентрацией МДА и соотношением [убихинол]/[убихинон].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Редокс-статус коэнзима Q10, а также концентрация окисленного, восстановленного и общего убихинона могут быть эффективными биомаркерами окислительного стресса при таких заболеваниях, как хроническая сердечная недостаточность,

ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, диабет и др. Возможно, что редокс-статус коэнзима Q10 при лечении статинами станет важным показателем при оценке эффективности лечения гиперлипидемии.

При снижении содержания окисленной и восстановленной формы убихинона возможно назначение лекарственных средств с коферментом Q10, а также препаратов, усиливающих биосинтез убихинона в организме. Следовательно, для оценки дефицита коэнзима Q10 и эффективности его медикаментозной коррекции необходимо определение редокс-статуса и уровня убихинона в организме.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 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. Crane FL. Biochemical functions of Coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr.* 2001;20(6):591–98. PMID: 11771674
2. Ernster L, Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta.* 1995;1271(1):195–204. [https://doi.org/10.1016/0925-4439\(95\)00028-3](https://doi.org/10.1016/0925-4439(95)00028-3)
3. Belliere J, Devun F, Cottet-Rousselle C, Batandier C, Leverve X, Fontaine E. Prerequisites for ubiquinone analogs to prevent mitochondrial permeability transition-induced cell death. *J Bioenerg Biomembr.* 2012;44(1):207–12. <https://doi.org/10.1007/s10863-012-9434-3>
4. Stocker R, Bowry VW, Frei B. Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does alpha-tocopherol. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88(5):1646–50. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.5.1646>
5. Мартинович ГГ, Черенкевич СН. Окислительно-восстановительные процессы в клетках: Монография. Минск: БГУ; 2008. [Martynovich GG, Cherenkevich SN. *Oxidation-reduction processes in cells: Monograph.* Minsk: BSU; 2008 (In Russ.)]
6. Miles MV, Horn PS, Morrison JA, Tang PH, DeGrauw T, Pesce AJ. Plasma coenzyme Q10 reference intervals, but not redox status, are affected by gender and race in self-reported healthy adults. *Clin Chim Acta.* 2003;332(1–2):123–32. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(03\)00137-2](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(03)00137-2)
7. Niklowitz P, Menke T, Andler W, Okun JG. Simultaneous analysis of coenzyme Q10 in plasma, erythrocytes and platelets: comparison of the antioxidant level in blood cells and their environment in healthy children and after oral supplementation in adults. *Clin Chim Acta.* 2004;342(1–2):219–26. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.12.020>
8. Tomasetti M, Alleva R, Solenghi MD, Littarru GP. Distribution of antioxidants among blood components and lipoproteins: significance of lipids/CoQ10 ratio as a possible marker of increased risk for atherosclerosis. *Biofactors.* 1999;9(2–4):231–40. <https://doi.org/10.1002/biof.5520090218>
9. Черенкевич СН, Мартинович ГГ, Мартинович ИВ, Горудко ИВ, Шамова ЕВ. Редокс-регуляция клеточной активности: концепции и механизмы. *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук.* 2013;(1):92–108. [Cherenkevich SN, Martynovich YY, Martynovich IV, Gorudko IV, Shamova EV. Redox regulation of cellular activity: concepts and mechanisms. *Vestsi Natsyianalnay akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Biological Sciences.* 2013;(1):92–108 (In Russ.)]
10. Jones DP. Redox theory of aging. *Redox Biol.* 2015;5(2):71–9. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.03.004>
11. Прадедова ЕВ, Нимаева ОД, Салаяев РК. Редокс-процессы в биологических системах. *Физиология растений.* 2017;64(6):433–45. [Pradedova EV, Nimaev OD, Salyaev RK. Redox processes in biological systems. *Fiziologiya rasteniy = Plant Physiology.* 2017;64(6):433–45 (In Russ.)] <https://doi.org/10.1134/S1021443717050107>
12. Николаева ЕА, Харабадзе МН, Золкина ИВ, Кулагина ТЕ, Васина ТН, Ставцева СН и др. Диагностическое значение уровня коэнзима Q10 в крови у детей с митохондриальными заболеваниями. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2015;60(5):71–5. [Nikolaeva EA, Kharabadze MN, Zolkina IV, Kulagina TE, Vasina TN, Stavtseva SN, et al. Diagnostic value of blood coenzyme Q10 levels in children with mitochondrial diseases. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2015;60(5):71–5 (In Russ.)]
13. Contin M, Flor S, Martinefski M, Lucangioli S, Tripodi V. New analytical strategies applied to the determination of Coenzyme Q10 in biological matrix. *Methods Mol Biol.* 2015;1208:409–20. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1441-8_29
14. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia and heart failure. *J Clin Invest.* 2005; 115(3):500–8. <https://doi.org/10.1172/JCI24408>
15. Mortensen SA. Overview on Coenzyme Q10 as adjunctive therapy in chronic heart failure. Rationale, design and end-points of «Q-symbio» — a multinational trial. *Biofactors.* 2003;18(1–4):79–89. <https://doi.org/10.1172/JCI24408>
16. Molyneux SL, Florkowski CM, George PM, Pilbrow AP, Frampton CM, Lever M., et al. Coenzyme Q10: an independent predictor of mortality

- in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(18):1435–41. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.07.044>
17. Pepe S, Marasco SF, Haas SJ, Sheeran FL, Krum H, Rosenfeldt FL. Coenzyme Q10 in cardiovascular disease. *Mitochondrion*. 2007;(7):154–67. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.02.005>
 18. Yalcin A, Kilin E, Sagcan A, Kultursu H. Coenzyme Q10 concentrations in coronary artery disease. *Clin Biochem*. 2004;37:706–9. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2004.02.008>
 19. Kaya Y, Çebi A, Söylemez N, Demir H, Alp HH, Bakan E. Correlations between oxidative DNA damage, oxidative stress and coenzyme Q10 in patients with coronary artery disease. *Int J Med Sci*. 2012;9(8):621–26. <https://doi.org/10.7150/ijms.4768>
 20. Lee BJ, Lin YC, Huang YC, Ko YW, Hsia S, Lin PT. The relationship between coenzyme Q10, oxidative stress, and antioxidant enzymes activities and coronary artery disease. *Scientific World Journal*. 2012;2012:1–8. <http://doi.org/10.1100/2012/792756>
 21. Kontush A, Schippling S, Spranger T, Beisiegel U. Plasma ubiquinol-10 as a marker for disease: is the assay worthwhile? *Biofactors*. 1999;9(2–4):225–9. <https://doi.org/10.1002/biof.5520090217>
 22. Sharma A, Fonarow GC, Butler J, Ezekowitz JA, Felker GM. Coenzyme Q10 and heart failure: a state-of-the-art review. *Circ Heart Fail*. 2016;9(4):e002639. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002639>
 23. Драпкина ОМ, Чернова ЕМ, Корнеева ОН. Статины и миопатия: молекулярные механизмы. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2012;8(3):469–73. [Drapkina OM, Chernova EM, Korneeva ON. Statins and myopathy: molecular mechanisms. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2012;8(3):469–73 (In Russ.)]
 24. Румянцев НА, Кукес ВГ, Казаков РЕ, Румянцев АА, Сычев ДА. Использование фармакогенетического тестирования для предотвращения нежелательных лекарственных реакций при терапии статинами. *Терапевтический архив*. 2017;89(1):82–7. [Rumyantsev NA, Kukes VG, Kazakov RE, Rumyantsev AA, Sychev DA. Use of pharmacogenetic testing to prevent undesirable drug reactions during statin therapy. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*. 2017;89(1):82–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/terarkh201789182-87>
 25. Mabuchi H, Higashikata T, Kawashiri M, Katsuda S, Mizuno M, No-hara A, et al. Reduction of serum ubiquinol-10 and ubiquinone-10 levels by atorvastatin in hypercholesterolemic patients. *J Atheroscler Thromb*. 2005;12(2):111–9. <https://doi.org/10.5551/jat.12.111>
 26. Rundek T, Naini A, Sacco R, Coates K, DiMauro S. Atorvastatin decreases the Coenzyme Q10 level in the blood of patients at risk for cardiovascular disease and stroke. *Arch Neurol*. 2004;61(6):889–92. <https://doi.org/10.1001/archneur.61.6.889>
 27. Larsen S, Stride N, Hey-Mogensen M, Hansen CN, Bang LE, Bundgaard H, et al. Simvastatin effects on skeletal muscle relation to decreased mitochondrial function and glucose intolerance. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(1):44–53. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.09.036>
 28. Caso G, Kelly P, McNurlan MA, Lawson WE. Effect of coenzyme Q10 on myopathic symptoms in patients treated with statins. *Am J Cardiol*. 2007;99(10):1409–12. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.12.063>
 29. Marcoff L, Thompson PD. The role of coenzyme Q10 in statin-associated myopathy: a systematic review. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(23):2231–7. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.049>
 30. Blescke B, Willis R, Anthony M, Casselberry N, Datwani M, Uhley VE. The effect of pravastatin and atorvastatin on coenzyme Q10. *Am Heart J*. 2001;142(2):E2. <https://doi.org/10.1067/mhj.2001.116762>
 31. Qu H, Meng Y, Chai H, Liang F, Zhang JY, Gao Z, Shi DZ. The effect of statin treatment on circulating coenzyme Q10 concentrations: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Med Res*. 2018;23(1):57. <https://doi.org/10.1186/s40001-018-0353-6>
 32. Sourris KC, Harcourt BE, Tang PH, Morley AL, Huynh K, Penfold SA, et al. Ubiquinone (coenzyme Q10) prevents renal mitochondrial dysfunction in an experimental model of type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med*. 2012;52(3):716–23. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.017>
 33. Ates O, Bilen H, Keles S, Alp HH, Keleş MS, Yildirim K, et al. Plasma coenzyme Q10 levels in type 2 diabetic patients with retinopathy. *Int J Ophthalmol*. 2013;6(5):675–9. <https://doi.org/10.3980/j.issn.2222-3959.2013.05.24>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Горошко Ольга Александровна, канд. фарм. наук. *Olga A. Goroshko*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0448-3612>
Красных Людмила Михайловна, канд. биол. наук. *Lyudmila M. Krasnykh*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3650-6014>
Кукес Владимир Григорьевич, академик РАН, д-р мед. наук, проф. *Vladimir G. Kukes*, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-5112-6928>
Зозина Владлена Игоревна. *Vladlena I. Zozina*. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2036-7435>

Статья поступила 20.03.2019
После доработки 28.05.2019
Принята к печати 16.08.2019

Article was received 20 March 2019
Revised 28 May 2019
Accepted for publication 16 August 2019

Неспецифические примеси в фармацевтических субстанциях: особенности методик их определения

Ю. Р. Биглова, Н. В. Гадасина, Т. Н. Боковикова*, Е. Л. Ковалева, С. А. Немыкина,
Т. В. Моргунова, Т. В. Мастеркова, Л. А. Стронова, Е. П. Герникова

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

Резюме. Одним из факторов эффективности и безопасности готовых лекарственных средств является качество используемых фармацевтических субстанций, критерии оценки чистоты которых обусловлены их составом и технологией получения, а также особенностями производства и применения лекарственных препаратов. Обязательному нормированию подлежат неспецифические примеси органической и неорганической природы, микробного происхождения, остаточные растворители. Цель работы — анализ особенностей методик определения неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях. Для оценки их содержания Государственная фармакопея Российской Федерации предусматривает использование различных химических, физических, физико-химических и биологических методов анализа. При определении неорганических катионов и анионов, как правило, проводится сравнение с растворами соответствующих эталонов или фиксируется отсутствие положительной реакции в испытуемом растворе. Для количественного анализа микропримесей достаточно широко используются высокоспецифичные и чувствительные методы: атомно-абсорбционная спектрометрия, атомно-эмиссионная и масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Содержание остаточных органических растворителей определяется методами газовой или высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для оценки чистоты и обеспечения безопасности применения фармацевтических субстанций используются биологические испытания: «Микробиологическая чистота», «Стерильность», «Пирогенность», «Бактериальные эндотоксины». Индивидуальные особенности методик проведения испытаний на содержание неспецифических примесей в различных фармацевтических субстанциях обусловлены физико-химическими свойствами исследуемых соединений, токсичностью анализируемых примесей и допустимыми пределами их содержания. Результаты работы позволяют сформулировать методологический подход к разработке критериев оценки качества фармацевтических субстанций, сочетающий обязательное соблюдение основных принципов стандартизации субстанций, индивидуальный выбор показателей качества, особых условий проведения испытаний и норм содержания примесей.

Ключевые слова: неспецифические примеси; фармацевтические субстанции; Государственная фармакопея; стандартизация; контроль качества

Для цитирования: Биглова ЮР, Гадасина НВ, Боковикова ТН, Ковалева ЕЛ, Немыкина СА, Моргунова ТВ, Мастеркова ТВ, Стронова ЛА, Герникова ЕП. Неспецифические примеси в фармацевтических субстанциях: особенности методик их определения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):153–161. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-153-161>

***Контактное лицо:** Боковикова Татьяна Николаевна; Bokovikova@expmed.ru

Nonspecific Impurities in Pharmaceutical Substances: Characteristics of Test Methods

Yu. R. Biglova, N. V. Gadasina, T. N. Bokovikova*, E. L. Kovaleva, S.A. Nemykina,
T. V. Morgunova, T. V. Masterkova, L. A. Stronova, E. P. Gernikova

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

Abstract. One of the prerequisites of efficacy and safety of finished pharmaceutical products is the quality of pharmaceutical substances used in their production. Criteria of assessment of pharmaceutical substance purity are determined by the substance composition and production technology, as well as by specific aspects of the finished pharmaceutical product production and use. It is necessary to control the content of nonspecific organic and inorganic impurities, impurities of microbial origin, and residual solvents. The aim of the study was to analyse characteristics of test methods used to determine nonspecific impurities in pharmaceutical substances. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation describes various chemical, physical, physicochemical and biological tests for the analysis of nonspecific impurities. Determination of inorganic cations and anions usually includes comparison of test solutions with solutions of the corresponding reference standards, or checking the absence of a positive reaction in the test solution. Quantitative analysis of trace impurities largely relies on highly specific and sensitive test methods, such as atomic absorption spectrometry, atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. The content of residual organic solvents is determined by gas chromatography or high-performance liquid chromatography. The purity and safety of pharmaceutical substances are ensured by biological tests: “Microbial quality”, “Sterility”, “Pyrogenicity”, “Bacterial endotoxins”. Specific characteristics of test methods used for determination of the content of nonspecific impurities in various pharmaceutical substances depend on physicochemical properties of the tested substances, toxicity of the analysed impurities, and content limits. The results of the study make it possible to formulate a methodological approach to the development of criteria for assessing the quality of pharmaceutical substances. This approach includes mandatory compliance with the basic principles of substance

standardisation, as well as case-by-case selection of quality parameters, specific test conditions and content limits for impurities.
Key words: nonspecific impurities; pharmaceutical substances; State Pharmacopoeia of the Russian Federation; standardisation; quality control

For citation: Biglova YuR, Gadasina NV, Bokovikova TN, Kovaleva EL, Nemykina SA, Morgunova TV, Masterkova TV, Stronova LA, Gernikova EP. Nonspecific impurities in pharmaceutical substances: characteristics of test methods. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):153–161. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-153-161>

*Corresponding author: Tatiana N. Bokovikova; Bokovikova@expmed.ru

Совершенствование требований к стандартизации фармацевтических субстанций (далее — субстанций) и контроль их качества позволяют обеспечить производство эффективных и безопасных готовых лекарственных средств [1–7].

Государственная фармакопея Российской Федерации (ГФ РФ) является гарантом качества лекарственных средств, начиная от фармацевтической разработки до их реализации [8], посредством предоставления соответствующих стандартизованных процедур для анализа лекарственных средств¹. В настоящее время в обращении на фармацевтическом рынке Российской Федерации находится около 1000 субстанций химического происхождения различных наименований [9, 10]. Важным требованием к качеству субстанций является их чистота. Контроль чистоты предусматривает оценку химических примесей (органических, неорганических, остаточных растворителей) и микробной контаминации [1, 4]. Для этого в ГФ РФ предусмотрено большое количество показателей и методов, используемых для их определения.

Требования к содержанию примесей зависят от природы субстанции и степени негативного влияния примеси на само действующее вещество или на организм пациента при приеме лекарственного средства². Контроль содержания примесей в лекарственных средствах чрезвычайно важен как в связи с их токсичностью для человека, так и с влиянием ряда примесей на стабильность лекарственного средства [11].

Цель работы — анализ особенностей методик определения неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- систематизация информации о методах определения неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях;
- сравнительный анализ особенностей индивидуальных методик, включенных в нормативную документацию;
- разработка критериев оценки чистоты субстанций, включающих выбор показателей качества, особых условий проведения испытаний и предъявляемых требований.

Источниками неспецифических примесей (НП) в субстанциях могут быть как недостаточно очищенное исходное сырье, в том числе и используемые реактивы (сильные кислоты и основания), катализаторы, оборудование, остатки фильтрующих материалов, так и нарушение технологического процесса или условий хранения; упаковочный материал несоответствующего качества [4].

Так, например, в нормативной документации на субстанцию аскорбиновой кислоты предусмотрено нормирование меди — не более 0,0005 % и железа — не более 0,0002 % (указанные НП могут содержаться в сырье: ацетон — не более $1 \cdot 10^{-6}$ % каждой примеси, олеум — не более 0,006 % железа, натрия гидроксид — не более 0,001 % железа, никель (II) сернокислый водный — не более 0,002 % меди, не более 0,003 % железа и др.).

Папаверина гидрохлорид анализируют на содержание в нем примесей железа (не более 0,003 %), легко карбонизируемых веществ (в соответствии с требованиями), присутствие которых в субстанции может быть связано с использованием дикалита (фильтрующий материал), палладия на углеводе 10 % (катализатор), кислоты хлористоводородной и раствора натрия гидроксида 30 %. В субстанции натрия кромогликата предусмотрено определение примеси оксалатов (не более 0,35 %), что обусловлено присутствием диэтилоксалата на одном из этапов его схемы синтеза. При контроле качества магния сульфата определяют содержание железа и марганца, которые могут содержаться в исходном продукте.

Методы оценки содержания примесей должны быть чувствительными, специфичными, воспроизводимыми и пригодными для установления допустимых их пределов. В некоторых случаях при оценке качества субстанций предусмотрены разные требования и методики проведения испытаний, если такие субстанции могут быть использованы для производства как нестерильных, так и стерильных лекарственных форм.

Большинство показателей качества субстанций предусматривают численное выражение норм содержания примесей, но существуют и условно нормируемые показатели («Растворимость», «Прозрачность раствора», «Цветность раствора»), которые

¹ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1–4. М.; 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopeia.php>

² Там же.

служат для косвенной проверки качества субстанций, поскольку получаемые результаты могут свидетельствовать о деструкции вещества [9]. Изменение температуры плавления и удельного показателя поглощения также позволяет судить о наличии примесей и является дополнительной характеристикой чистоты субстанции.

Испытания по показателям «Прозрачность раствора» и «Цветность раствора» позволяют обнаруживать примеси различной природы, присутствие которых влияет на внешний вид раствора субстанции. Оценка качества по этим показателям осуществляется, как правило, в случае, если субстанция предназначена для производства жидких лекарственных форм [9]. Например, вещества, содержащие фенольный гидроксил или первичную ароматическую аминогруппу, легко окисляются, поэтому их растворы могут быть окрашены. Испытания обычно проводят в водных растворах субстанций, но возможно использование органических и смешанных растворителей. Концентрация испытуемых растворов должна быть приближена к концентрации действующего вещества в лекарственном препарате [3].

В общей фармакопейной статье «Фармацевтические субстанции» (ОФС.1.1.0006.15) указано, что определение цветности раствора особенно важно для оценки качества белых, почти белых или белых с оттенком субстанций, так как данный показатель характеризует их чистоту и, как правило, не включается в нормативную документацию, если субстанция окрашена. Однако встречаются исключения. Так, например, проводят оценку окраски 1 % раствора субстанции дротаверина гидрохлорида (порошок от светлого-желтого до зеленоватого-желтого цвета) по сравнению с эталонами цветности, которая должна быть не интенсивнее окраски эталона GY_3 и интенсивнее, чем окраска эталона GY_4 . В нормативной документации на субстанцию месна (белого или желтоватого цвета) сравнивают степень окраски 20 % раствора с эталоном цветности Y_7 .

Для субстанций, нерастворимых в воде, испытания прозрачности и цветности растворов проводят в растворителях, в которых они растворимы, например:

- разведенная уксусная кислота используется для сульпирида (практически нерастворимого в воде и легко растворимого в разведенной уксусной кислоте);
- спирт 96 % используется для ацетилсалициловой кислоты (малорастворимой в воде);
- метанол используется для диклофенака натрия (умеренно растворимого в воде и легко растворимого в метаноле);
- хлороформ — для нитразепама (практически нерастворимого в воде, умеренно растворимого в хлороформе);

- 0,1 М или 1 М растворы натрия гидроксида используются для ацикловира (малорастворимого в воде и очень малорастворимого в спирте 96 %) или для сульфадиметоксина и фталилсульфатиазола (практически нерастворимых в воде и малорастворимых в спирте 96 %) соответственно;

- 1,0 % раствор молочной кислоты или метилхлорид используются для галоперидола или дроперидола соответственно (практически нерастворимых в воде и малорастворимых в спирте 96 %).

Для определения цветности и прозрачности раствора кальция глюконата (легко растворимого в кипящей воде, умеренно и медленно растворимого в воде) субстанцию растворяют в воде при 60 °С или кипящей воде в зависимости от необходимой концентрации испытуемого раствора (2 и 10 % соответственно), при этом цветность раствора оценивают при 60 °С, а прозрачность — после охлаждения раствора до 20 °С.

Степень окраски растворов субстанций, как правило, оценивают по сравнению с соответствующими эталонами цветности. В некоторых случаях для этих целей измеряют величину оптической плотности при заданных длинах волн. Например, цветность раствора субстанции метамизол натрия определяется как при сравнении с эталоном цветности GY_6 , так и по величине оптической плотности при длине волны 400 нм (не более 0,1). Для определения цветности 10 % водного раствора ампициллина натриевой соли измеряют величину оптической плотности при длине волны 430 нм (не более 0,15); оптическая плотность 5 % раствора диклофенака натрия при длине волны 440 нм не должна превышать 0,05.

Определение величины оптической плотности или сравнение испытуемых растворов с эталонами цветности используется и при определении НП, основанном на их избирательном взаимодействии с какими-либо реактивами. Например, после проведения реакции с серной кислотой концентрированной интенсивность окраски раствора сульгина сравнивают с эталонами цветности B_5 или R_5 , а папаверина гидрохлорида — с эталонами цветности R_4 и Y_4 или специально приготовленным стандартом сравнения. Измерение величины оптической плотности используется при оценке качества субстанции мебеверина гидрохлорида как при определении растворимых в эфире соединений (не более 0,23 при длине волны 260 нм), так и при анализе субстанции на нетретичные амины (сравнивают величину оптической плотности испытуемого раствора и раствора сравнения при длине волны 405 нм).

Наличие НП кислотного или основного характера устанавливается при анализе по показателям «рН» и «Кислотность или щелочность». Величина рН, как правило, характеризует кислотно-основные свойства субстанции, а результат определения

кислотности (щелочности) может характеризовать наличие примесных соединений.

Определение кислотности (щелочности) в случае нерастворимых в воде субстанций имеет свои особенности пробоподготовки: субстанцию взбалтывают с водой и проводят испытание с фильтратом (как, например, для субстанции карбамазепина, практически нерастворимой в воде).

В других случаях, например, субстанцию кофеина растворяют в свежeproкипяченной горячей воде и проводят испытание с охлажденным раствором, так как субстанция умеренно и медленно растворима в воде, но легко растворима в горячей воде. Для субстанций малорастворимых в воде (сульфаниламид) или практически нерастворимых в воде (бария сульфат, сульфадиметоксин) испытание проводят с фильтратом смеси субстанции и воды после ее нагревания при температуре 60–70 °С и последующего охлаждения.

В качестве индикаторов при проведении испытаний кислотность/щелочность, как правило, используют растворы бромтимолового синего, фенолфталеина, метилового красного. Титрование проводят раствором натрия гидроксида или хлористоводородной кислоты до изменения окраски индикатора.

Полуколичественная оценка содержания НП проводится как по сравнению с растворами эталонов, так и по отсутствию положительной реакции в испытуемом растворе (при этом чувствительность химических реакций должна быть ниже предела обнаружения допустимых примесей). Так, например, в субстанции кальция глюконата предусмотрено определение посторонних органических примесей и борной кислоты в присутствии охлажденной серной кислоты концентрированной (не должно появляться желтого или коричневого окрашивания); после прибавления 0,005 % раствора хромотропа II В появляется фиолетовое окрашивание, которое не должно со временем переходить в темное голубое окрашивание (интенсивность окрашивания сравнивают со стандартным раствором).

Для многих субстанций нормируется содержание побочных неорганических катионов и анионов (в том числе хлоридов, сульфатов и т. д.), выбор которых определяется технологией получения субстанции, и их допустимое содержание должно быть обосновано [3].

Большое число показателей, регламентирующих определение содержания НП, предусмотрено для субстанций, входящих в состав лекарственных средств для парентерального применения (натрия хлорид, кальция хлорид, калия хлорид, натрия гидрокарбонат и др.), которые могут быть использованы для производства лекарственных препаратов

для дезинтоксикации, восстановления водного и электролитного состава крови, для восполнения объема циркулирующей крови и т. п. (максимальный объем вводимого раствора — до 3 л в сутки)³.

В связи с этим для оценки качества субстанции натрия хлорида ГФ РФ предусматривает определение примесей бария, железа, щелочноземельных металлов и магния, мышьяка, сульфатов, фосфатов, ферроцианидов, нитритов, бромидов, йодидов, алюминия (2 метода), калия (2 метода), аммония, тяжелых металлов и др. В субстанции натрия гидрокарбоната определяется содержание карбонатов, железа, хлоридов, мышьяка, сульфатов, кальция, аммония, тяжелых металлов и др. В субстанции кальция глюконата определяются посторонние органические примеси и борная кислота, галогены, сульфаты, магний и щелочные металлы, оксалаты, тяжелые металлы, мышьяк и др.

При контроле качества фармацевтической субстанции бария сульфата, используемой для производства пасты, порошка, суспензии для приема внутрь с целью проведения рентгенологических исследований (глотки, пищевода, желудка и кишечника)⁴ также предусмотрено проводить анализ на содержание большого числа НП: кислоторастворимых веществ, растворимых солей бария, сульфидов, хлоридов, сульфатов, железа, фосфатов, мышьяка и др. В отличие от бария сульфата, который обладает низкой токсичностью, не всасывается из желудочно-кишечного тракта и, следовательно, не попадает в системный кровоток, растворимые соли бария высокотоксичны и должны отсутствовать в субстанции.

Особенность определения других НП бария сульфата (практически нерастворимого в воде, разведенных кислотах и щелочах, органических растворителях) в том, что для проведения испытаний, как правило, используются фильтраты, полученные после кипячения субстанции с водой (для определения хлоридов и сульфатов); с хлористоводородной кислотой (для определения железа и сульфидов); с азотной кислотой (для определения фосфатов); со смесью воды и уксусной кислоты ледяной (для определения кислоторастворимых веществ и тяжелых металлов).

ГФ РФ предусматривает проведение испытаний на чистоту и допустимые пределы примесей двенадцати катионов и анионов, если они не входят в состав субстанции. Кроме того, подготовлены проекты общих фармакопейных статей «Калий», «Магний и щелочноземельные металлы» для определения содержания указанных примесей в лекарственных средствах.

В ряде общих фармакопейных статей («Алюминий», «Аммоний», «Железо», «Кальций», «Ртуть»,

³ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru>

⁴ Там же.

«Селен», «Сульфаты», «Хлориды» и др.) предусмотрено проведение испытания с использованием эталонных растворов, которые содержат заданное количество определяемого катиона или аниона.

Определение хлоридов основано на реакции их взаимодействия с раствором серебра нитрата с появлением белого помутнения и образованием белого творожистого осадка или опалесценции (предельная чувствительность реакции 0,1 мкг/мл хлорид-иона, при концентрации 2 мкг/мл наблюдается хорошо заметная опалесценция)⁵.

В некоторых случаях методика ОФС.1.2.2.2.0009.15 «Хлориды» неприменима. Так, например, при проведении испытания с натрия тиосульфатом происходит образование белого осадка, маскирующего результат реакции на хлориды (при стоянии осадок чернеет — сульфид серебра), поэтому для определения используют фильтрат, полученный после осаждения серы при добавлении 32 % раствора азотной кислоты.

Дополнительная пробоподготовка необходима и при проведении испытаний с нерастворимыми в воде субстанциями. Например, парацетамол или теofilлин встряхивают с водой, а нифедипин нагревают до кипения со смесью раствора уксусной кислоты и воды, охлаждают и в фильтратах проводят определение хлорид-ионов. Для анализа субстанции карбамазепина образец растворяют в смеси диметилсульфоксида, спирта 96 %, воды и азотной кислоты (после прибавления раствора серебра нитрата опалесценция испытуемого раствора не должна превышать опалесценцию раствора сравнения).

В отдельных случаях проводят количественную оценку содержания хлоридов (например, в субстанции месалазина). Для этого навеску субстанции растворяют в муравьиной кислоте безводной, прибавляют воду и 2 М раствор азотной кислоты и титруют 0,005 М раствором серебра нитрата с фиксацией точки эквивалентности потенциометрическим способом (норма содержания хлоридов — не более 0,1 %).

Сульфат-ионы определяют по реакции взаимодействия с растворами солей бария с образованием нерастворимого в кислотах белого осадка или помутнения (предельная чувствительность реакции 3 мкг/мл сульфат-иона; при концентрации 10 мкг/мл наблюдают помутнение раствора)⁶.

Для органических субстанций малорастворимых или практически нерастворимых в воде определение сульфат-ионов проводится в фильтрате, например, после взбалтывания с водой (ацикловир), со смесью воды и хлористоводородной кислоты разведенной (диазолин) или со смесью воды и азотной кислоты разведенной (дроперидол).

Определение хлорид- и сульфат-ионов в фенобарбитале также требует особых условий проведения испытаний — используют раствор субстанции в смеси ацетона и воды в соотношении 1:1. Для проведения аналогичных испытаний в сульфацинаме натрия субстанцию растворяют в воде, к полученному раствору прибавляют азотную кислоту разведенную 16 % и хлористоводородную кислоту разведенную 8,3 %, взбалтывают и фильтрат используют для определения примесей ионов.

Определение фосфатов основано на их способности к образованию молибденовой сини с молибдат-ионами в присутствии восстановителя (олова (II) хлорида). Интенсивность синей окраски, появившейся в испытуемом растворе, не должна превышать интенсивность окраски эталонного раствора, для приготовления которого используют раствор, содержащий 5 мкг/мл фосфат-иона⁷.

Для субстанций умеренно и/или медленно растворимых в воде (легко в кипящей) проводят дополнительную пробоподготовку, например кальция глюконат кипятят до полного растворения, но не более 10 с. Для субстанций практически нерастворимых в воде (бария сульфат) приготовление испытуемого раствора проводят при нагревании до кипения в азотной кислоте и в фильтратах определяют содержание фосфат-ионов.

Испытание на мышьяк в субстанциях предусматривается⁸ в тех случаях, когда исходное сырье может содержать мышьяк или возможно загрязнение им в процессе получения субстанции [3]. В соответствии с ГФ РФ определение содержания мышьяка проводят двумя методами: метод 1 (Зангера—Блека) и метод 2 (Буго—Тиле). В ОФС.1.2.2.2.0004.15 «Мышьяк» подробно описаны особые условия пробоподготовки образцов и проведения испытаний.

Одним из часто включаемых в нормативную документацию на субстанции является показатель «Сульфатная зола». В тех случаях, когда в состав субстанций входят компоненты, которые не удаляются при прокаливании, например ионы металлов (в таких субстанциях, как кальция глюконат, метамизол натрия, диклофенак натрия или калия, сульфацинамид натрия и др.), определение сульфатной золы не проводится. Данное испытание используется для определения суммы неспецифических примесей, а именно минерализуемых неорганических примесей. Наиболее токсичными из них являются тяжелые металлы, для определения которых предусмотрен отдельный показатель «Тяжелые металлы» [12]. Предел содержания тяжелых металлов в субстанциях определяется⁹ максимальной суточной дозой препарата

⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1—4. М.; 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

⁶ Там же.

⁷ Там же.

⁸ Там же.

⁹ Там же.

(производимого из данной субстанции), способом и длительностью его применения [4, 11].

Классическим способом пробоподготовки для определения тяжелых металлов в органических соединениях, особенно нерастворимых в воде, является сжигание и прокалывание субстанции в муфеле при высоких температурах в присутствии серной кислоты концентрированной.

В неорганических и в некоторых случаях в органических субстанциях (например, мельдоний) определение тяжелых металлов проводится в водных растворах. Получаемые растворы должны быть прозрачными, бесцветными и не должны влиять на взаимодействие ионов металлов с сульфид-ионом вследствие наличия комплексообразующих свойств. В некоторых случаях (например, субстанция лозартана калия) с целью предотвращения образования осадка субстанции в слабощелочной среде в качестве растворителя используют спирт и далее открывают тяжелые металлы тиацетамидным (или сульфидным) методом.

Химический метод анализа тяжелых металлов имеет низкую специфичность и не позволяет получить информацию о содержании отдельных элементов в образце [13]. В настоящее время для этой цели достаточно широко используются различные физико-химические методы (атомно-абсорбционная спектроскопия, атомно-эмиссионная и масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой и др.), характеризующиеся высокой специфичностью и чувствительностью [14, 15], что особенно актуально, если в процессе синтеза соединения используются металлические катализаторы [4]. Для количественного определения микропримесей элементов эффективно используется масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой с универсальным способом подготовки образцов, основанным на микроволновом разложении в закрытых автоклавах. Преимущество данного способа пробоподготовки — отсутствие потерь летучих элементов, в особенности ртути [13].

Методом атомно-абсорбционной спектроскопии, например, определяется содержание НП в субстанции аскорбиновой кислоты (меди — не более 0,0005 %, железа — не более 0,0002 %) или в субстанции смектита диоктаэдрического (свинца — не более 0,0015 %). В субстанции кальция глюконата содержание железа (не более 5 ppm) определяется методом атомно-эмиссионной спектроскопии, а оксалатов (не более 100 ppm) — методом ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Все фармацевтические субстанции подлежат стандартизации и контролю качества по показателю «Остаточные органические растворители», если органические растворители используются при производстве или образуются в процессе получения субстанции, или в результате накопления продук-

тов разложения [4, 16]. Контроль и нормирование остаточных количеств органических растворителей регламентируются¹⁰ токсичностью растворителя, ежедневной допустимой дозой растворителя, максимальной суточной дозой лекарственного препарата и длительностью его применения [9].

Согласно ГФ РФ для определения остаточных органических растворителей в субстанциях могут быть использованы различные валидированные методики [16–18]. Наиболее часто определение проводится методом газовой хроматографии. В некоторых случаях используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (например, для определения диметилфосфамида).

Высокотоксичные (генотоксичные канцерогены) и негенотоксичные растворители 1 и 2 класса, соответственно, должны быть идентифицированы и определены количественно.

Для определения растворителей 3 класса (низкой токсичности), суммарное содержание которых составляет не более 0,5 %, допускается применение неспецифического метода «Потеря в массе при высушивании». Если суммарное содержание растворителей превышает 0,5 %, каждый из них должен быть идентифицирован и определен количественно. В этом случае условия проведения испытания должны быть описаны в соответствующем разделе нормативной документации¹¹. Проведение испытания по показателю «Потеря в массе при высушивании» позволяет определять суммарное содержание летучих веществ и гигроскопической влаги.

ГФ РФ предусматривает несколько способов определения потери в массе при высушивании. Для этой цели могут быть использованы и другие валидированные методики, особенности которых должны быть приведены в нормативной документации. Чаще всего высушивание проводят до постоянной массы при температуре 100–105 °С. В некоторых случаях, когда температура плавления субстанции незначительно отличается от указанной температуры высушивания (например, нихлоргин или фенирамина малеат — 107–112 и 104–109 °С соответственно), определение проводят, например, при температуре 55–65 °С до постоянной массы (для нихлоргина), или в течение 3 часов при температуре 60 °С и остаточном давлении не более 0,7 кПа (для фенирамина малеата), или в других подобных условиях. Определение потери в массе при высушивании субстанции сульфата натрия пентагидрат, которая составляет 22–27 %, проводят при постепенном повышении температуры: сначала сушат при температуре 40 °С не менее 30 мин, затем повышают температуру до 100–105 °С и сушат до постоянной массы.

Вода в субстанциях может способствовать ускорению процессов разложения, поэтому ее содер-

¹⁰ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1–4. М.; 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>

¹¹ Там же.

жание нормируется. В субстанциях, для которых оценить содержание воды при определении потери в массе при высушивании невозможно (подвержены термическому разложению, являются кристаллогидратами или очень гигроскопичны), используют титриметрический метод. При этом установление количества адсорбированной влаги проводится как титриметрически, так и при определении потери в массе при высушивании, если субстанция не содержит кристаллизационную воду [9].

К неспецифическим примесям в субстанциях также можно отнести механические включения (частицы пыли, фильтрующих или вспомогательных материалов), которые могут присутствовать в сырье или попадают в субстанцию при несоблюдении санитарных и технологических требований при ее производстве.

Наличие механических включений в субстанциях определяют в том случае, если они используются в качестве стерильной рассыпки во флаконах (например, циклофосамид для производства лекарственного препарата «Циклофосфан, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения»).

ГФ РФ регламентирует содержание механических включений видимого и невидимого диапазона и устанавливает определенные требования и нормы к их содержанию. Для оценки содержания невидимых механических включений в ГФ РФ предусмотрено использование счетно-фотометрического метода и метода микроскопии, кроме того, дополнительно (по сравнению с зарубежными фармакопеями) — метода Култера (метода электрочувствительных зон). Возможность использования метода Култера подтверждена сопоставимостью результатов оценки невидимых механических включений, полученных этим методом и счетно-фотометрическим методом [19].

Наряду с химическими и физико-химическими методами анализа для оценки чистоты и обеспечения безопасности применения субстанций используются биологические испытания, которые являются неотъемлемым дополнением при оценке качества субстанций, так как позволяют выявить НП, которые не определяются иными способами [4]. Для контроля качества субстанций предусмотрены такие показатели, как «Микробиологическая чистота» и «Стерильность».

Испытание субстанций на стерильность проводят в тех случаях, когда не предусмотрена процедура стерилизации при производстве стерильных лекарственных форм [4, 20] (например, циклофосамид). Для нестерильных лекарственных средств, в том числе содержащих живые микроорганизмы, а также для вспомогательных веществ, предусмотрена оценка качества по показателю «Микробиологическая чистота». Для исключения ложных результа-

тов по микробиологическим показателям проводят изучение возможного антимикробного действия субстанций и его нейтрализации в условиях испытания. В Российской Федерации обязателен контроль на микробиологическую чистоту всех производимых и ввозимых серий субстанций [4].

Субстанции, используемые в производстве лекарственных препаратов для парентерального применения, дополнительно стандартизируются по показателям «Пирогенность» и/или «Бактериальные эндотоксины» (ЛАЛ-тест). Пирогенность, как правило, имеет микробное происхождение (пирогенные реакции способны вызывать живые и погибшие микроорганизмы или продукты их распада). В настоящее время все чаще находит применение тест «Бактериальные эндотоксины», который является более чувствительным и точным методом [21]. Кроме того, ЛАЛ-тест можно использовать для контроля качества субстанций, нерастворимых в воде, а также он является валидируемой процедурой, в отличие от эксперимента на кроликах при определении по показателю «Пирогенность». Однако испытание на бактериальные эндотоксины не позволяет выявить ряд пирогенов, в том числе вещества небактериальной природы [4, 22].

Субстанции преимущественно природного происхождения, используемые в производстве готовых лекарственных форм в основном для парентерального применения, дополнительно проходят обязательный контроль по показателю «Аномальная токсичность» для выявления увеличения токсичности лекарственного средства по неизвестным причинам (испытание проводят на мышах) [4, 23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведены информационно-аналитические исследования и сравнительный анализ методик оценки содержания различных неспецифических примесей в фармацевтических субстанциях химическими, физико-химическими и биологическими методами.

Выявлены особенности индивидуальных методик, включенных в нормативную документацию, что обусловлено физико-химическими свойствами конкретных исследуемых соединений, токсичностью примесей и допустимыми пределами их содержания. Для проведения испытаний предпочтительнее использование современных высокочувствительных и селективных методов анализа.

На основании результатов информационно-аналитических исследований сформулирован единый методологический подход к разработке критериев оценки качества фармацевтических субстанций, включающий следующие положения:

- выбор и обоснование показателей качества для определения чистоты фармацевтических субстанций с учетом природы и технологии их получения, а также особенностей производства,

назначения, дозировки и курса применения соответствующих лекарственных препаратов;

- согласование основных принципов стандартизации субстанций с индивидуальными особенностями методик оценки чистоты анализируемых соединений, условиями проведения испытаний и предъявляемыми требованиями.

Сочетание указанных положений позволяет обеспечить единый подход к оценке качества фармацевтических субстанций и осуществлять производство и выпуск эффективных и безопасных лекарственных средств.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 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

- Олефир ЮВ, Саканян ЕИ, Шемерянкина ТБ, Сенченко СП, Зайцев СА, Бармин АВ. Стандартизация фармацевтических субстанций по разделу «Чистота». *Химико-фармацевтический журнал*. 2018;52(8):56–60. [Olefir YuV, Sakanyan EI, Shemeryankina TB, Senchenko SP, Zaytsev SA, Barmin AV. Standardization of pharmaceutical substances with respect to purity. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(8):56–60 (in Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2018-52-8-56-60>
- Ковалева ЕЛ. Стандартизация фармацевтических субстанций и препаратов в лекарственной форме «Таблетки». М.: Гриф и К; 2012. [Kovaleva EL. *Standardization of pharmaceutical substances and preparations in the tablet form*. Moscow: Grif i K; 2012 (In Russ.)]
- Багирова ВЛ, Ковалева ЕЛ, Шаназаров КС. Фармацевтические субстанции. *Химико-фармацевтический журнал*. 2007;41(1):35–7. [Bagirova VL, Kovaleva EL, Shanazarov KS. Pharmaceutical substances. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2007;41(1):35–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2007-41-1-35-37>
- Ковалева ЕЛ, Багирова ВЛ, Шаназаров КС. Совершенствование методологических подходов к стандартизации фармацевтических субстанций. *Химико-фармацевтический журнал*. 2010;44(1):35–42. [Kovaleva EL, Bagirova VL, Shanazarov KS. Developing methodological approaches to standardization of pharmaceutical substances. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2010;44(1):35–42 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2010-44-1-35-42>
- Багирова ВЛ, Ковалева ЕЛ. К вопросу обеспечения фармакопейного качества исходных ингредиентов, используемых для получения лекарственных средств. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения Министрства здравоохранения Российской Федерации*. 2003;(1):46–8. [Bagirova VL, Kovaleva EL. On the issue of ensuring the pharmacopoeial quality of the original ingredients used to obtain drugs. *Vestnik Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya Ministerstva zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation*. 2003;(1):46–8 (In Russ.)]
- Арзамасцев АП, Титова АВ. Особенности системы стандартизации субстанций в условиях рыночной экономики. *Ремедиум*. 2006;(9):57–9. [Arzamastsev AP, Titova AV. The special features of substances standardisation in terms of market economy. *Remedium = Remedium*. 2006;(9):57–9 (In Russ.)]
- Матвеева ОА, Ковалева ЕЛ. Современные подходы к оценке содержания генотоксичных примесей в лекарственных средствах (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2015;49(11):41–8. [Matveeva OA, Kovaleva EL. Modern approach to estimating the content of genotoxic impurities in drugs (a review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2015;49(11):41–8 (In Russ.)]
- Наркевич ИА. Государственная фармакопея Российской Федерации в практике современного фармацевтического анализа. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;(2):35–7. [Narkevich IA. State Pharmacopoeia of Russian Federation in modern pharmaceutical analysis practice. *Vestnik Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;(2):35–7 (In Russ.)]
- Саканян ЕИ, Шемерянкина ТБ, Бармин АВ, Зайцев СА, Ярушок ТА. Фармацевтические субстанции. Требования государственной фармакопеи к их стандартизации. *Журнал Антибиотиков и химиотерапии*. 2017;62(5–6):63–7. [Sakanyan EI, Shemeryankina TB, Barmin AV, Zaytsev SA, Yarushok TA. Pharmaceutical substances. Requirements of the State Pharmacopoeia for their standardization. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*. 2017;62(5–6):63–7 (In Russ.)]
- Скорняков ЮВ, Скорнякова ОВ. Достижения и проблемы производства субстанций дженериков для фармацевтической промышленности. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2015;64(7):1696–9. [Skorniyakov YuV, Skorniyakova OV. The achievements and problems of the production of generic drug substances for pharmaceutical industry. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya = Russian Chemical Bulletin*. 2015;64(7):1696–9 (In Russ.)]
- Терешкина ОИ, Гуськова ТА. Международный опыт оценки безопасности примесных соединений в лекарственных препаратах. *Токсикологический вестник*. 2010;(5):32–5. [Teryoshkina OI, Guskova TA. International experience in the safety evaluation of impurities in drugs. *Toksikologicheskii vestnik = Toxicological Review*. 2010;(5):32–5 (In Russ.)]
- Ковалева ЕЛ, Беланова АИ, Панова ЛИ, Захарченко АА. Современные требования к оценке элементарных примесей (тяжелых металлов) в лекарственных средствах. *Химико-фармацевтический журнал*. 2018;52(1):54–9. [Kovaleva EL, Belanova AI, Panova LI, Zakharchenko AA. Current requirements for assessment of elemental impurities (heavy metals) in medicines. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(1):54–9 (In Russ.)]
- Виллс Д, Катчер Д, Лекорне Г. Определение примесей в медикаментах на масс-спектрометре с ИСП Thermo Scientific iCAP Qc. *Аналитика*. 2013;(6):36–43. [Wills J, Kutscher D, Lecornet G. Analysis of Pharmaceutical Products for Their Elemental Impurities Using the Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS. *Analitika = Analytics*. 2013;(6):36–43 (In Russ.)]
- Новоселов АН. Определение содержания свинца, кадмия, мышьяка и ртути в некоторых фармацевтических субстанциях методом атомно-абсорбционной спектроскопии с электротермической атомизацией. *Наука и современность*. 2010;(4–2):9–14. [Novoselov AN. Determination of lead, cadmium, arsenic and mercury in some pharmaceutical substances by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. *Nauka i sovremennost' = Science and Modernity*. 2010;(4–2):9–14 (In Russ.)]
- Чернышова ОВ, Родионова РА. Использование метода атомно-абсорбционной спектроскопии в анализе лекарственных средств, пищевых продуктов и других образцов. *Вестник фармации*. 2006;(4):85–92. [Chernyshova OV, Rodionova RA. Using the method of atomic absorption spectrometry in the analysis of drugs, food and other samples. *Vestnik farmatsii = Bulletin of Pharmacy*. 2006;(4):85–92 (In Russ.)]
- Терешкина ОИ, Гуськова ТА, Раменская ГВ, Самылина ИА. Фармакопейные подходы к нормированию остаточных органиче-

- ских растворителей в лекарственных средствах. *Фармация*. 2017;66(1):9–13. [Teryoshkina OI, Guskova TA, Ramenskaya GV, Samylin IA. Pharmacopoeial approaches to rationing residual organic solvents in medicines. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2017;66(1):9–13 (In Russ.)]
17. Моисеев СВ, Крылов ВИ, Мастеркова ТВ, Яшкир ВА, Бунятян НД. Использование метода ЯМР-спектроскопии для подтверждения подлинности, идентификации и количественного определения посторонних примесей субстанции салициловой кислоты. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2014;(1):15–9. [Moiseev SV, Krylov VI, Masterkova TV, Yashkir VA, Bunyatyan ND. Nuclear magnetic resonance spectroscopy for drug identification, characterization and quantification of impurities in substance of salicylic acid. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2014;(1):15–9 (In Russ.)]
18. Беликов ВГ, Боровский БВ, Рассказов АГ. Определение остаточных органических растворителей в субстанции 4-амино-3-(пиридил-3)-бутановой кислоты методом газожидкостной хроматографии. *Вестник новых медицинских технологий*. 2011;18(3):11–3. [Belikov VG, Borovsky BV, Rasskazov AG. Definition of residual organic solvents in some substances by means of gas-liquid chromatography method. *Zhurnal novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies*. 2011;18(3):11–3 (In Russ.)]
19. Воропаев АА, Фадейкина ОВ, Ермолаева ТН, Давыдов ДС, Волкова РА, Шведов ДВ. Разработка и валидация методики определения невидимых механических включений в воде для инъекций с применением метода Култера (электрочувствительных зон). *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(2):98–105. [Voropaev AA, Fadeikina OV, Ermolaeva TN, Davydov DS, Volkova RA, Shvedov DV. Development and validation of a procedure for subvisible particles determination in water for injections by the Coulter principle (electrical sensing zone method). *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(2):98–105 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-98-105>
20. Качапут АИ. Выбор и обоснование метода стерилизации гормональных субстанций при получении лекарственных препаратов в форме суспензий для инъекций для применения в ревматологии. *Сибирский медицинский вестник*. 2017;(2):40–6. [Kachaput AI. Choice and justification of the method of bacterial purification of hormonal substances at production of medicinal preparations in suspension form for injections in rheumatology. *Sibirskiy meditsinskiy vestnik = Journal of Siberian Medical Sciences*. 2017;(2):40–6 (In Russ.)]
21. Шаповалова ОВ, Неугодова НП, Сапожникова ГА, Агаширинова АА, Гунар ОВ. Определение бактериальных эндотоксинов в лекарственных средствах: мешающие факторы и их устранение. *Фармация*. 2017;66(6):9–14. [Shapovalova OV, Neugodova NP, Sapozhnikova GA, Agashirina AA, Gunar OV. Detection of bacterial endotoxins in drugs: Disturbing factors and their elimination. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2017;66(6):9–14 (In Russ.)]
22. Устинникова ОБ, Гайдерова ЛА, Байкова МЛ, Лобанова ТН, Щербаченко ИМ, Голощапова ЕО, Бондарев ВП. Обзор методических подходов к оценке качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(3):152–7. [Ustinnikova OB, Gayderova LA, Baykova ML, Lobanova TN, Shcherbachenko IM, Goloshchapova EO, Bondarev VP. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017;17(3):152–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2017-17-3-152-157>
23. Рябцева МС, Филимонова ИН, Осипова ИГ, Неугодова НП, Ковалева ЕЛ, Шаройкина МВ. Показатель качества «Аномальная токсичность» — одна из основных составляющих безопасности биологических лекарственных средств. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016;(9–2):232–7. [Ryabtseva MS, Filimonova IN, Osipova IG, Neugodova NP, Kovaleva EL, Sharoykina MV. Quality indicator «Abnormal toxicity» — one of the main components of safety of biological drugs. *Mezhdunarodny zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2016;(9–2):232–7 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Биглова Юлия Ремовна, канд. фарм. наук. Yulia R. Biglova, Cand. Sci. (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3928-742X>

Гадасина Наталия Вячеславовна. Natalia V. Gadasina. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6702-5497>

Боковицкая Татьяна Николаевна, д-р фарм. наук. Tatiana N. Bokovikova, Dr. Sci. (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1560-3424>

Ковалева Елена Леонардовна, д-р фарм. наук. Elena L. Kovaleva, Dr. Sci. (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4163-6219>

Немыкина Светлана Анатольевна. Svetlana A. Nemykina. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8039-6487>

Моргунова Татьяна Владимировна. Tatiana V. Morgunova. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1500-1586>

Мастеркова Татьяна Вячеславовна. Tatiana V. Masterkova. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4116-2298>

Стронова Лариса Александровна, канд. фарм. наук. Larisa A. Stronova, Cand. Sci. (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5598-5132>

Герникова Евгения Петровна, канд. фарм. наук. Evgenia P. Gernikova, Cand. Sci. (Pharm.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0942-7049>

Статья поступила 10.05.2018

После доработки 04.07.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 10 May 2018

Revised 4 July 2019

Accepted for publication 16 August 2019

Клинико-фармакологические аспекты применения некоторых токолитических препаратов у беременных с угрозой преждевременных родов

Е. А. Сокова^{1,*}, Р. А. Чилова², О. А. Демидова¹, К. О. Акопов²

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. Спонтанные преждевременные роды являются одной из актуальных проблем в акушерстве, поскольку продолжают оставаться основной причиной смертности и заболеваемости новорожденных во всем мире. Нерешенность вопросов этиологии, патогенеза и отсутствие лекарственных препаратов, применяемых по показаниям для лечения спонтанных преждевременных родов, обуславливает сложность проведения их рациональной фармакотерапии. С позиции клинической фармакологии проведен обзор данных научной литературы по проблеме рациональной фармакотерапии спонтанных преждевременных родов токолитическими лекарственными средствами — блокаторами медленных кальциевых каналов, ингибиторами циклооксигеназы. Приведены особенности фармакокинетики этих препаратов во время беременности. Обсуждаются фармакогенетические аспекты применения токолитиков у беременных женщин и их возможное клиническое значение. Показано, что существует значительная межиндивидуальная вариабельность концентрации нифедипина в плазме крови женщин с угрозой прерывания беременности в зависимости от генотипа *CYP3A5*. Продemonстрировано, что некоторые полиморфизмы *CYP2C9* могут приводить к увеличению метаболического индекса, возрастанию клиренса индометацина и, соответственно, снижению его эффективности. В настоящее время рассматриваемый вопрос изучен недостаточно. Таким образом, необходимо дальнейшее исследование влияния различных генотипов *CYP3A5* и *CYP2C9* на эффективность и безопасность нифедипина и индометацина при их применении в акушерской практике как токолитиков.

Ключевые слова: беременность; токолитический лекарственный препарат; фармакокинетика; фармакогенетика; безопасность; эффективность; нифедипин; индометацин; цитохромы P450

Для цитирования: Сокова ЕА, Чилова РА, Демидова ОА, Акопов КО. Клинико-фармакологические аспекты применения некоторых токолитических препаратов у беременных с угрозой преждевременных родов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):162–166. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-162-166>

***Контактное лицо:** Сокова Елена Андреевна; sokova904@gmail.com

Clinical Pharmacology Aspects of Some Tocolytic Drugs Used in Pregnant Women at Risk of Preterm Birth

Е. А. Sokova^{1,*}, R. A. Chilova², O. A. Demidova¹, K. O. Akopov²

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. Spontaneous preterm birth is one of the most pressing issues in obstetrics, as it remains one of the leading causes of newborn morbidity and mortality. Pending issues of aetiology, pathogenesis, and absence of medicinal products indicated for the treatment of spontaneous preterm labour pose a challenge for rational pharmacotherapy. The paper presents the results of a scientific literature review on the problem of rational pharmacotherapy of spontaneous preterm labour using tocolytic drugs — calcium channel blockers, cyclooxygenase inhibitors. The paper summarises specific pharmacokinetic parameters of these drugs during pregnancy. It discusses pharmacogenetic aspects of using tocolytic drugs in pregnant women and their potential clinical effects. It was demonstrated that women with threatened miscarriage had high interindividual variability in nifedipine plasma concentrations depending on *CYP3A5* genotype. It was shown that certain genetic polymorphisms of *CYP2C9* may lead to an increased metabolic rate and an increase in indomethacin clearance resulting in the reduction of its efficacy. Yet, there is minimal research regarding this issue. Therefore, further research is needed to assess the impact of *CYP3A5* and *CYP2C9* genotypes on the efficacy and safety of nifedipine and indomethacin used as tocolytic drugs in obstetrics.

Key words: pregnancy; tocolytic drug; pharmacokinetics; pharmacogenetics; safety; efficacy; nifedipine; indomethacin; CYP-450

For citation: Sokova EA, Chilova RA, Demidova OA, Akopov KO. Clinical pharmacology aspects of some tocolytic drugs used in pregnant women at risk of preterm birth. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):162–166. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-162-166>

***Corresponding author:** Elena A. Sokova; sokova904@gmail.com

На сегодняшний день спонтанные преждевременные роды (СПР) являются одной из актуальных медико-социальных проблем в акушерстве, поскольку продолжают оставаться основной причиной смертности и заболеваемости новорожденных во всем мире [1, 2]. По данным J. Lawn с соавт., на долю СПР приходится 27 % потерь в неонатальный период, что составляет более 1 млн смертей в год [3]. Сложность проведения рациональной фармакотерапии СПР обусловлена нерешенностью вопросов этиологии, патогенеза и их прогнозирования. С другой стороны, некоторые токолитические лекарственные препараты (ТЛП), известные на сегодняшний день (например, блокаторы медленных кальциевых каналов, ингибиторы циклооксигеназы (ЦОГ) и др.), применяются в акушерстве «off label», а информация по их эффективности и безопасности во время беременности ограничена или отсутствует. Кроме того, физиологические особенности беременной женщины, которые определяют особенности клинической фармакологии в матerno-плацентарно-плодном комплексе, касающиеся изменений в экспрессии и активности изоферментов системы цитохрома P450 и транспортных белков, могут приводить к нарушениям фармакокинетики лекарственных средств (ЛС), в том числе и ТЛП [4]. Наличие фетоплацентарного комплекса в значительной степени усложняет оценку профиля безопасности ЛС. При проведении рациональной токолитической терапии необходимо также учитывать индивидуальные фармакогенетические особенности пациентки. Поэтому токолитическая терапия как в приостановке СПР и пролонгировании беременности, так и в отношении перинатальных исходов не всегда эффективна [5, 6]. Возможное изменение фармакокинетики ТЛП во время беременности под влиянием различных факторов нередко влечет за собой снижение эффективности и безопасности этих лекарственных средств.

Цель работы — анализ данных научной литературы по особенностям фармакокинетики и фармакогенетики некоторых токолитических лекарственных препаратов (блокаторы медленных кальциевых каналов, ингибиторы ЦОГ) при фармакотерапии спонтанных преждевременных родов.

Поиск информации по особенностям клинической фармакологии некоторых лекарственных средств, применяемых для фармакотерапии преждевременных родов, выполнялся в базе данных MEDLINE® и других электронных ресурсах по ключевым словам: токолитический лекарственный препарат; фармакокинетика; фармакогенетика; безопасность; эффективность; нифедипин; индометацин; цитохромы P450.

Доказано, что пролонгирование беременности на 48 ч — первичная цель токолитической терапии при угрожающих преждевременных родах, поскольку

является достаточным для проведения антенатальной профилактики респираторного дистресс-синдрома плода кортикостероидными препаратами и, соответственно, улучшения перинатальных исходов на 5 % [7].

В недавно проведенном исследовании D.M. Haas с соавт. на основании результатов метаанализов приходят к выводу, что на сегодняшний день выбор токолитического препарата первой линии до конца не ясен [8].

В опубликованных работах подчеркивается примерно одинаковая эффективность ТЛП [5]. В метаанализе, в который было включено 26 клинических исследований и 2179 женщин с СПР, не обнаружено различий между нифедипином и магнезией сульфатом по пролонгированию беременности на 48 ч [9]. В литературе есть указания, что нифедипин и атозибан имеют сопоставимую эффективность в пролонгировании беременности до 7 сут. В то же время в исследовании J.S. Jørgensen с соавт. приведены данные о достоверно более высокой эффективности атозибана по сравнению с нифедипином по пролонгированию беременности на 48 часов у женщин со сроком гестации более 28 недель (отношение шансов (ОШ) 1,29 в границах 95 % доверительного интервала (ДИ) 1,02 и 1,62 при уровне значимости $p = 0,03$) [10].

В Кокрейновском обзоре H.E. Reinebrant с соавт. проанализированы результаты 20 клинических исследований (КИ), в которые были включены 1509 женщин с СПР [11]. В 15 КИ в качестве токолитического средства применялся неселективный ингибитор ЦОГ индометацин. Ни в одном исследовании не было продемонстрировано преимуществ ингибитора ЦОГ в сравнении с блокаторами медленных кальциевых каналов (2 КИ, включающие 230 женщин с СПР) и другими ТЛП по пролонгации беременности и улучшению неонатальных исходов. H.E. Reinebrant с соавт. приходят к заключению, что на сегодняшний день отсутствует достаточное количество сведений о роли ингибиторов простагландина в эффективности фармакотерапии СПР [11]. Авторы считают, что необходимы дальнейшие хорошо спланированные клинические исследования для определения краткосрочных и долгосрочных эффектов ингибиторов ЦОГ, как селективных, так и неселективных, а также для оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску их применения для матери и ребенка при угрозе преждевременных родов.

В то же время в литературе описаны примеры различной эффективности конкретных ТЛП. Так, в систематическом обзоре N. Shahzad с соавт. продемонстрирована вариабельность эффективности по пролонгированию беременности на 48 часов для нифедипина и β_2 -адреномиметиков (71,7–83 % и 31,7–77,9 % соответственно) [12].

Частота и серьезность нежелательных реакций (НР) при применении ТЛП в отдельных клинических исследованиях различаются [13, 14]. По данным некоторых авторов, такие НР, как глубокая гипотензия, загрудинные боли после приема нифедипина, отмечаются только у некоторых женщин, а у других отсутствуют значимые побочные эффекты [15–17]. В систематическом обзоре К. Khan с соавт. (5607 пациенток) частота НР со стороны матери и плода при применении нифедипина варьировала в зависимости от общей суточной дозы препарата и дизайна исследования. Частота НР была достоверно выше у женщин, получавших дозу свыше 60 мг/сут (ОШ = 3,78; 95 % ДИ = 1,27–11,2; $p = 0,017$) [9]. По результатам метаанализа, проведенного А. Conde-Agudelo с соавт., применение нифедипина не вызывает тяжелых НР по сравнению с другими токолитиками [18]. По мнению R. de Heus с соавт., индометацин и атозибан — единственные ТЛП, которые не ассоциируются с серьезными НР [14]. Вместе с тем ингибиторы циклооксигеназы оказывают неблагоприятное влияние на почки и другие органы плода [14].

В настоящее время установлено, что индивидуальный фармакологический ответ матери и плода зависит от особенностей функционирования системы биотрансформации и транспортеров ЛС в материнско-плацентарно-плодном комплексе, которые определяются многими факторами и в том числе фармакогеномным профилем пациента [19].

Блокатор медленных кальциевых каналов нифедипин является одним из наиболее часто назначаемых токолитиков, учитывая удобный путь введения, благоприятный профиль переносимости и безопасности для матери [9]. Нифедипин является субстратом CYP3A4/5, а цитохромы подсемейства CYP3A (CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43) у человека являются самыми универсальными в системе биотрансформации ксенобиотиков и участвуют в окислительном метаболизме примерно 50 % ЛС. Во время беременности было отмечено увеличение клиренса мидазолама в 2 раза по сравнению с послеродовым периодом, что приводило к снижению его биодоступности и свидетельствовало об увеличении активности CYP3A в печени и/или кишечнике [20].

По мнению M.F. Hebert с соавт., повышение активности CYP3A во время беременности может увеличивать клиренс нифедипина до 35–38 % [20]. Так, максимальная концентрация для нифедипина у беременных достигается через 30–60 минут, а период полувыведения ($t_{1/2}$) составляет 1–2 ч в сравнении с $t_{1/2}$ — 2–4 ч у небеременных женщин. Нифедипин метаболизируется изоферментом CYP3A4/5 в печени. Оба гена (CYP3A4 и CYP3A5), кодирующих изоферменты CYP3A4/5, экспрессируются в печени и тонком кишечнике. Ген CYP3A5 (7q22.1) является высокополиморфным, описано 25 аллельных вариантов. Наиболее распространенным нефункцио-

нальным вариантом является CYP3A5*3 (6986A>G), и у лиц с генотипом CYP3A5*3/*3 ген не экспрессируется [21]. Носители генотипа CYP3A5*3/*3 метаболизируют субстрат медленнее, чем носители генотипов CYP3A5*1/*1 (дикий тип) и CYP3A5*1/*3. Частота аллельного варианта CYP3A5*3 широко варьирует в различных популяциях. У европеоидного населения аллельная частота CYP3A5*3 составляет 0,82–0,95 [22]. По данным исследования Т.А. Серединой с соавт., у русских аллельная частота CYP3A5*3 не отличается от частоты встречаемости этого варианта у европейцев — 0,94 [23].

В исследованиях D.M. Naas с соавт. была продемонстрирована значительная межиндивидуальная вариабельность концентрации нифедипина в плазме крови беременных женщин с угрозой прерывания беременности в зависимости от генотипа CYP3A5, которая составила 30–70 % при одинаковом режиме дозирования [24]. У лиц с высокой экспрессией CYP3A5 («быстрые» метаболизаторы) был отмечен более низкий уровень нифедипина в сыворотке крови, что коррелировало с менее выраженным снижением сокращений матки после нагрузочной дозы препарата, при равновесном состоянии, и в течение первого часа после назначения исследуемой дозы нифедипина [25, 26].

Неселективный ингибитор циклооксигеназы индометацин широко используется в качестве токолитика, метаболизируется преимущественно в печени путем О-деметилирования с участием CYP2C9. Известно, что активность CYP2C9 во время беременности возрастает. Так, клиренс маркерного препарата фенитоина увеличен в 1,5 раза на протяжении всего периода гестации по сравнению с небеременными [27]. Кроме того, ген, кодирующий изофермент CYP2C9, обладает высоким полиморфизмом: 10–20 % европеоидов и до 6 % представителей негроидной расы являются носителями «медленных» аллельных вариантов CYP2C9*2 или CYP2C9*3, что ассоциируется с замедлением биотрансформации индометацина, более высокими концентрациями его в плазме крови, более высоким риском развития нежелательных реакций. Предположительно, около 50 % индометацина выводится с участием CYP2C9, и у небеременных женщин, являющихся носителями «медленных» аллельных вариантов, прогнозируется 1,8-кратное увеличение времени воздействия данного препарата [28].

На сегодняшний день проведены единичные КИ по изучению эффектов различных генотипов CYP2C9 в период беременности или его влияния на эффективность и безопасность токолиза индометацином. Так, M. Shah с соавт. провели КИ, целью которого было определение влияния носительства аллельных вариантов CYP2C9 на метаболизм индометацина у беременных женщин [29]. Авторы исследования приходят к выводу, что некоторые

варианты полиморфизма *CYP2C9* могут приводить к увеличению метаболического индекса и возрастанию клиренса индометацина, снижению его эффективности. Всего лишь у одной пациентки, которая одновременно являлась носителем двух полиморфных аллелей *CYP2C9*3*, *CYP2C9*4*, клиренс индометацина составил 24,3 л/ч, что превышало клиренс препарата в два раза по сравнению с диким типом. Недостаточная мощность исследования не позволила исследователям получить статистически значимые результаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных научной литературы, посвященных рациональной фармакотерапии спонтанных преждевременных родов, показывает, что на сегодняшний день выбор токолитического препарата первой линии до конца не ясен. В большинстве работ подчеркивается примерно одинаковая эффективность токолитических ЛП. В то же время в литературе описаны примеры различной эффективности и безопасности конкретных токолитических ЛП.

Результаты некоторых исследований свидетельствуют о межиндивидуальной вариабельности концентрации нифедипина в плазме крови беременных женщин с угрозой прерывания беременности в зависимости от генотипов по полиморфному маркеру *6986A>G* гена *CYP3A5*, что позволяет предположить различный профиль эффективности и безопасности препарата у этих пациентов. На се-

годняшний день проведены единичные КИ по изучению фармакокинетики и фармакогенетики индометацина при его применении в качестве ТЛП. В одной из работ, опубликованной в 2018 году, отмечалось увеличение метаболического индекса и возрастание клиренса индометацина у беременных, являющихся носителями определенных аллельных вариантов *CYP2C9*.

Существует согласованное мнение, что для терапии угрожающих преждевременных родов необходимы дальнейшие хорошо спланированные клинические исследования ТЛП, в том числе блокаторов медленных кальциевых каналов и ингибиторов ЦОГ, для оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску их применения у матери и ребенка с учетом особенностей фармакокинетики и фармакогенетического профиля матери.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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 № 056-00154-19-00 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

- Murphy SL, Mathews TJ, Martin JA, Minkovitz CS, Strobino DM. Annual summary of vital statistics: 2013–2014. *Pediatrics*. 2017;139(6):e20163239. <https://doi.org/10.1542/peds.2016-3239>
- Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*. 2012;379(9832):2162–72. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60820-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60820-4)
- Lawn JE, Gravett MG, Nunes TM, Rubens CE, Stanton C, GAPPs Review Group. Global report on preterm birth and stillbirth (1 of 7): definitions, description of the burden and opportunities to improve data. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2010;10(Suppl. 1):S1. <https://doi.org/10.1186/1471-2393-10-S1-S1>
- Feghali MN, Mattison DR. Clinical therapeutics in pregnancy. *J Biomed Biotechnol*. 2011;783528. <https://doi.org/10.1155/2011/783528>
- American College of Obstetricians and Gynecologists, Committee on Practice Bulletins — Obstetrics. ACOG practice bulletin No. 127: Management of preterm labor. *Obstet Gynecol*. 2012;119(6):1308–17. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31825af2f0>
- Caritis S. Adverse effects of tocolytic therapy. *BJOG*. 2005;112 (Suppl. 1):74–8. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2005.00590.x>
- Haas DM, Caldwell DM, Kirkpatrick P, McIntosh JJ, Welton NJ. Tocolytic therapy for preterm delivery: systematic review and network meta-analysis. *BMJ*. 2012;345:e6226. <https://doi.org/10.1136/bmj.e6226>
- Haas DM, Benjamin T, Sawyer R, Quinney SK. Short-term tocolytics for preterm delivery — current perspectives. *Int J Womens Health*. 2014;(6):343–9. <https://doi.org/10.2147/IJWH.S44048>
- Khan K, Zamora J, Lamont RF, van Geijn H, Svare J, Santos-Jorge C, et al. Safety concerns for the use of calcium channel blockers in pregnancy for the treatment of spontaneous preterm labour and hypertension: a systematic review and meta-regression analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2010;23(9):1030–8. <https://doi.org/10.3109/14767050903572182>
- Jørgensen JS, Weile KK, Lamont RF. Preterm labor: current tocolytic options for the treatment of preterm labor. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(5):585–8. <https://doi.org/10.1517/14656566.2014.880110>
- Reinebrant HE, Pileggi-Castro C, Romero CL, Dos Santos RA, Kumar S, Souza JP, Flenady V. Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;(6):CD001992. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001992.pub3>
- Shahzad N, Saleem F, Shahid M, Malik A. Comparison between nifedipine and ritodrine as an effective tocolytic agent for preterm labour. *Annals* 2015;21(2):113–8.
- Cararach V, Palacio M, Martinez S, Deulofeu P, Sanchez M, Cobo T, Coll O. Nifedipine versus ritodrine for suppression of preterm labor. Comparison of their efficacy and secondary effects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006;127(2):204–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2005.10.020>
- de Heus R, Mol BW, Erwich J-JH, van Geijn H, Gyselaers WJ, Hanssens M, et al. Adverse drug reactions to tocolytic treatment for preterm labour: prospective cohort study. *BMJ*. 2009;338:b744. <https://doi.org/10.1136/bmj.b744>
- Lamont CD, Jørgensen JS, Lamont RF. The safety of tocolytics used for the inhibition of preterm labour. *Expert Opin Drug Saf*. 2016;15(9):1163–73. <https://doi.org/10.1080/14740338.2016.1187128>
- Cararach V, Palacio M, Martinez S, Deulofeu P, Sanchez M, Cobo T, Coll O. Nifedipine versus ritodrine for suppression of preterm labor. Comparison of their efficacy and secondary effects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006;127(2):204–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2005.10.020>
- Haas DM, Imperiale TF, Kirkpatrick PR, Klein RW, Zollinger TW, Golichowski AM. Tocolytic therapy: a meta-analysis and decision analy-

- sis. *Obstet Gynecol.* 2009;113(3):585–94. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e318199924a>
18. Conde-Agudelo A, Romero R, Kusanovic JP. Nifedipine for the management of preterm labour: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(2):134.e1–20. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.11.038>
 19. Haas DM, D'Alton M. Pharmacogenetics and other reasons why drugs can fail in pregnancy: higher dose or different drug? *Obstet Gynecol.* 2012;120(5):1176–9. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3182698538>
 20. Hebert MF. Impact of pregnancy on pharmacokinetics of medications. *J Popul Ther Clin Pharmacol.* 2013;20(3):350–7.
 21. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet.* 2001;27(4):383–91. <https://doi.org/10.1038/86882>
 22. Jakovski K, Nestorovska A, Labacevski N, Aleksandar J, Dimovski AJ. Frequency of the most common CYP3A5 polymorphisms in the healthy population of the Republic of Macedonia. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin.* 2012;58(1, 2):25–30.
 23. Seredina TA, Goreva OB, Talaban VO, Grishanova AY, Lyakhovich VV. Association of cytochrome P450 genetic polymorphisms with neo-adjuvant chemotherapy efficacy in breast cancer patients. *BMC Med Genet.* 2012;13:45. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-13-45>
 24. Haas DM, Quinney SK, McCormick CL, Jones DR, Renbarger JL. A pilot study of the impact of genotype on nifedipine pharmacokinetics when used as a tocolytic. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(4):419–23. <https://doi.org/10.3109/14767058.2011.583700>
 25. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet.* 2001;27(4):383–91. <https://doi.org/10.1038/86882>
 26. Haas DM, Quinney SK, Clay JM, Renbarger JL, Hebert MF, Clark S, et al. Nifedipine pharmacokinetics are influenced by CYP3A5 genotype when used as a preterm labor tocolytic. *Am J Perinatol.* 2013;30(4):275–81. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1323590>
 27. Yerby MS, Friel PN, McCormick K, Koerner M, Van Allen M, Leavitt AM, et al. Pharmacokinetics of anticonvulsants in pregnancy: alterations in plasma protein binding. *Epilepsy Res.* 1990;5(3):223–8. PMID: 2384078
 28. Rodrigues AD. Impact of CYP2C9 genotype on pharmacokinetics: are all cyclooxygenase inhibitors the same? *Drug Metab Dispos.* 2005;33(11):1567–75. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.006452>
 29. Shah M, Xu M, Shah P, Wang X, Clark SM, Costantine M, et al. Effect of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics of indomethacin during pregnancy. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2019;44(1):83–9. <https://doi.org/10.1007/s13318-018-0505-7>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Сокова Елена Андреевна, канд. мед. наук, доцент. *Elena A. Sokova*, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6389-2099>

Чилова Раиса Алексеевна, д-р мед. наук, проф. *Raisa A. Chilova*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6331-3109>

Демидова Ольга Александровна, канд. фарм. наук. *Olga A. Demidova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0123-3044>

Акопов Константин Олегович. *Konstantin O. Akopov*.

Статья поступила 20.12.2018

После доработки 20.05.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 20 December 2018

Revised 20 May 2019

Accepted for publication 16 August 2019

Проблемы нормирования мышьяка в бурых водорослях и лекарственных препаратах на их основе

В. М. Шукин*, А. А. Ерина, Е. С. Лисман, О. А. Ваганова

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. Морские водоросли обладают свойством концентрировать в своих тканях элементарные токсиканты в высоких концентрациях. Водоросли являются широко используемым сырьем в пищевой и фармацевтической промышленности, поэтому возникает вопрос о необходимости нормирования содержания в них токсикантов. Цель работы — анализ требований российской и зарубежных фармакопей и других нормативных документов к нормированию содержания мышьяка в бурых водорослях. В работе представлены результаты анализа статей Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII и XIV изданий, проекта фармакопеи Евразийского экономического союза, Фармакопеи США, Японской фармакопеи, Европейской фармакопеи, Аюрведической фармакопеи Индии, касающихся нормирования содержания мышьяка в лекарственных растительных препаратах (ЛРП). Проанализированы отечественная, международная и зарубежная нормативная документация пищевой промышленности, а также нормативные акты, регулирующие оборот биодобавок, и научные публикации, посвященные вопросам содержания мышьяка в бурых водорослях. Рассмотрена номенклатура определяемых и нормируемых соединений мышьяка, выделены основные подходы и обозначены тенденции в области установления пределов их содержания в ЛРП. Отмечены особенности накопления неорганических соединений мышьяка бурыми водорослями. Показано, что в большинстве зарубежных фармакопей либо установлены отдельные нормы по содержанию мышьяка в бурых водорослях, отличающиеся от общих норм для ЛРП, либо существующие нормы учитывают различную токсичность органических и неорганических соединений мышьяка. Установлена тенденция нормирования содержания элементарных токсикантов, основанная на их максимальной допустимой суточной дозе потребления. Показана необходимость отдельного определения содержания токсичных неорганических соединений мышьяка и потенциально токсичных метиларсоната и диметиларсината в лекарственных растительных препаратах.

Ключевые слова: мышьяк; неорганический мышьяк; метиларсонат; диметиларсинат; элементарные токсиканты; бурые водоросли; фукусовые; ламинариевые; лекарственные растительные препараты; нормирование; токсичность

Для цитирования: Шукин ВМ, Ерина АА, Лисман ЕС, Ваганова ОА. Проблемы нормирования мышьяка в бурых водорослях и лекарственных препаратах на их основе. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):167–172. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-167-172>

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

Problems of Establishing Limits for Arsenic Content in Brown Algae and Brown Algae-Containing Medicinal Products

V. M. Shchukin*, A. A. Erina, E. S. Lisman, O. A. Vaganova

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

Abstract. Algae tend to accumulate elemental toxic substances in high concentrations. Algae are widely used in the food and pharmaceutical industries, and this dictates the need to establish limits for the content of toxic substances that they may contain. The aim of the study was to analyse the requirements of the Russian and foreign pharmacopoeias and other regulatory documents concerning the limits for the content of arsenic in brown algae. The paper presents the results of analysis of monographs from the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII and XIV editions, draft version of the Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union, United States Pharmacopoeia, Japanese Pharmacopoeia, European Pharmacopoeia, and Ayurvedic Pharmacopoeia of India containing limits for the content of arsenic in herbal medicinal products (HMPs). In addition, the authors analysed Russian, international and foreign food industry and dietary supplements regulations, as well as scientific publications on arsenic content in brown algae. They also considered the nomenclature of arsenic compounds to be determined and controlled in medicinal products, highlighted the main approaches to and identified global trends in establishing the limits for their content in HMPs. The paper summarises specific aspects of inorganic arsenic compounds accumulation by brown algae. It was demonstrated that the majority of foreign pharmacopoeias either have specific norms for arsenic content in brown algae, which differ from the norms for HMPs, or have general norms that take into account different toxicity levels of organic and inorganic arsenic compounds. There is a tendency to control the content of elemental toxic substances based on their maximum allowable daily intake. The paper substantiates the need for separate determination of toxic inorganic arsenic compounds and potentially toxic methyl arsonate and dimethyl arsinate in HMPs.

Key words: arsenic; inorganic arsenic; methyl arsonate; dimethyl arsenate; elemental toxic substances; brown algae; fucoids; laminaria; herbal medicinal products; limits; toxicity

For citation: Shchukin VM, Erina AA, Lisman ES, Vaganova OA. Problems of establishing limits for arsenic content in brown algae and brown algae-containing medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):167–172. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-167-172>

*Corresponding author: Victor M. Shchukin; Schukin@expmed.ru

Макро- и микроэлементный состав бурых водорослей позволяет использовать их как лекарственное растительное сырье (ЛРС) для лекарственных растительных препаратов (ЛРП), обладающих широким спектром полезных свойств, а также в качестве биологически активных добавок (БАД) к пище. Употребляемые человеком бурые водоросли служат источником йода, железа, кальция, калия, кремния, магния, селена, серы, цинка, фосфора, бора, бария, различных аминокислот, витаминов (А, В₁, В₂, В₃, В₁₂, С, D₃ и др.), органических кислот (альгиновая, фолиевая и пантотеновая и др.), клетчатки, полисахаридов (альгинатов, ламинарана, фукоидана), полифенолов. Содержание йода в бурых водорослях выше, чем в других гидробионтах. Этот элемент в основном содержится в виде органических соединений, что облегчает его усвояемость щитовидной железой по сравнению с препаратами на основе йодистого калия.

Состав и содержание микроэлементов в водорослях заметно зависит от вида водорослей, места их произрастания и времени сбора [1, 2]. Это составляет одну из основных проблем установления норм содержания элементных токсикантов (мышьяка, кадмия, ртути и свинца) в бурых водорослях и является предметом многочисленных дискуссий.

В морской воде растворенные формы неорганического мышьяка содержатся обычно в количествах 1–3 мкг/л, при этом его общее содержание в морских водорослях в 1000–50000 раз выше [3] — в тканях этих растений растворенные в воде токсичные формы неорганического мышьяка переходят в относительно нетоксичные органические формы. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) и Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) указывают, что в организм человека мышьяк поступает в основном из воды и морепродуктов [4–6], рекомендуемая доза потребления неорганического мышьяка составляет 3 мкг/кг веса тела в день независимо от способа его поступления в организм¹.

В настоящее время в зарубежной нормативной практике существует несколько принципиально различных подходов к нормированию содержания мышьяка в бурых водорослях. Проведенные нами исследования [7] показали необходимость изменения существующих российских норм, касающихся содержания мышьяка применительно к бурым водорослям как лекарственным растительным препа-

ратам, так как существующие нормы не позволяют в полной мере провести оценку безопасности их использования.

Цель работы — анализ требований российской и зарубежных фармакопей и других нормативных документов к нормированию содержания мышьяка в бурых водорослях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено информационно-аналитическое исследование проблем нормирования мышьяка в бурых водорослях, были изучены материалы отечественной и зарубежных фармакопей: Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XIII и XIV изданий, проекта фармакопеи Евразийского экономического союза, Фармакопеи США (United States Pharmacopoeia, USP), Японской фармакопеи (Japanese Pharmacopoeia, JP), Европейской фармакопеи (European Pharmacopoeia, Ph. Eur.), Аюрведической фармакопеи Индии (Ayurvedic Pharmacopoeia of India) в области нормирования содержания элементов-токсикантов в ЛРП и в прочих лекарственных средствах (ЛС). Дополнительно были проанализированы отечественная, международная и иностранная нормативная документация в смежных областях (пищевой промышленности, внешнеторговой деятельности), а также нормативные акты, регулирующие оборот биодобавок, и научные публикации, посвященные вопросам содержания мышьяка в бурых водорослях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Соединения мышьяка с кислородом, хлором или серой называются неорганическим мышьяком (iAs), соединения с водородом или углеродом — органическим. Элементный мышьяк и его неорганические соединения являются нейротоксичными, генотоксичными и канцерогенными, вызывают рак печени, мочевого пузыря, легких и кожи². Попадание в течение длительного времени в организм неорганического мышьяка приводит к диабету, заболеваниям легких и сердечно-сосудистым болезням, в частности, к инфаркту миокарда [8]. Также обнаружено негативное влияние неорганического мышьяка на развитие плода и детскую смертность [9].

В морской биоте мышьяк содержится в основном в виде органических соединений. В отличие от неорганических форм трех- (AsIII) и пятивалентного (AsV) мышьяка его органические производ-

¹ WHO Technical Report Series 959. Evaluation of certain contaminants in food: 72nd report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). World Health Organization, Geneva.

² A toxicological profile for arsenic. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007.

ные (арсенобентаин (AsB), арсеносахара (As sugar), арсенохолин (AsC), арсенолипиды, метиларсонат (ММА) и диметиларсинат (DMA) малотоксичны. Порядок токсичности соединений мышьяка снижается от неорганического к органическому по показателю LD₅₀: AsIII (14) > AsV (20) > MMA (700–1800) > DMA (700–2600) > AsC (>6500) > AsB, As sugar (>10000) [10]. Токсичность арсенолипидов до сих пор точно не установлена. Согласно классификации Международного агентства по изучению рака (IARC), соединения неорганического мышьяка относятся к канцерогенам группы 1 (вещества с доказанной канцерогенностью для человека), диметиларсиновая и монометиларсионовая кислоты — к канцерогенам группы 2В (вещества, возможно приводящие к раку), арсенобентаин и прочие органические соединения мышьяка — к группе 3 (вещества, не классифицируемые по канцерогенности)³.

Несмотря на гармонизацию зарубежных фармакопей, принципы нормирования элементов-токсикантов в ЛРС и ЛРП, закрепленные в них, несколько отличаются. В зарубежной нормативной документации существуют три основных подхода к нормированию таких элементов, в частности мышьяка, в ЛРС и ЛРП, применяемые при оценке качества бурых водорослей:

- установление общих норм для всех видов сырья и препаратов;
- установление общих норм одновременно с частными нормами для отдельных объектов;
- установление общих норм, учитывающих содержание наиболее токсичных форм нормируемых элементов.

Установление общих норм является одним из наиболее простых подходов при нормировании, первой стадией разработки требований к ЛРС и ЛРП. Нормы для ЛРС и ЛРП часто базируются на аналогичных нормах для пищевых продуктов. ВОЗ признает этот путь к нормированию как исходный, но рекомендует проводить дополнительные исследования для ЛРС и ЛРП, используя наиболее современные из имеющихся аналитических методов⁴. Данный подход был реализован, в частности, в отечественной ГФ РФ XIII изд., в которой были впервые введены индивидуальные нормы по содержанию элементов-токсикантов⁵. При ее разработ-

ке учитывались требования СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» по содержанию мышьяка, свинца, кадмия и ртути в БАД на растительной основе [11]. В ГФ РФ XIV изд. уже предусмотрена возможность установления индивидуальных норм по содержанию элементарных токсикантов для различных видов ЛРП и ЛРС, и, в частности, для ламинарии норма содержания мышьяка увеличена до 90 мг/кг⁶ (аналогично с требованиями в Ph. Eur. IX изд.⁷). В существующем проекте фармакопеи ЕАЭС указаны общие нормы по содержанию элементарных токсикантов для всего растительного сырья, и не предусмотрена возможность введения индивидуальных норм для отдельных видов ЛРП⁸, общее содержание мышьяка лимитировано на уровне 0,5 мг/кг. В Техническом регламенте Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011), так же как в СанПиН 2.3.2.1078-01, для водорослей и морских трав заложена норма содержания общего мышьяка в 5 мг/кг, относящаяся к готовой реализуемой продукции, а не к высушенному образцу растительного сырья. Такое разнообразие норм не позволяет установить общие требования ко всему сырью из бурых водорослей.

Одинаковые нормы по содержанию общего мышьяка для всех видов растительного сырья заложены в китайских внешнеторговых стандартах для лекарственного растительного сырья и препаратах на его основе, базирующихся на требованиях Китайской фармакопеи⁹. В последнее время в китайских пищевых стандартах появляется подход, состоящий в раздельном определении органического и неорганического мышьяка; уровень определения соответствует европейским требованиям¹⁰. Индийское министерство, регламентирующее оборот аюрведических препаратов, также требует определять содержание элементарных токсикантов, в том числе мышьяка, при регистрации лекарственных растительных препаратов (общее содержание на уровне 3 мг/кг). Общие требования по содержанию элементов-токсикантов во всех ЛРП установлены в «Сертификационной схеме»¹¹.

В соответствии с требованиями к селективному определению тяжелых металлов и мышьяка Меж-

³ A review of human carcinogens. Part C: Arsenic, metals, fibres, and dusts. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 100C.

⁴ WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. World Health Organization, 2007.

⁵ ОФС.1.5.3.0009.15. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд. Т. 2. 2015.

⁶ ФС.2.5.0080.18. Ламинарии слоевища (морская капуста). Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 4. 2018.

⁷ Monograph 01/2008:1426 Kelp. European Pharmacopoeia, 9th ed., Vol. 1. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines & Health Care; 2016.

⁸ ОФС.2.4.27. Тяжелые металлы и мышьяк в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах (проект). Фармакопея Евразийского экономического союза.

⁹ Green Standards of medicinal plants and preparations for foreign trade and economy WM/T2–2004. Ministry of Commerce of the People's Republic of China.

¹⁰ National Food Safety Standard Maximum Levels of Contaminants in Foods United States Department of Agriculture.

¹¹ Voluntary Certification Scheme for AYUSH Products. Quality Council of India.

дународные соглашения Ассоциации государств Юго-Восточной Азии (АСЕАН) установили общие требования по содержанию мышьяка и тяжелых металлов для продуктов традиционной медицины (ЛРП) и БАД на растительной основе¹².

Особенности содержания элементных токсикантов в бурых водорослях начали изучаться в Европе в конце 70-х годов XX века [12]. Данные о заметном различии в накоплении органического и неорганического мышьяка послужили основой разработки и внедрения отдельных норм по содержанию неорганического мышьяка в Великобритании, Австралии, а также США. Впервые в европейских странах рекомендации по определению iAs в употребляемых в пищу бурых водорослях появились во Франции в 1992 г. [13]. Согласно исследованиям, проведенным Агентством по стандартам на пищевые продукты Великобритании, в большинстве видов бурых водорослей (за исключением *Hizikia fusiformis*) содержание iAs не превышает 0,3 мг/кг [14]. Исследование австралийского Агентства по безопасности пищевых продуктов в 2010 г. также показало практическое отсутствие на рынке бурых водорослей с содержанием iAs, превышающим рекомендуемый безопасный уровень в 1 мг/кг¹³. В рекомендациях Австралии, Новой Зеландии, Канады и Великобритании с 2004 г. существуют предупреждения о повышенном содержании iAs только для *Hizikia fusiformis*. Данные рекомендации подтверждены в 2016 г.¹⁴

Европейская фармакопея не имеет общих норм по содержанию мышьяка, хотя общие нормы по содержанию кадмия, свинца и ртути приведены¹⁵. В частной статье по бурым водорослям *Kelp* уже в 2005 г. (Ph. Eur. V изд.) зафиксированы нормы по содержанию общего мышьяка в *Fucus vesiculosus* L., *Fucus serratus* L. и *Ascophyllum nodosum*, принадлежащих порядку фукусовые, семейства фукусовые. Приведенные нормы указаны с учетом высокого содержания в *Fucus vesiculosus* L., *Fucus serratus* L. и *Ascophyllum nodosum* органического мышьяка при практическом отсутствии iAs. Общих требований к содержанию мышьяка в пищевых продуктах в европейских странах также не имеется. Многочисленные исследования 2014–2017 гг. показывают, что и водоросли *Laminaria digitata* могут накапливать значительные количества iAs, однако

другие растения, например фукусовые водоросли *Ascophyllum nodosum*, в тех же условиях не аккумулируют его в значительных количествах [15]. Эти и другие исследования служат основой для пересмотра уровней содержания мышьяка в бурых водорослях в общеевропейской нормативной документации и внедрению норм, базирующихся на максимальной допустимой суточной дозе потребления элементных токсикантов¹⁶.

В США нормы по содержанию элементных токсикантов в пище и методы определения их содержания приведены в «Кодексе пищевых химикатов», в котором с 1981 г. устанавливается предельное содержание iAs в пищевой продукции из бурых водорослей, в том числе из ламинарии, на уровне 3 мг/кг¹⁷. В 1988 г. Агентство по защите окружающей среды США впервые установило рекомендуемую дозу по суточному потреблению iAs для человека (уровень наименьшего наблюдаемого неблагоприятного эффекта 0,3 мкг/кг в сут)¹⁸. Данный уровень служит для расчета норм по содержанию iAs в продуктах питания, биодобавках и лекарственных средствах. Американская ассоциация растительных продуктов рекомендует ограничивать потребление iAs из растительных биодобавок на уровне 10 мг/кг в сут. В USP установлены уровни содержания iAs, исходя из максимально допустимых дневных норм потребления, причем допустимое содержание и объекты нормирования могут меняться. В 2010 г. на фармакопейном форуме были установлены временные лимиты по содержанию iAs в лекарственных средствах на уровне 1,5 мг/кг¹⁹. В USP 35 издания содержание общего мышьяка нормировалось только для ЛРП (в жирных кислотах и маслах)²⁰, в USP 36 издания в разделе «Элементные включения»²¹ указаны нормы по содержанию iAs во всех лекарственных препаратах на уровне 1,5 мг/кг. Начиная с USP 38 издания, в ЛРП уже нормируется содержание неорганического мышьяка во всех препаратах растительного происхождения на уровне 2 мг/кг²². Параллельно для изучения возможной канцерогенной токсичности ведутся работы по оценке содержания ДМА и ММА в различных природных материалах. Методики по селективному определению неорганического мышьяка, ДМА и ММА были одобрены Управлением

¹² ASEAN Guidelines on Limits of Contaminants for Health Supplements. Association of Southeast Asian Nations. 2013.

¹³ Inorganic arsenic in seaweed and certain fish NSW/FA/CP043/1102 New South Wales Food Authority. 2010.

¹⁴ Imported food risk statement Hijiki seaweed and inorganic arsenic. Food Standards Australia New Zealand. 2016.

¹⁵ Herbal Drugs, General Chapter 1433. European Pharmacopoeia. 9th ed. Supplement 9.2.2017.

¹⁶ Q3D Elemental Impurities. Guidance for Industry. The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). 2015.

¹⁷ National Research Council. Food Chemicals Codex. 3rd ed. Washington, DC: The National Academies Press. 1981.

¹⁸ Arsenic, inorganic; CASRN 7440-38-2. United State Environmental Protection Agency.

¹⁹ Pharmacopeial Forum 36(1) In-Process Revision: <232> Elemental impurities — limits 2010:37(3).

https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/our-work/chemical-medicines/key-issues/in_processrevision_232_elementalimpuritieslimits.pdf

²⁰ Fats and fixed oils. General chapters 401. United State Pharmacopoeia 35th ed. 2011.

²¹ Elemental impurities — limits. General chapters 232. United State Pharmacopoeia 36th ed. 2013.

²² Articles of Botanical Origin. General chapters 561. United State Pharmacopoeia 38th ed. 2015.

по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) в 2012 г.²³

В последние годы взят курс на гармонизацию национальных и международных фармакопей, в частности в области содержания элементов-токсикантов в лекарственных препаратах. Основой современного подхода нормирования при этом является оценка количества элементных примесей во всех ЛС, в том числе и ЛРП, базирующаяся на максимально возможном уровне потребления этих элементов. Нормы, приведенные в рекомендациях Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (ICH), учитывают степень токсичности и усваиваемости различных форм элементных соединений, а не просто их валовой состав, в том числе отличия в содержании общего и неорганического мышьяка. Данные нормы уже приняты в США, начиная с USP 38 изд., и в настоящий момент происходит их внедрение в Ph. Eur. и JP.

В России также были разработаны нормы допустимого суточного потребления элементных токсикантов человеком²⁴, но, к сожалению, эти показатели практически не применяются в процессе регулирования хозяйственной деятельности и на сегодняшний день не введены ни в СанПиН, ни в ГФ РФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами была проанализирована нормативная документация различных стран, регламентирующая уровни содержания мышьяка в лекарственных препаратах, БАД и пищевой продукции на основе бурых водорослей.

В большинстве ведущих зарубежных фармакопей установлены отдельные нормы по содержанию мышьяка в бурых водорослях, отличающиеся от общих норм для ЛРП. В ряде случаев существующие нормы учитывают различную токсичность органических и неорганических соединений мышьяка.

Наряду с общей тенденцией установления уровней содержания элементов-токсикантов в ЛС на основе допустимых норм суточного потребления для мышьяка актуально также определение содержания его форм, отличающихся по токсичности, в ЛРС и ЛРП.

Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем для внесения изменений в отечественную нормативную документацию в области нормирования содержания различных соединений мышьяка в ЛРП и БАД на основе бурых водорослей с учетом специфики накопления различных форм мышьяка в этом виде морской биоты.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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 № 056-00154-19-00 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. Боголицын КГ, Каплицин ПА, Кашина ЕМ, Иванченко НЛ, Кокрятская НМ, Овчинников ДВ. Особенности минерального состава бурых водорослей Белого и Баренцева морей. *Химия растительного сырья*. 2014;(1):243–50. [Bogolitsyn KG, Kaplitsin PA, Kashina EM, Ivanchenko NL, Kokryatskaya NM, Ovchinnikov DV. Peculiarities of the mineral composition of the brown algae in the White and Barents seas. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya = Chemistry of Plant Raw Material*. 2014;(1):243–50 (In Russ.)]
2. Аминина НМ, Вишневская ТИ, Гурулева ОН, Ковековдова ЛТ Состав и возможности использования бурых водорослей дальневосточных морей. *Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук*. 2007;(6):123–30. [Aminina NM, Vishnevskaya TI, Guruleva ON, Kovekovdova LT. Biological value and parameters of safety of brown seaweeds in the Far-Eastern seas. *Vestnik Dal'nevostochnogo otdeleniya Rossiyskoy akademii nauk = Vestnik of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2007;(6):123–30 (In Russ.)]
3. Ma Z, Lin L, Wu M, Yu H, Shang T, Zhang T, Zhao M. Total and inorganic arsenic contents in seaweeds: Absorption, accumulation, transformation and toxicity. *Aquaculture*. 2018;497:49–55. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.040>
4. Taylor V, Goodale B, Raab A, Schwerdtle T, Reimer K, Conklin S, et al. Human exposure to organic arsenic species from seafood. *Sci Total Environ*. 2017;580:266–82. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.113>
5. Mania M, Rebeniak M, Szynal T, Wojciechowska-Mazurek M, Starska K, Ledzion E, Postupolski J. Total and inorganic arsenic in fish, seafood and seaweeds — exposure assessment. *Rocz Panstw Zakl Hig*. 2015;66(3):203–10. PMID: 26400115
6. Круглякова УС, Багрянцева ОВ, Евстратова АД, Малинкин АД, Гмошинский ИВ, Хотимченко СА. Раздельное количественное определение органических и неорганических форм мышьяка в морепродуктах. *Анализ риска здоровью*. 2018;(2):112–8. [Kruglyakova US, Bagryantseva OV, Evstratova AD, Malinkin AD, Gmoshinskiy IV, Khotimchenko SA. Separate quantitative determination of organic and inorganic forms of arsenic in seafood. *Analiz riska zdorov'ya = Health risk analysis*. 2018;(2):112–8 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.2.13>
7. Щукин ВМ, Кузьмина НЕ, Ерина АА, Яшкир ВА, Меркулов ВА. Сравнительный анализ содержания тяжелых металлов, алюминия и мышьяка в бурых водорослях различного происхождения. *Химико-фармацевтический журнал*. 2018;52(7):30–6. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2018-52-7-30-36>. [Shchukin VM, Kuz'mina NE, Erina AA, Yashkir VA, Merkulov VA. Comparative analysis of the heavy metal, aluminum, and arsenic contents in brown algae of various origins. *Pharmaceutical*

²³ High Performance Liquid Chromatography Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometric Determination of Four Arsenic Species in Fruit Juice. United State Food and Drug Administration. 2012.

²⁴ Р 2.1.10.1920-04. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2004.

- Chemistry Journal*. 2018;52(7):627–34. <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1872-8>
8. Gómez-Ariza J. Arsenic metabolites in human serum and urine after seafood (*Anemonia sulcata*) consumption and bioaccessibility assessment using liquid chromatography coupled to inorganic and organic mass spectrometry. *Microchem J*. 2014;112:56–64. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.09.007>
 9. Quansah R, Armah FA, Essumang DK, Luginaah I, Clarke E, Marfoh K, et al. Association of arsenic with adverse pregnancy outcomes/infant mortality: a systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect*. 2015;123(5):412–21. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307894>
 10. Niegel C, Matysik FM. Analytical methods for the determination of arsenosugars — a review of recent trends and developments. *Anal Chim Acta*. 2010;657(2):83–99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.041>
 11. Терешкина ОИ, Самылина ИА, Рудакова ИП, Гравель ИВ. Гармонизация подходов к оценке безопасности состава лекарственных растительных препаратов. *Биомедицина*. 2011;(3):80–6. [Tereshkina OI, Samylina IA, Rudakova IP, Gravel IV. Harmonization of approaches to safety assessment of medicinal plant drugs. *Biomedicina = Biomedicine*. 2011;(3):80–6 (In Russ.)]
 12. Sanders JG. The concentration and speciation of arsenic in marine macro-algae. *Estuarine and Coastal Marine Science*. 1979;9(1):95–9. [https://doi.org/10.1016/0302-3524\(79\)90010-0](https://doi.org/10.1016/0302-3524(79)90010-0)
 13. Mabeau S, Fleurence J. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci Technol*. 1993;4(4):103–7. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90091-n](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90091-n)
 14. Rose M, Lewis J, Langford N, Baxter M, Origgi S, Barber M, et al. Arsenic in seaweed — forms, concentration and dietary exposure. *Food Chem Toxicol*. 2007;45(7):1263–7. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.01.007>
 15. Ronan JM, Stengel DB, Raab A, Feldmann J, O'Hea L, Bralatei E, McGovern E. High proportions of inorganic arsenic in *Laminaria digitata* but not in *Ascophyllum nodosum* samples from Ireland. *Chemosphere*. 2017;186:17–23. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.076>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Шукин Виктор Михайлович. Victor M. Shchukin. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9440-0950>

Ерина Алина Андреевна. Alina A. Erina. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7488-7204>

Лисман Евгения Сергеевна. Evgenia S. Lisman. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1637-9081>

Ваганова Ольга Александровна, канд. фарм. наук. Olga A. Vaganova, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2904-7382>

Статья поступила 29.01.2019

После доработки 03.04.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 29 January 2019

Revised 3 April 2019

Accepted for publication 16 August 2019

Оптимизация процедуры изолирования цефепима из биологического материала

А. А. Безъязычная*, В. К. Шорманов, Л. Е. Сипливая

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
ул. К. Маркса, д. 3, Курск, 305041, Российская Федерация

Резюме. Цефепим (активное вещество цефепима дигидрохлорид моногидрат) — антибиотик четвертого поколения, обладающий широким спектром действия. Изучение химико-токсикологических свойств цефепима является актуальным из-за случаев отравления данным антибиотиком с летальным исходом, а также отсутствия простых и современных методик его определения. **Цель работы:** выбор условий изолирования цефепима из биологического материала для последующего применения в практике судебно-медицинской экспертизы. **Материалы и методы:** определение условий изолирования цефепима из биологического материала проводили на модельных смесях в несколько этапов: подбор приемлемого изолирующего агента и его количества, времени и кратности настаивания. Для идентификации, очистки и количественного определения цефепима применяли методы тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. **Результаты:** приемлемым изолирующим агентом для извлечения цефепима из биологического материала является смесь состава ацетон-вода (1:1), масса изолирующего компонента должна превышать массу биологического материала в два раза, продолжительность контакта изолирующего агента с биологическим материалом должна быть не менее 30 минут. **Выводы:** результаты проведенных исследований позволили выявить приемлемый изолирующий агент и условия изолирования цефепима из биологического материала для идентификации и количественного определения антибиотика при судебно-медицинской экспертизе.

Ключевые слова: цефепим; изолирование; изолирующий агент; идентификация; количественное определение

Для цитирования: Безъязычная АА, Шорманов ВК, Сипливая ЛЕ. Оптимизация процедуры изолирования цефепима из биологического материала. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):173–176. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-173-176>

***Контактное лицо:** Безъязычная Антонина Александровна; baa02061993@rambler.ru

Optimisation of the Procedure of Cefepime Extraction from Biological Material

A. A. Bezyazychnaya*, V. K. Shormanov, L. E. Siplivaya

Kursk State Medical University,
3 K. Marx St., Kursk 305041, Russian Federation

Abstract. Cefepime (active substance — cefepime dihydrochloride monohydrate) is a fourth-generation antibiotic with a broad spectrum of action. The study of the chemical and toxicological properties of cefepime is especially relevant because there have been some cases of poisoning with this antibiotic which resulted in a fatal outcome, and because there is a lack of simple and up-to-date methods of its determination. **The study objective** was to select conditions for cefepime extraction from biological material for subsequent use in forensic examination. **Materials and methods:** the determination of conditions for cefepime extraction from biological material was performed using model mixtures and included selection of an adequate extracting agent and the required amount of the agent, as well as selection of the duration and number of digestion steps. Identification, purification and quantification of cefepime were performed using thin-layer chromatography and spectrophotometry methods. **Results:** an acceptable agent that could be used for cefepime extraction from biological material is an acetone-water mixture (1:1), the amount of the extracting component should be twice the amount of the biological material, the time of contact between the extracting agent and the biological material should be at least 30 min. **Conclusions:** the results of the study allowed us to identify an acceptable extracting agent and the conditions for cefepime extraction from biological material for identification and quantification of the antibiotic during forensic examination.

Key words: cefepime; extraction; extracting agent; identification; quantification

For citation: Bezyazychnaya AA, Shormanov VK, Siplivaya LE. Optimisation of the procedure of cefepime extraction from biological material. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):173–176. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-173-176>

***Corresponding author:** Antonina A. Bezyazychnaya; baa02061993@rambler.ru

Цефепим — 1-[[[(6R, 7R)-7-[2-(2-амино-4-тиазолил)-глиоксиламино]-2-карбокси-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-3-ил]метил]-1-метилпирролидиния дигидрохлорид моногидрат — порошок, имеющий цвет от белого до светло-желтого. Структурное строение соответствует формуле, изображенной на рисунке 1.

Цефепимагидрохлорид ($C_{19}H_{24}N_6O_5S_2 \cdot 2HCl \cdot H_2O$) содержит не менее 825 и не более 911 мкг/мг активного вещества в пересчете на безводное вещество. Легко растворим в воде, в 0,9 % изотоническом растворе натрия хлорида и 5 % растворе глюкозы. Молекулярная масса — 571,5 а.е.м. [1–3].

Данное лекарственное средство токсично для теплокровных. Его LD_{50} при внутривенном введении мышам — от 1500 до 2000 мг/кг. Описаны случаи летального исхода в результате отравлений людей, принимавших цефалоспориновые антибиотики [4–6].

Широкое применение цефепима, наличие случаев отравления с летальным исходом, отсутствие современных методик изолирования цефепима из биологического материала с последующим количественным определением делают актуальным изучение цефепима в химико-токсикологическом отношении.

Вместе с тем решение вопросов химико-токсикологического анализа цефепима в условиях проведения судебно-медицинской экспертизы требует оптимизации существующих методик определения данного антибиотика [7–9]. Разработка методики, позволяющей выделить и количественно определить цефепим из биологического материала в лабораториях различного уровня, вне зависимости от оснащённости современным химическим оборудованием и наличия микробиологического отдела, является актуальной задачей.

Цель работы — выбор условий изолирования цефепима из биологического материала, применимых в практике судебно-медицинской экспертизы.

Задачами данной работы являлись:

- выявление оптимального изолирующего агента;
- определение кратности и продолжительности настаивания с оптимальным изолирующим агентом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили модельные смеси рабочего образца цефепима (ЗАО «МАКИЗ-

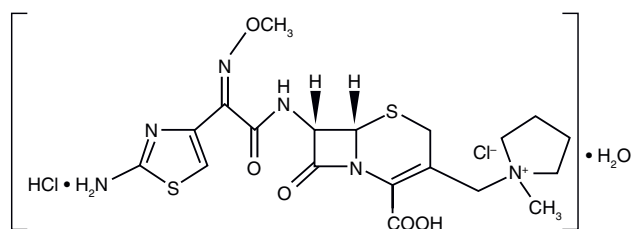


Рис. 1. Структурная формула цефепима

Fig. 1. Cefepime structural formula

ФАРМА», Россия) с мелкоизмельченной трупной печени крупного рогатого скота (0,025 г анализируемого препарата в 50 г биологического образца).

Изучали особенности извлечения цефепима из биологического материала 17 изолирующими агентами различной химической природы, учитывая растворяющую способность вещества в данных растворителях и их смесях [10–12]. Модельные смеси выдерживали при 18–20 °С 1,5 ч и осуществляли двукратное изолирование аналита каждым агентом при соотношении его массы к массе биоматериала 2:1 (порциями по 100 г изолирующего агента). Продолжительность каждого настаивания — 30 мин. Первое и второе извлечения объединяли. 15 % объединенного извлечения упаривали до сухого остатка, остаток растворяли в 0,3–0,5 мл воды и количественно переносили на линию старта хроматографической пластины «Сорбфил» с УФ-индикатором. В качестве вещества-свидетеля использовали 5–10 мкл 0,04 % водного раствора стандартного образца Цефепима дигидрохлорида моногидрата (CAS No. 123171-59-5). Хроматографировали двукратно, используя последовательно в качестве подвижных фаз ацетон и систему растворителей ацетон–вода (3:2). Хроматограммы проявляли в УФ-свете (254 нм). R_f определяемого вещества соответствовало R_f вещества-свидетеля и составляло 0,62.

Анализируемое вещество элюировали из сорбента смесью диметилсульфоксид–вода (1:1) 15 минут. Измеряли оптическую плотность элюата на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 в кюветах с толщиной рабочего слоя 10 мм при 263,8 нм [13] относительно смеси диметилсульфоксид–вода (1:1). Расчет количественного содержания проводили по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика измеряли оптические плотности растворов с концентрациями 2,5; 5; 10; 15; 20; 25 и 30 мкг/мл цефепима в смеси диметилсульфоксид–вода (1:1). График имеет линейный вид и описывается уравнением $D = 0,0483 \times C - 0,0234$, где D — оптическая плотность, C — концентрация цефепима в фотометрируемом растворе, мкг/мл. Результаты, полученные на модельных смесях с известным содержанием определяемого вещества, обрабатывались статистически с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изолирования цефепима из трупной печени различными растворителями представлены в таблице 1.

Лучшие результаты изолирования цефепима из биологического материала получены при использовании таких растворителей, как смесь ацетон–вода (1:1), ацетонитрил–вода (1:1), метанол–вода (4:1) и ДМСО–вода (4:1). При этом большая степень извлечения антибиотика (73,3 %) достигается

Таблица 1. Степень извлечения (*R*, %) цефепима из биологического материала при использовании различных изолирующих агентов

Table 1. Extraction ratio (*R*, %) of cefepime from biological material using different extracting agents

Изолирующий агент Extracting agent	Метрологические характеристики (<i>n</i> = 5, <i>p</i> = 0,95) Metrological characteristics (<i>n</i> = 5, <i>p</i> = 0.95)				
	$\bar{x}$	<i>S</i>	<i>S_x</i>	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$
Ацетон Acetone	70,31	2,75	1,23	3,42	4,87
Метанол Methanol	68,87	2,58	1,16	3,21	4,66
Этанол Ethanol	63,93	3,33	1,49	4,13	6,47
Ацетонитрил Acetonitrile	20,04	0,98	0,44	1,22	6,09
1,4-Диоксан 1,4-dioxane	64,82	3,08	1,38	3,83	5,19
Вода дистиллированная Distilled water	34,84	2,47	1,10	3,07	8,81
8 % раствор уксусной кислоты 8 % acetic acid solution	37,63	3,27	1,46	4,06	10,80
Уксусная кислота Acetic acid	53,82	3,77	1,68	4,68	8,70
Ангидрид уксусной кислоты Acetic anhydride	65,09	6,97	3,12	8,67	13,32
0,1 М раствор натрия гидроксида 0,1 M sodium hydroxide solution	28,23	1,51	0,68	1,88	6,65
Диметилсульфоксид Dimethylsulfoxide	45,78	2,36	1,05	2,93	6,40
Диметилформамид Dimethylformamide	50,84	1,72	0,77	2,14	4,21
Диметилсульфоксид—вода (1:1) Dimethylsulfoxide—water (1:1)	62,43	2,78	1,24	3,45	5,53
Диметилсульфоксид—вода (4:1) Dimethylsulfoxide—water (4:1)	71,16	3,53	1,58	4,39	5,92
Метанол—вода (4:1) Methanol—water (4:1)	72,32	3,52	1,57	4,38	6,05
Ацетонитрил—вода (1:1) Acetonitrile—water (1:1)	72,05	3,14	1,41	3,91	5,43
Ацетон—вода (1:1) Acetone—water (1:1)	73,30	1,84	0,82	1,19	3,12

Примечание. *n* — число определений; *p* — уровень значимости; $\bar{x}$ — среднее значение из пяти определений, %; *S* — стандартное отклонение; *S_x* — стандартное отклонение среднего; $\Delta\bar{x}$ — полуширина доверительного интервала среднего значения; $\bar{\varepsilon}$ — относительная ошибка среднего результата.
Note. *n* — number of determinations; *p* — significance level; $\bar{x}$ — the mean of five determinations, %; *S* — standard deviation; *S_x* — standard deviation of the mean; $\Delta\bar{x}$ — half-width of the confidence interval of the mean; $\bar{\varepsilon}$ — mean percentage error.

при использовании в качестве изолирующего агента смеси ацетон—вода (1:1).
С помощью описанной выше схемы изолирования, очистки и определения цефепима исследовали зависимость степени извлечения рассматриваемого соединения из биологического материала оптимальным изолирующим агентом от кратности настаивания, продолжительности контакта изолирующей

жидкости и биологического объекта, массового соотношения «изолирующий агент — биоматрица» и уровня содержания аналита в биоматериале.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что достаточно полное извлечение цефепима смесью ацетон—вода (1:1) достигается уже при двукратном настаивании в условиях, когда

при каждом настаивании масса изолирующего агента как минимум в два раза превышает массу биологической ткани, а продолжительность отдельного настаивания составляет не менее 30 мин.

Методика отличается простотой выполнения, не требует применения сложной аппаратуры и значительных затрат времени на ее воспроизведение.

Благодарности. Исследование проводилось без спонсорской поддержки. Авторы выражают благодарность директору Курского филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Информационно-ме-

тодический центр по экспертизе, учету и анализу обращения средств медицинского применения» Росздравнадзора М.Ю. Маркелову за техническую помощь.

Acknowledgements. The study was not sponsored or funded by any organisation. The authors are grateful to M.Y. Markelov, Director of the Kursk branch of the Federal State Budgetary Institution «Information and Methodological Center for Expertise, Accounting and Analysis of the Circulation of Medical Products» of Roszdravnadzor for technical assistance.

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. Вакуленко СБ. Механизм действия β -лактамных антибиотиков и устойчивость к ним микроорганизмов. *Антибиотики и медицинская биотехнология*. 1987;(4):294–302. [Vakulenko SB. The mechanism of action of β -lactam antibiotics and the resistance of microorganisms to them. *Antibiotiki i meditsinskaya biotekhnologiya = Antibiotics and Medical Biotechnology*. 1987;(4):294–302 (In Russ.)]
2. Квачахия ЛЛ, Шорманов ВК. Идентификация нифедипина в биологических жидкостях. *Фармация*. 2013;62(8):16–9. [Kvachakhia LL, Shormanov VK. Identification of nifedipine in biological fluids. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2013;62(8):16–9 (In Russ.)]
3. Провоторов ВМ, Иванова ГА. Роль и место эритроцитов в системе направленного транспорта различных фармакологических средств. *Клиническая медицина*. 2009;87(9):4–8. [Provotorov VM, Ivanova GA. The role and position of erythrocytes in the directional transport system of various pharmacological agents. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*. 2009;87(9):4–8 (In Russ.)]
4. Cefepime. Reports of death being investigated. *WHO Pharmaceuticals Newsletter*. 2007;(6).
5. Early Communication about an Ongoing Safety Review Cefepime (marketed as Maxipime). *FDA. Information for Healthcare Professionals*. 2007;(14).
6. Yahav D, Paul M, Fraser A, Sarid N, Leibovici L. Efficacy and safety of cefepime: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(5):338–48. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70109-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70109-3)
7. Кулапина ЕГ, Кулапина ОИ, Каренко ВА. Потенциометрические сенсоры для определения цефепима в водных и биологических средах. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. 2016;16(2):138–43. [Kulapina EG, Kulapina OI, Karenko VA. Potentiometric sensors for determination of cefepime in water and biological environments. *Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya Khimiya. Biologiya. Ekologiya = Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology*. 2016;16(2):138–43 (In Russ.)]
8. Farghaly OA, Abdel Hameed RS, Abu-Nawwas AAH. Analytical application using modern electrochemical techniques. *Int J Electrochem Sci*. 2014;9:3287–318.
9. Farghaly OA, Hazzazi OA, Rabie EM, Khodari M. Determination of some cephalosporins by adsorptive stripping voltammetry. *Int J Electrochem Sci*. 2008;3:1055–64.
10. Roopa KP, Jayanna BK, Padmarajaian N. Spectrophotometric method for the determination of cefepime, cefazolin sodium and cefalothin sodium in pure and pharmaceutical dosage forms by using ninhydrin. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015;7(5):194–9.
11. Malgundkar SS, Mulla S. Validated HPTLC method for simultaneous determination of ceftriaxone sodium and tazobactam sodium in combined dosage form. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2014;9(2):60–5. <https://doi.org/10.9790/3008-09256065>
12. Rind FMA, Laghari MGH, Memon AH, Mughal UR, Almani F, Memon N, et al. Spectrophotometric determination of ceftriaxone using 4-dimethylaminobenzaldehyde. *Pak J Anal Environ Chem*. 2008;9(1):43–8.
13. Безъязычная АА, Шорманов ВК, Сипливая ЛЕ. Сохраняемость некоторых антибактериальных препаратов из группы цефалоспоринов в биологическом материале. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2018;(1):213–8. [Bezzyazhnaya AA, Shormanov VK, Siplivaya LE. Conservation of some antibacterial preparations from the group of cephalosporines in biological material. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2018;(1):213–8 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Безъязычная Антонина Александровна. Antonina A. Bezzyazhnaya. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5838-747X>

Шорманов Владимир Камбулатович, д-р фарм. наук, проф. Vladimir K. Shormanov, Dr. Sci. (Pharm.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8872-0691>

Сипливая Любовь Евгеньевна, д-р биол. наук, проф. Lyubov E. Siplivaya, Dr. Sci. (Biol.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0195-8950>

Статья поступила 22.03.2019

После доработки 26.06.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 22 March 2019

Revised 26 June 2019

Accepted for publication 16 August 2019

Применение метода ВЭЖХ для экспертизы и стандартизации лекарственного растительного сырья «Боярышника цветки»

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

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. В рамках гармонизации отечественных и зарубежных подходов и требований к обеспечению качества лекарственных препаратов является актуальным пересмотр внесенных в нормативные и руководящие документы методик контроля качества лекарственных средств. В фармакопейную статью ФС.2.5.0062.18 «Боярышника цветки» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания включена методика количественного определения флавоноидов хроматоспектрофотометрическим методом. Данная методика не отвечает современным возможностям науки, имеет ряд недостатков, поэтому возникла необходимость пересмотра существующей методики и разработки нового подхода к стандартизации лекарственного растительного сырья «Боярышника цветки». **Цель работы:** разработка методики для стандартизации и экспертизы лекарственного растительного сырья «Боярышника цветки» с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). **Материалы и методы:** объектами исследования служили образцы цветков боярышника отечественных производителей. В качестве стандартных образцов использовали кверцетин (USP RS) и гиперозид (HWI, первичный стандарт). Исследование проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Infinity II 1260 DAD (Agilent), регистрацию УФ-спектров — на спектрофотометре Cary 100 Varian. Для получения цифровых снимков пластин тонкослойной хроматографии использовали TLC Visualizer (CAMAG). **Результаты:** разработана методика количественной оценки суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид методом ВЭЖХ в цветках боярышника. Разработанная методика позволяет получать достоверные и воспроизводимые результаты, является высокочувствительной и селективной. На основе полученных результатов количественной оценки суммы флавоноидов боярышника цветков предложены нормы содержания суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид — «не менее 0,5 %». **Выводы:** разработанная методика количественного определения действующих веществ препарата «Боярышника цветки» методом ВЭЖХ может быть рекомендована для включения в раздел «Количественное определение» фармакопейной статьи «Боярышника цветки» Государственной фармакопеи Российской Федерации. **Ключевые слова:** лекарственное растительное сырье; боярышника цветки; флавоноиды; гиперозид; кверцетин; ВЭЖХ; фармакопейные методы анализа; стандартизация; количественное определение

Для цитирования: Антонова НП, Шефер ЕП, Семенова НЕ, Калинин АМ, Прохвятилова СС, Моргунов ИМ. Применение метода ВЭЖХ для экспертизы и стандартизации лекарственного растительного сырья — боярышника цветки. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):177–183. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-177-183>

Контактное лицо: Шефер Елена Павловна; shefer@expmed.ru

Application of HPLC for Evaluation and Standardisation of Hawthorn Flower Herbal Substance

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

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

Abstract. The process of harmonisation of Russian and foreign approaches and requirements in the field of medicines quality assurance calls for revision of quality control procedures included in various regulations and guidelines. The monograph FS.2.5.0062.18 «Hawthorn flowers» of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition includes a test procedure for determination of flavonoids by a chromatospetrophotometric method. This procedure does not take into account current scientific capabilities and has a number of shortcomings, therefore it was necessary to revise the existing test procedure and develop a new approach to the standardisation of the hawthorn flower herbal substance. **The objective of the study** was to develop an assay method for standardisation and evaluation of hawthorn flower using high performance liquid chromatography (HPLC). **Materials and methods:** the study was performed using samples of hawthorn flowers by Russian manufacturers. Quercetin (USP RS) and Hyperoside (HWI, primary standard) were used as the reference standards. The HPLC analysis was performed using an Infinity II 1260 DAD LC system (Agilent), and the UV spectra were recorded on a Cary 100 Varian spectrophotometer. A TLC Visualizer (CAMAG) was used to obtain digital images of thin layer chromatography plates. **Results:** the authors developed an HPLC test procedure for quantitative determination of total flavonoids, expressed as hyperoside, in hawthorn flowers. The developed procedure gives reliable and reproducible results and is characterised by high sensitivity and selectivity. The results of quantitative determination of the total flavonoid content in hawthorn flowers were used to propose the standard for the total content of

flavonoids, expressed as hyperoside, of «not less than 0.5 %». **Conclusions:** the developed assay method for determination of active pharmaceutical ingredients in hawthorn flower products by HPLC can be recommended for inclusion into the Assay part of the «Hawthorn Flowers» monograph of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Key words: herbal substance; hawthorn flower; flavonoids; hyperoside; quercetin; HPLC; pharmacopoeial test methods; standardisation; assay

For citation: Antonova NP, Shefer EP, Semenova NE, Kalinin AM, Prokhvatilova SS, Morgunov IM. Application of HPLC for evaluation and standardization of hawthorn flower herbal substance. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):177–183. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-177-183>

*Corresponding author: Elena P. Shefer; shefer@expmed.ru

В настоящее время актуальным вопросом является обоснование и использование современных подходов к стандартизации фармакопейных видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) и лекарственных препаратов на их основе (ЛРП) [1, 2]. Во многих случаях методики анализа являются устаревшими и не предусматривают использование современных инструментальных методов. Так, в ряде фармакопейных статей на ЛРС, содержащее флавоноиды, для оценки подлинности используются лишь общегрупповые качественные реакции, а раздел «Количественное определение» отсутствует или включает неспецифическую типовую методику, которая применяется для различных видов сырья, содержащих флавоноиды.

Лекарственное растительное сырье, содержащее флавоноиды, считается одним из перспективных источников фитопрепаратов, что привлекает к нему внимание исследователей в области фармации [3, 4]. Одной из таких групп препаратов являются препараты на основе боярышника.

Фармакологическая активность препаратов боярышника обусловлена комплексом биологически активных веществ: флавоноидов (гиперозид, кверцетин, витексин и др.), тритерпеновых соединений и антоцианов, дубильных веществ, витаминов, сахаров [5, 6]. Большинство исследователей сходятся во мнении, что кардиотонический, антигипертензивный и антиаритмический эффекты препаратов боярышника определяются полифенольными соединениями, в частности флавоноидами. Также флавоноиды определяют антиоксидантные, ангиопротекторные, гепатопротекторные, желчегонные, нейротропные и другие важнейшие фармакологические свойства препаратов [7–9].

К фармакопейным видам боярышника относятся: Боярышник кроваво-красный, Боярышник сглаженный (колючий), Боярышник даурский, Боярышник отогнуточашелистиковый и другие виды боярышников семейства Розоцветных. В качестве сырья используют собранные в начале цветения и высушенные соцветия дикорастущих и культиви-

руемых кустарников или небольших деревьев, а также собранные в фазу полного созревания высушенные плоды¹. Согласно данным литературы, цветки и плоды различных видов боярышника отличаются по содержанию суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид. Доминирующим флавоноидом цветков боярышника является гиперозид, в то время как листьев и плодов боярышника — витексин [10]. Содержание суммы флавоноидов в плодах значительно ниже, чем в цветках (~0,2 и ~2,4 % соответственно). Это позволяет считать именно цветки боярышника актуальным лекарственным растительным сырьем [11, 12].

Монографии на ЛРС боярышника включены в Государственные фармакопеи (далее ГФ СССР и ГФ РФ) XI² и XIV³ изданий, а также в зарубежные фармакопеи: Европейскую (Ph. Eur.), Фармакопею США (USP), Республики Беларусь (ГФ РБ).

В ГФ СССР XI изд., ГФ РФ XIV изд. и ГФ РБ⁴ описаны «Боярышника цветки». Для качественной и количественной оценки содержания флавоноидов в препаратах боярышника используется сочетание методов тонкослойной хроматографии со спектрофотометрией. Содержание гиперозида рассчитывается по сравнению со стандартным образцом гиперозида и должно составлять не менее 0,5 %.

Согласно Европейской фармакопее⁵, для препаратов боярышника («Боярышника листья и цветки цельные и измельченные») количественное определение также проводится методом спектрофотометрии с использованием удельного показателя поглощения стандартного образца гиперозида.

По Фармакопее США⁶ лекарственным растительным сырьем боярышника являются не только цветки, а смесь цветков с листьями, которые стандартизуют по содержанию С-гликозилированных флавонов в пересчете на витексин (не менее 0,6 %) и О-гликозилированных флавонов в пересчете на гиперозид (не менее 0,45 %). Определение проводят методом высокоскоростной жидкостной

¹ Государственная фармакопея СССР. XI изд. М.: Медицина; 1990.

² Там же.

³ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

⁴ Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2. Минск; 2008.

⁵ Hawthorn leaf and flower. Monograph (ref.: 01/2010:1432). European Pharmacopoeia. 9th ed.

⁶ Hawthorn leaf with flower. Monograph. United States Pharmacopoeia. 41th ed.

хроматографии (ВЭЖХ) с использованием в качестве стандартных образцов витексина и кверцетина соответственно (табл. 1). Содержание О-гликозилированных флавонов определяют после кислотного гидролиза с последующим расчетом по кверцетину и пересчетом на гиперозид.

В отечественных исследованиях А.В. Куркиной в методиках оценки подлинности и количественного определения флавонолов в ЛРС и ЛРП боярышника (цветки и плоды) обосновано использование стандартных образцов гиперозида и рутина [13, 14]. Возможность качественного и количественного определения флавоноидов в лекарственном растительном сырье и препаратах боярышника методом ВЭЖХ была показана рядом исследователей, однако данные методики не нашли отражения в действующей нормативной документации [15, 16].

В ФС.2.5.0062.18 «Боярышника цветки» ГФ РФ XIV изд. включена методика количественного определения гиперозида методом спектрофотометрии после разделения флавоноидов методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Данная методика не от-

вечает современным возможностям науки и имеет ряд недостатков:

- трудоемкая и многостадийная пробоподготовка;

- отсутствует четкое разделение зон флавоноидов на хроматограмме испытуемого раствора, на хроматограмме стандартного образца зона гиперозида широкая и имеет «шлейф», что затрудняет выбор области для вырезания и дальнейшую количественную оценку и может завышать результат определения;

- рекомендованный методикой для регистрации оптической плотности максимум поглощения при длине волны 365 нм не совпадает с максимумом поглощения испытуемого и стандартного растворов (358 нм);

- не представляется возможным проводить испытания качества с учетом параллельных определений на одной хроматографической пластинке, что увеличивает ошибку единичного определения: размер ТСХ-пластинки (15×15 см) не позволяет нанести испытуемый и стандартный растворы полосой

Таблица 1. Сравнительная таблица методов количественного определения препаратов боярышника в ведущих фармакопеях мира

Table 1. The comparison of assay methods used for hawthorn products testing as described in the leading world pharmacopoeias

Фармакопея Pharmacopoeia	Монография Monograph	Метод количественного определения Assay method	Действующее вещество Active ingredient	Норма Acceptance criteria
Государственная фармакопея СССР XI изд. State Pharmacopoeia of the Union of Soviet Socialist Republics, XI ed.	Боярышника цветки Hawthorn Flower	Тонкослойная хроматография и спектрофотометрия Thin-layer chromatography and spectrophotometry	Гиперозид Hyperoside	Не менее 0,5 % Not less than 0.5 %
Государственная фармакопея Российской Федерации XIII изд. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII ed.	Боярышника цветки Hawthorn Flower	Фармакопейная статья не включена There is no monograph		
Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed.	Боярышника цветки Hawthorn Flower	Тонкослойная хроматография и спектрофотометрия Thin-layer chromatography and spectrophotometry	Гиперозид Hyperoside	Не менее 0,5 % Not less than 0.5 %
Государственная фармакопея Республики Беларусь State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus	Боярышника цветки Hawthorn Flower	Тонкослойная хроматография и спектрофотометрия Thin-layer chromatography and spectrophotometry	Гиперозид Hyperoside	Не менее 0,5 % Not less than 0.5 %
Европейская фармакопея European Pharmacopoeia	Боярышника листья и цветки Hawthorn Leaf and Flower	Спектрофотометрия Spectrophotometry	Сумма флавоноидов в пересчете на гиперозид Total flavonoids, expressed as hyperoside (dried drug)	Не менее 1,5 % Minimum 1.5 %
Фармакопея США United States Pharmacopoeia	Боярышника листья с цветками Hawthorn Leaf with Flower	Высокоэффективная жидкостная хроматография High-performance liquid chromatography	С-гликозилированные флавоны в пересчете на витексин C-glycosylated flavones, expressed as vitexin, calculated on the dried basis	Не менее 0,6 % Not less than 0.6 %
		Высокоэффективная жидкостная хроматография High-performance liquid chromatography	О-гликозилированные флавоны в пересчете на гиперозид O-glycosylated flavones, expressed as hyperoside, calculated on the dried basis	Не менее 0,45 % Not less than 0.45 %

5 см в трех параллелях на расстоянии 1,5 см от края в соответствии с методикой испытания.

В мировой практике для стандартизации лекарственных средств все чаще используется метод ВЭЖХ как более точный и селективный. В этой связи появилась необходимость пересмотра существующих и разработки новых подходов к стандартизации и контролю качества ЛРС «Боярышника цветки».

Цель работы — разработка методики количественного определения флавоноидов лекарственного растительного сырья «Боярышника цветки» методом ВЭЖХ для дальнейшей рекомендации включения ее в Государственную фармакопею Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы цветков боярышника отечественных производителей. Исследование осуществляли двумя методами: ВЭЖХ с УФ-детектированием на жидкостном хроматографе Infinity II 1260 DAD (Agilent) и спектрофотометрией с регистрацией УФ-спектров на спектрофотометре Cary 100 Varian. Для получения цифровых снимков пластин тонкослойной хроматографии использовали TLC Visualizer (CAMAG). Экстракцию флавоноидов проводили на аппарате Сокслета. В качестве стандартных образцов использовали кверцетин (USP RS) и гиперозид (HWI, первичный стандарт).

Статистическую обработку экспериментальных данных исследований (доверительная вероятность $P = 95\%$) проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0013.15 ГФ РФ XIV изд. с помощью валидированных программ статистической обработки экспериментальных данных (Microsoft Excel) с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки единичного определения. Валидация предложенной методики выполнена согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15 ГФ РФ XIV изд.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования был проведен сравнительный анализ количественного определения суммы флавоноидов методом ВЭЖХ и методом спектрофотометрии в сочетании с ТСХ-разделением.

Исследования методом спектрофотометрии в сочетании с ТСХ-разделением проводили в соответствии с методикой, включенной в ГФ СССР XI изд. (рис. 1, 2). Определенное по вышеуказанной методике содержание гиперозида составило 1,6 %; относительное стандартное отклонение (RSD) — 2,3 %.

Во второй части исследования была проведена работа по разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в цветках боярышника методом

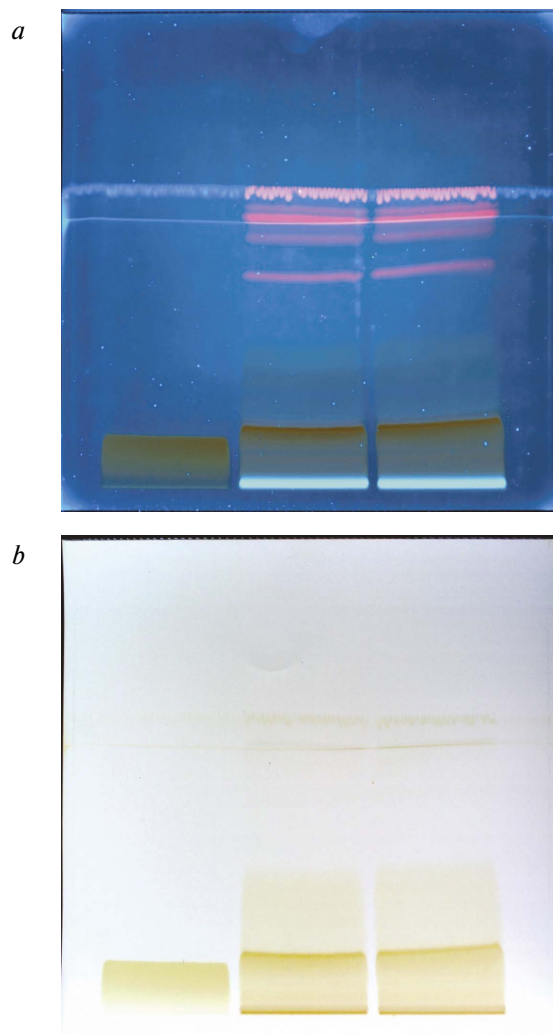


Рис. 1. Хроматограмма испытуемого раствора цветков боярышника и стандартного образца гиперозида при просмотре в УФ-свете (длина волны 360 нм) (а) и в видимом свете (б)

Fig. 1. The TLC chromatogram of the hawthorn flower test solution and the hyperoside reference standard viewed under UV light (at 360 nm) (a) and in visible light (b)

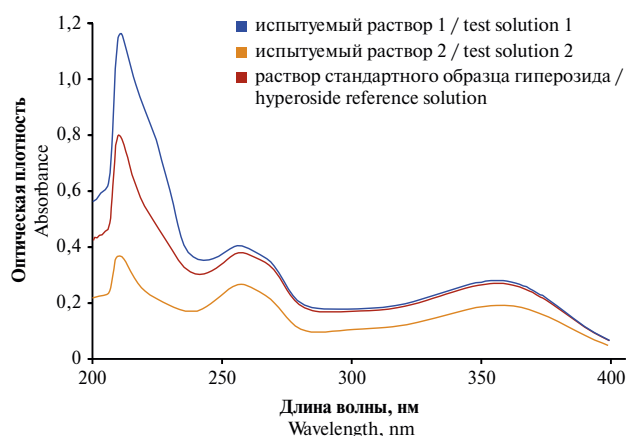


Рис. 2. УФ-спектр испытуемого раствора цветков боярышника и стандартного образца гиперозида

Fig. 2. The UV spectrum of the hawthorn flower test solution and the hyperoside reference standard

ВЭЖХ с использованием описанных в монографии «Боярышника листья с цветками» Фармакопеи США подходов, применяемых для определения О-гликозилированных флавонов⁷.

Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Около 4 г (точная навеска) измельченного сырья переносили в аппарат Сокслета, соединенный с колбой, содержащей 80 мл метанола, экстрагировали флавоноиды из испытуемого образца в течение 5 ч. Экстракт охлаждали и упаривали под вакуумом до объема 40 мл. Упаренный экстракт переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили метанолом до метки. 10 мл полученного раствора переносили в колбу с обратным холодильником, добавляли 1 мл 25 % HCl и нагревали на водяной бане при температуре 65 °С в течение 60 мин. Содержимое колбы охлаждали, переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили метанолом до метки и перемешивали.

Хроматографирование проводили на обращеннофазовой колонке Gemini C18, размер колонки 250×4,6 мм, размер частиц 5 мкм. Детектирование осуществляли с помощью спектрофотометрического детектора при длине волны 370 нм. Скорость потока составляла 1,5 мл/мин, температура колонки 25 °С, объем вводимой пробы — 10 мкл. Подвижная фаза состояла из смеси метанола, воды и кислоты фосфорной в объемном соотношении 100:100:1.

Использовали метод внешнего стандарта. Время удерживания пика кверцетина в описанных условиях составляло около 10 мин. Расчет проводили по агликону флавоноидов (кверцетину), образовавшемуся после кислотного гидролиза (типичная хроматограмма испытуемого раствора представлена на рисунке 3). В качестве стандартного раствора использовали 0,005 % раствор кверцетина в метаноле. В формуле расчета учитывали коэффициент для пересчета кверцетина на гиперозид, равный

отношению молекулярных масс гиперозида и кверцетина (1,536).

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 50 \cdot 1,536 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot m \cdot 100 \cdot 10 \cdot 100 \cdot (100 - w)}, \quad (1)$$

где X — содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в сырье, %; S_0 — площадь пика кверцетина на хроматограмме раствора стандартного образца; S — площадь пика кверцетина на хроматограмме испытуемого раствора; a_0 — навеска стандартного образца кверцетина, г; m — навеска сырья, г; w — влажность сырья, %.

Была проведена оценка пригодности хроматографической системы по хроматограмме стандартного образца по следующим параметрам:

- значение асимметрии пика кверцетина — 0,95;
- эффективность колонки по пику кверцетина — 4670 теоретических тарелок;
- относительное стандартное отклонение площади пика кверцетина для 6 определений — 0,2 %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид составило 0,53 % ($RSD = 0,23$ %).

В рамках валидационных исследований была проведена оценка линейности методом добавок. Испытания проводили в условиях повторяемости для следующих уровней диапазона методики: 80, 100, 120, 140 и 160 % от нормируемого нижнего значения. Был приготовлен стандартный раствор кверцетина в концентрации 0,5 %. Модельные смеси готовили из испытуемого раствора с добавлением 5 % раствора кверцетина (табл. 2).

Условия регистрации хроматограмм приведены выше. Полученные данные статистически обрабатывали и строили график зависимости аналитического сигнала от концентрации определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики. Зависимость содержания действующих веществ в испытуемом образце (мг/мл) от площади пика кверцетина описывается уравне-

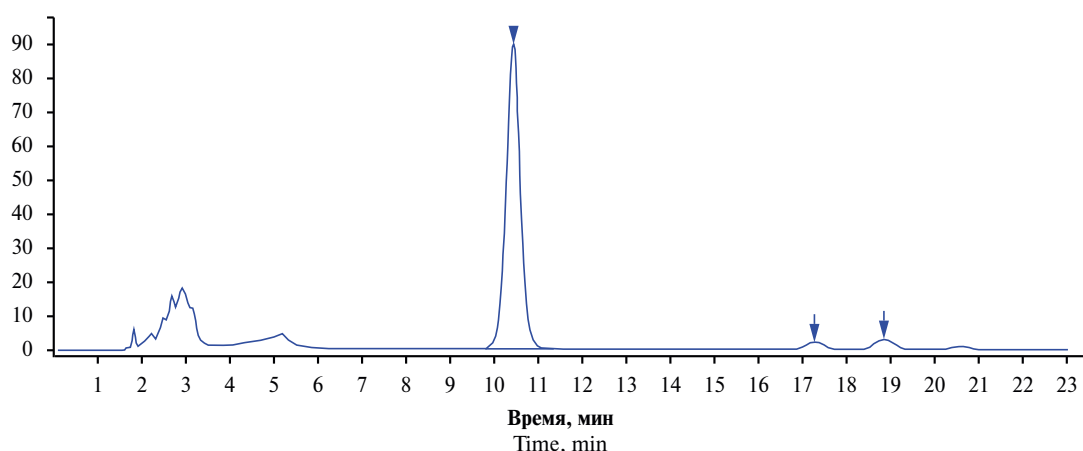


Рис. 3. Типичная хроматограмма испытуемого раствора препарата

Fig 3. A typical chromatogram of a test solution

⁷ Hawthorn leaf with flower. Monograph. United States Pharmacopeia. 41th ed.

Таблица 2. Результаты оценки правильности определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид методом ВЭЖХ**Table 2.** The assessment of the trueness of determination of total flavonoids, expressed as hyperoside, by HPLC

Уровень диапазона методики от номинала, % Method range, percent of the nominal value, %	Количество кверцетина в испытуемом растворе, мг/мл Amount of quercetin in the test solution, mg/mL	Аликвота стандартного раствора кверцетина, мл Aliquot of the quercetin reference solution, mL	Теоретическое содержание кверцетина в испытуемом растворе (с добавкой), мг/мл Predicted content of quercetin in the test solution (standard addition method), mg/mL	Площадь пика кверцетина на хроматограмме испытуемого раствора Area of the peak due to quercetin in the chromatogram obtained with the test solution	Найдено, мг/мл Results, mg/mL	Правильность, % Trueness, %
80	0,212	2,5	0,337	1065	0,338	100,14
				1062	0,337	
100		4,2	0,422	1339	0,425	100,82
				1336	0,424	
120		5,9	0,507	1604	0,506	99,70
				1607	0,505	
140		7,6	0,592	1872	0,594	100,50
				1878	0,596	
160		9,3	0,677	2137	0,685	101,03
				2127	0,683	

нием $y = 3092 \times x + 26,933$. Квадрат коэффициента корреляции (r^2) составил 0,9994 (критерий линейности $\geq 0,995$), что подтверждает линейность в рассматриваемом диапазоне.

Для оценки правильности определяли степень соответствия между известным истинным значением и значением, полученным по данной методике. Правильность методики оценивали величиной отношения найденного количества кверцетина к количеству кверцетина в модельной смеси с добавкой (табл. 2). Правильность составила 99,7–101,0 %, что не выходит за пределы допустимого диапазона (критерий приемлемости 97–103 %).

В ходе проведения валидации методики получены результаты, соответствующие критериям приемлемости. Разработанная методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в боярышника цветках позволяет получать достоверные, воспроизводимые результаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, с целью гармонизации подходов к стандартизации лекарственного растительного

сырья «Боярышника цветки» разработана ВЭЖХ-методика количественной оценки суммы флавоноидов боярышника цветков, предложены нормы содержания суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид — «не менее 0,5 %». Разработанная методика может быть рекомендована для включения в раздел «Количественное определение» фармакопейной статьи «Боярышника цветки» Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 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

- Саканян ЕИ, Ковалева ЕЛ, Фролова ЛН, Шелестова ВВ. Современные требования к качеству лекарственных средств растительного происхождения. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(3):170–8. [Sakanyan EI, Kovaleva EL, Frolova LN, Shelestova VV. Current requirements for the quality of herbal medicinal products. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(3):170–8 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178>
- Куркина АВ. Актуальные вопросы химической стандартизации лекарственных растений, содержащих флавоноиды. *Фармация*. 2012;(7):44–8. [Kurkina AV. Chemical standardization of medicinal plants containing flavonoids: topical issues. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2012;(7):44–8 (In Russ.)]
- Куркин ВА, Авдеева ЕВ, Куркина АВ, Правдивцева ОЕ, Браславский ВБ, Егоров МВ, Рыжов ВМ. Фенольные соединения как критерий подлинности и качества лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов. *Традиционная медицина*. 2014;(4):39–42а. [Kurkin VA, Avdeeva EV, Kurkina AV, Pravdivtseva OE, Braslavsky VB, Egorov MV, Ryzhov VM. The phenolic compounds as the criteria of identity and quality of the herbal drugs and phytopharmaceuticals. *Traditsionnaya meditsina = Traditional Medicine*. 2014;(4):39–42а (In Russ.)]

4. Куркин ВА, Куркина АВ, Авдеева ЕВ. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений. *Фундаментальные исследования*. 2013;(11):1897–901. [Kurkin VA, Kurkina AV, Avdeeva EV. The flavonoids as biologically active compounds of medical plants. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*. 2013;(11):1897–901 (In Russ.)]
5. Куркина АВ. Определение содержания суммы флавоноидов в плодах боярышника. *Химико-фармацевтический журнал*. 2014;48(12):27–30. [Kurkina AV. Determination of total flavonoids in hawthorn fruits. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2014;48(12):27–30 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2014-48-12-27-30>
6. Куркин ВА, Правдивцева ОЕ, Морозова ТВ, Жавкина ТМ, Розно СА, Рузаева ИВ, Помогайбин АВ. Содержание суммы флавоноидов в цветках и плодах различных видов рода боярышник. В кн.: *Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы. II Межвузовская научно-практическая конференция (7 октября 2017 г.). Сборник материалов*. Самара: Самарский государственный медицинский университет Минздрава России; 2017. С. 52–6. [Kurkin VA, Pravdivtseva OE, Morozova TV, Zhavkina TM, Rozno SA, Ruzaeva IV, Pomogaybin AV. The content of total flavonoids in flowers and fruits of different species of the hawthorn genus. In: *Pharmaceutical botany: present state and future prospects. II Interuniversity scientific and practical conference (7 October 2017). Materials*. Samara: Samara State Medical University; 2017. P. 52–6 (In Russ.)]
7. Ляхова НС, Арлт АВ, Ивашев МН. Влияние фракций из плодов боярышника на мозговой кровоток. В кн.: *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Сборник научных трудов*. Пятигорск: Пятигорская государственная фармацевтическая академия; 2005. С. 378–9. [Lyakhova NS, Arlt AV, Ivashchev MN. The effect of fractions from hawthorn fruit on cerebral blood flow. In: *Development, research and marketing of new pharmaceutical products. Collection of scientific papers*. Pyatigorsk: Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy; 2005. P. 378–9 (In Russ.)]
8. Самылина ИА, Сорокина АА, Пятигорская НВ. Боярышник (*Crataegus*): возможности медицинского применения. *Фарматека*. 2010;(8):83–5. [Samylyina IA, Sorokina AA, Pyatigorskaya NV. Hawthorn (*Crataegus*): options for medical use. *Farmateka = Pharmateca*. 2010;(8):83–5 (In Russ.)]
9. Кожанова КК, Лесова ЗТ, Мухтарова А, Багдат А. Боярышник — состав, лечебные свойства и применение (обзор). *Интернаука*. 2018;(21-1):25–7. [Kozhanova KK, Lesova ZT, Mukhtarova A, Bagdat A. Hawthorn — composition, medicinal properties and application (review). *Internauka = Interscience*. 2018;(21-1):25–7 (In Russ.)]
10. Морозова ТВ, Куркин ВА, Правдивцева ОЕ. Актуальные проблемы химической стандартизации сырья лекарственных растений рода боярышник (*Crataegus* L.). *Фармация и фармакология*. 2018;6(2):104–20. [Morozova TV, Kurkin VA, Pravdivtseva OE. Actual problems of raw materials chemical standardization of medicinal plants of the genus hawthorn (*Crataegus* L.). *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy and Pharmacology*. 2018;6(2):104–20 (In Russ.)]
11. Куркина АВ. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды. *Бюллетень сибирской медицины*. 2011;10(5):150–4. [Kurkina AV. Actual aspects of standardization of medicinal vegetative raw materials containing flavonoids. *Bulleten sibirskoy meditsiny = The Bulletin of Siberian Medicine*. 2011;10(5):150–4 (In Russ.)]
12. Куркина АВ. Современная стандартизация как методологическая основа рационального использования ресурсов лекарственных растений, содержащих флавоноиды. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2012;14(1-9):2253–6. [Kurkina AV. Modern standardization as the methodological basis of rational use the medical plants, containing flavonoids. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2012;14(1-9):2253–6 (In Russ.)]
13. Куркина АВ. Новые подходы к стандартизации цветков боярышника. *Химия растительного сырья*. 2013;(2):171–6. [Kurkina AV. The new approaches to the standardization of *Crataegus* flowers. *Khimiya rastitel'nogo syriya = Chemistry of Plant Raw Materials*. 2013;(2):171–6 (In Russ.)]
14. Родионова ТВ, Хишова ОМ. Стандартизация листьев боярышника. *Вестник фармации*. 2008;(2):70–9. [Rodionova TV, Khishova OM. Standardization of hawthorn leaves. *Vestnik farmatsii = The Bulletin of Pharmacy*. 2008;(2):70–9 (In Russ.)]
15. Сагарадзе ВА, Бабаева ЕЮ, Каленикова ЕИ. Определение флавоноидов в цветках с листьями боярышника методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием. *Химико-фармацевтический журнал*. 2017;51(4):30–3. [Sagaradze VA, Babaeva EYu, Kalenikova EI. HPLC-UV method for determining flavonoids in hawthorn flowers and leaves. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017;51(4):30–3 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2017-51-4-30-33>
16. Салахов ИА, Гармонов СЮ. Определение флавоноидов боярышника в лекарственных формах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Вестник Казанского технологического университета* 2017;(6):22–7. [Salakhov IA, Garmonov SYu. Determination of hawthorn flavonoids in medicinal forms by high-performance liquid chromatography. *Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta = The Bulletin of Kazan Technological University*. 2017;(6):22–7 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Антонова Наталья Петровна, канд. биол. наук. *Natalia P. Antonova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-7818-5303>

Шефер Елена Павловна, канд. фарм. наук. *Elena P. Shefer*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8389-4799>

Семенова Наталья Евгеньевна. *Natalia E. Semenova*. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6787-0647>

Прохвятилова Светлана Степановна, канд. фарм. наук. *Svetlana S. Prokhvatilova*, Cand. Sci. (Pharm.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3278-1994>

Калинин Артем Михайлович. *Artem M. Kalinin*. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4980-3248>

Моргунов Игорь Михайлович. *Igor M. Morgunov*. **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3907-3456>

Статья поступила 17.01.2019

После доработки 27.05.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 17 January 2019

Revised 27 May 2019

Accepted for publication 16 August 2019

Оценка биоэквивалентности воспроизведенных препаратов иматиниба и такролимуса на основе косвенного сравнения результатов изучения их биоэквивалентности

Д. В. Горячев, Н. Е. Уварова*

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. В научной литературе широко обсуждается концепция воспроизведенных препаратов, положительной стороной которой является высокая доступность препарата в практической медицине из-за возможности существенного снижения затрат разработчика. В большинстве случаев для воспроизведенных пероральных препаратов основным условием для признания эффективности и безопасности является приемлемый результат оценки фармакокинетической биоэквивалентности референтному препарату. При этом не проводится прямого сравнения воспроизведенных препаратов между собой, таким образом возникает вопрос об обоснованности заключения о взаимозаменяемости воспроизведенных препаратов. **Цель работы:** оценка результатов косвенного сравнения воспроизведенных препаратов друг с другом по отношению AUC_{0-t} и C_{max} на основании исследований биоэквивалентности в сравнении с референтным препаратом. **Материалы и методы:** проводилось косвенное сравнение результатов исследований биоэквивалентности воспроизведенных препаратов с одним активным компонентом. Материалом для проведения анализа стали отчеты по изучению биоэквивалентности препаратов иматиниба и такролимуса в рамках оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения за последние семь лет. **Результаты:** результаты косвенной оценки 90 % доверительных интервалов отношений средних геометрических препаратов иматиниба свидетельствуют о том, что в 46,7 % случаев интервалы выходят за общепринятые границы (80–125 %) как минимум по одному из оцениваемых показателей. У препаратов такролимуса ни в одном случае интервалы не выходили за общепринятые границы (80–125 %) для отношения AUC_{0-t} , для отношения C_{max} несоответствие обнаружено в 10 % случаев. Однако при оценке соответствия отношения AUC_{0-t} более узким границам 90–111 %, не соответствовали рекомендуемым нормам 90 % пар сравнений. **Выводы:** результат, свидетельствующий о биоэквивалентности двух воспроизведенных препаратов референтному в рамках допустимых границ, с научной точки зрения не может являться достаточным основанием для признания клинической эквивалентности этих воспроизведенных препаратов друг другу.

Ключевые слова: биоэквивалентность; воспроизведенные препараты; косвенное сравнение; иматиниб; такролимус

Для цитирования: Горячев ДВ, Уварова НЕ. Оценка биоэквивалентности воспроизведенных препаратов иматиниба и такролимуса на основе косвенного сравнения результатов изучения их биоэквивалентности. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):184–190. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-184-190>
*Контактное лицо: Уварова Наталья Евгеньевна; uvarova@expmed.ru

Evaluation of Bioequivalence of Generic Imatinib Products and Generic Tacrolimus Products Based on Indirect Comparison of the Results of Their Bioequivalence Studies

D. V. Goryachev, N. E. Uvarova*

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

Abstract. Generic drugs are widely discussed in the scientific literature. Their key advantage is high availability in the medical practice due to the possibility of a significant reduction in developer costs. In most cases the efficacy and safety of generic oral drugs are confirmed based on the acceptable results of pharmacokinetic evaluation of their bioequivalence with the reference drug. However, generic drugs are not directly compared with one another, and this calls into question the validity of the conclusion about the interchangeability of the generic drugs. **The aim of this study** was to evaluate the results of indirect comparison of generic drugs by the ratios of their AUC_{0-t} and C_{max} based on the information obtained in bioequivalence studies involving the reference drug. **Materials and methods:** the authors performed an indirect comparison of the results of bioequivalence studies of generic drugs containing one active pharmaceutical ingredient. The analysis was based on bioequivalence study reports over the last 7 years dealing with risk/benefit assessment of imatinib and tacrolimus products. **Results:** the results of indirect assessment of 90 % confidence intervals of the ratios of imatinib products' geometric means show that in 46.7 % of cases the intervals fall outside the generally accepted limits (80–125 %) for at least one of the estimated parameters. As for tacrolimus products, the intervals did not go beyond the generally accepted limits (80–125 %) for the AUC_{0-t} ratio, but a discrepancy was found in 10 % of cases for the C_{max} ratio. However, when narrower limits of 90–111 % were used to assess the AUC_{0-t} ratio, 90 % of the compared pairs did not meet the recommended standards. **Conclusions:** conclusions on the acceptable degree of bioequivalence of two generic drugs to the reference product cannot constitute a scientifically sufficient reason for regarding these generic drugs as clinically equivalent. **Key words:** bioequivalence; generic drugs; indirect comparison; imatinib; tacrolimus

For citation: Goryachev DV, Uvarova NE. Evaluation of bioequivalence of generic imatinib and tacrolimus products based on indirect comparison of the results of their bioequivalence studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):184–190. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-184-190>

*Corresponding author: Natalia E. Uvarova; uvarova@expmed.ru

Концепция воспроизведенных препаратов широко обсуждается в научной литературе и во всем мире становится предметом активного внимания государственных структур, регулирующих обращение лекарственных средств. Положительные стороны создания воспроизведенного препарата, в идеале повторяющего все фармакологические свойства подробно изученного оригинального препарата, хорошо известны. Прежде всего это увеличение доступности препарата для пациента из-за существенного снижения затрат производителя при отсутствии необходимости подробного изучения свойств активного вещества, так как доклинические и клинические исследования уже выполнены разработчиком оригинального препарата.

В большинстве случаев для воспроизведенных пероральных препаратов основным условием для признания эффективности и безопасности является приемлемый результат оценки фармакокинетической биоэквивалентности референтному препарату. Вне зависимости от интерпретации термина «референтный препарат» очевидно, что сравнение воспроизведенных препаратов должно проводиться по возможности с одним и тем же препаратом с целью минимизировать отклонения препаратов друг от друга. Общепринятым принципом оценки соответствия воспроизведенного препарата оригинальному препарату является необходимость сравнения их фармакокинетических характеристик, ведь именно эквивалентная концентрация активного вещества в системном кровотоке определяет эквивалентный эффект. Концентрация активного вещества как наиболее чувствительный показатель является основным признаком возможности признания препаратов терапевтически эквивалентными.

Признание соответствия препарату сравнения для воспроизведенного препарата в пероральной лекарственной форме, активное вещество которой должно перейти в водный раствор в среде желудочно-кишечного тракта, основано на доказательстве соответствия стандартным границам 80–125 % для отношений площадей под кривой концентрация–время (AUC) и максимальных концентраций (C_{max}). Этот принцип разделяется большинством регуляторных органов во всем мире. Расширение границ признания эквивалентности возможно для высоковариабельных препаратов, а сужение до 90–111 % — для препаратов с узким терапевтическим диапазоном¹. Данное условие для признания эквивалентной терапевтической активности является основой для возможности признания препаратов взаимозаменяемыми².

Сравнение в исследованиях биоэквивалентности проводится со стандартным референтным (оригинальным) препаратом. Таким образом, прямого сравнения воспроизведенных препаратов друг с другом не проводится, и вопрос об обоснованности заключения о взаимозаменяемости двух воспроизведенных препаратов между собой возникает весьма закономерно. Очевидна возможность так называемого «дрифта» — ухода оцениваемых показателей фармакокинетики от границ признания биоэквивалентности при сравнении воспроизведенных препаратов друг с другом, в то время как они оба биоэквивалентны референтному (оригинальному) препарату [1].

Если речь идет о препаратах симптоматической терапии (анальгетики, антигипертензивные), то возможность изменения принимаемой дозы, мониторингирование результата терапии по четким признакам эффективности, короткий курс приема могут в определенной степени компенсировать «неполную фармакокинетическую эквивалентность» воспроизведенных препаратов по отношению друг к другу. Однако если это антибактериальные препараты, препараты, предназначенные для химиотерапии, иммуносупрессанты, применяемые после пересадки органов, препараты, влияющие на метаболизм при длительном применении, то вопрос об их сходстве, при переходе с одного воспроизведенного препарата на другой, становится серьезной проблемой, ведущей к изменению профиля эффективности и безопасности.

Цель работы — оценка результатов косвенного сравнения воспроизведенных препаратов между собой по отношениям AUC_{0-t} и C_{max} на основании исследований биоэквивалентности в сравнении с референтным (оригинальным) препаратом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для проведения анализа стали отчеты по изучению биоэквивалентности препаратов двух фармакологических групп, поступавшие в рамках оценки отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения на протяжении последних семи лет.

Отчеты получали цифровую кодировку с целью сохранения конфиденциальности информации.

Отбор исследований проводился на основании соблюдения стандартных условий набора добровольцев, факта доказательства биоэквивалентности, оценки одних дозировок и применения стандартного способа расчета основного результата. Исследования, не соответствующие перечисленным условиям, были исключены из проводимого анализа.

¹ Investigation of Bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev. 1). European Medicines Agency. London; 2010.

https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf

Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability. Annex 7. World Health Organization. Geneva; 2006. http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/Annex7-TRS992.pdf

² Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

как не дающие возможность проводить косвенное сравнение препаратов.

Для анализа были выбраны:

1) 12 исследований биоэквивалентности иматиниба. Из них 2 исследования были исключены в связи с невозможностью сопоставления дизайна, условий набора пациентов. В 2 из 10 включенных в анализ исследований изучалась доза 400 мг, в остальных — 100 мг;

2) 5 исследований такролимуса: 4 исследования дозы 5 мг и 1 исследование дозы 2 мг.

Таким образом, анализ проводился для 10 воспроизведенных препаратов иматиниба в дозах 100 мг и 400 мг, сравнение проводилось с препаратом Гливек®, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 100 мг и 400 мг («Новартис Фарма Штейн АГ», Швейцария). Препараты такролимуса сравнивались с препаратом Програф®, капсулы, 1 мг и 5 мг (Astellas Pharma Europe B.V., Нидерланды).

Анализ результатов исследований. Проводилось косвенное сравнение воспроизведенных препаратов с одним активным компонентом. Возможность подобного сравнения основана на едином дизайне исследований, единой конечной точке и одном препарате сравнения (оригинальном) для всех исследований препаратов с одним активным компонентом.

Возможность косвенного сравнения является следствием применения в исследованиях стандартной методики расчета биоэквивалентности, основанной на расчете 90 % доверительных интервалов (ДИ).

Метод косвенного сравнения двух воспроизведенных препаратов позволяет, как и в прямом сравнении, получить величину стандартной ошибки отношения целевых фармакокинетических показателей. На основании ошибки строятся 90 % ДИ. Однако основным недостатком косвенного сравнения является высокий консерватизм: величина стандартной ошибки существенно увеличивается по сравнению с возможной стандартной ошибкой при прямом сравнении воспроизведенных препаратов друг с другом. При соответствии 90 % ДИ, полученных при расчете косвенным методом, границам 80–125 % можно говорить о высокой надежности заключения о биоэквивалентности воспроизведенных препаратов. То есть высокая надежность метода неоспорима, однако нельзя отрицать и высокий консерватизм оценки. Используя аналогию с клиническими тестами, можно говорить о высокой специфичности, но лишь умеренной чувствительности в выявлении биоэквивалентных воспроизведенных препаратов [2].

Вместе с тем, описанный ниже метод, основанный на свойствах t-распределения, находит достаточно большое распространение при поиске возможностей косвенной оценки биоэквивалентности воспроизведенных препаратов. При этом в большинстве работ делается акцент на важность учета

данных по AUC , так как результаты оценки по $C_{\max}$ имеют меньшее клиническое значение, и вопрос их соответствия фиксированным границам 80–125 % может оспариваться [2].

Описание расчетов заимствовано из работы Y. Yu с соавт. и представляет собой достаточно простой алгоритм [3].

Расчеты выполняли исходя из полной уверенности в проведении анализа в рассматриваемых исследованиях на основе стандартной модели (в том числе логарифмированные данные для проведения дисперсионного анализа).

Отношение (R) между вторым и первым воспроизведенными препаратами ($G2/G1$) для AUC_{0-t} и $C_{\max}$ строили на основании уравнения (1), справедливого при использовании в реальных исследованиях одного и того же препарата сравнения. $R(BE1)$ и $R(BE2)$ — это отношения параметров воспроизведенного препарата к оригинальному препарату в исследованиях биоэквивалентности первого и второго воспроизведенных препаратов соответственно. Результат расчета по уравнению представлял собой точечное значение отношения воспроизведенных препаратов друг к другу:

$$\ln R \left(\frac{G2}{G1} \right) = \ln R(BE2) - \ln R(BE1). \quad (1)$$

90 % ДИ строились на основании уравнения (2), стандартную ошибку для которого (SE_d) вычисляли исходя из стандартного уравнения (3), описывающего стандартные свойства объединенной дисперсии:

$$\ln 90\% \text{ДИ} = \ln R \left(\frac{G2}{G1} \right) \pm t(df) \times SE_d, df = n1 + n2 - 2, \quad (2)$$

$$SE_d = \sqrt{SE1^2 + SE2^2}. \quad (3)$$

Расчет $SE1$ и $SE2$ велся исходя из степеней свободы (df) и логарифмированных значений полученных границ 90 % ДИ исследований воспроизведенных препаратов.

Учитывая, что отношение для воспроизведенных препаратов может быть как прямым, так и обратным ($G2/G1$ или $G1/G2$), для анализа отбирались соотношения, превышающие 1,00. То есть при определении возможного варианта отношения для пары воспроизведенных препаратов выбирался только вариант со значением, превышающим 1,00. Это было сделано с целью визуализации несоответствия границ признания (выход за границу) при использовании величины описательной статистики верхней границы 90 % ДИ отношения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные характеристики включенных в анализ исследований представлены в таблице 1. Основные результаты, полученные в этих исследованиях, представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 1. Основные характеристики анализируемых исследований

Table 1. The main characteristics of the studies under analysis

Активный компонент и доза Active pharmaceutical ingredient and dose	Количество исследований Number of studies	Количество добровольцев Number of subjects	Дизайн Study design
Иматиниб 400 мг Imatinib 400 mg	2	От 18 до 24 From 18 to 24	Перекрестное, две последовательности, два периода Two-sequence, two-period crossover study
Иматиниб 100 мг Imatinib 100 mg	8	От 18 до 30 From 18 to 30	Перекрестное, две последовательности, два периода Two-sequence, two-period crossover study
Такролимус 5 мг Tacrolimus 5 mg	4	От 24 до 42 From 24 to 42	Перекрестное, две последовательности, два периода Two-sequence, two-period crossover study
Такролимус 2 мг Tacrolimus 2 mg	1	32	Перекрестное, две последовательности, два периода Two-sequence, two-period crossover study

Таблица 2. Основные результаты анализируемых исследований иматиниба

Table 2. The main results of the Imatinib studies under analysis

Номер исследования Study number	N	AUC _{0-t}			C _{max}		
		Отношение средних геометрических Geometric mean ratio	L	U	Отношение средних геометрических Geometric mean ratio	L	U
1	24	112	106	121	91	86	122
2	24	100	94	122	101	92	124
3	23	101,43	85,29	120,62	102,39	89,94	116,56
4	27	98,32	93,11	103,83	94,57	89,22	100,24
5	22	92,4	85,3	100,2	95,7	89,5	102,22
6	18	99,218	90,21	109,13	103,558	94,442	113,553
7	30	98,8	96,85	100,92	98,8	96,57	101,24
8	18	97,1	84,2	112	102,8	89,8	117,7
9	24	98,9	80,4	121,8	94,4	87,6	101,6
10	24	98	96	101	100	98	102

Примечание. N — количество добровольцев, L — нижняя граница 90 % ДИ, U — верхняя граница 90 % ДИ.
Note. N — number of subjects, L — lower limit of the 90 % confidence interval, U — upper limit of the 90 % confidence interval.

Таблица 3. Основные результаты анализируемых исследований такролимуса

Table 3. The main results of the Tacrolimus studies under analysis

Номер исследования Study number	N	AUC _{0-t}			C _{max}		
		Отношение средних геометрических Geometric mean ratio	L	U	Отношение средних геометрических Geometric mean ratio	L	U
1	38	103,42	94,43	113,27	102,57	92,96	113,16
2	42	104,9	99,24	110,89	101,1	91,69	114,6
3	36	111,6	103,6	120,16	112,8	105,92	120,2
4	24	100	97	103	100	93	107
5	32	102,43	95,6	109,75	106,61	99,2	114,45

Примечание. N — количество добровольцев, L — нижняя граница 90 % ДИ, U — верхняя граница 90 % ДИ.
Note. N — number of subjects, L — lower limit of the 90 % confidence interval, U — upper limit of the 90 % confidence interval.

Для препаратов иматиниба оценено 45 сравнений для косвенной оценки биоэквивалентности, для препаратов такролимуса — 10 сравнений, что соответствует возможному числу перебора парных сравнений воспроизведенных препаратов друг с другом.

Иматиниб. Результаты косвенной оценки 90 % ДИ отношений средних геометрических 45 сравнений препаратов иматиниба свидетельствуют о том, что в 46,7 % случаев границы интервалов выходят за общепринятые нормы (80–125 %) как минимум по одному из оцениваемых показателей: отношение

$C_{\max}$ или отношение AUC_{0-t} . Только по отношению AUC_{0-t} несоответствие обнаружено в 35,6 % случаев, только по отношению $C_{\max}$ — в 31,1 % случаев. Оба показателя не соответствовали границам в 9 из 45 сравнений (20,0 %). Данные косвенного сравнения, в том числе усредненные значения, представлены в таблице 4.

Такролимус. Результаты косвенной оценки 90 % ДИ отношений средних геометрических 10 сравнений препаратов такролимуса представлены в таблице 5. Полученные данные свидетельствуют о том,

Таблица 4. Результаты косвенного сравнения воспроизведенных препаратов иматиниба

Table 4. The results of indirect comparison of generic Imatinib drugs

Показатель Parameters	Число пар сравнения Number of compared pairs	Среднее значение Mean	–90 % ДИ –90 % confidence interval	+90 % ДИ +90 % confidence interval	Медиана Median	Мин. Min	Макс. Max	Нижний квартиль Lower quartile	Верхний квартиль Upper quartile
AUC_{0-t} G1/G2	45	1,051	1,035	1,066	1,026	1,001	1,212	1,011	1,074
AUC_{0-t} 90%L(G1/G2)	45	0,906	0,883	0,929	0,896	0,787	1,094	0,856	0,951
AUC_{0-t} 90%U(G1/G2)	45	1,223	1,198	1,247	1,228	1,041	1,402	1,169	1,264
$C_{\max}$ G1/G2	45	1,054	1,043	1,065	1,047	1,002	1,138	1,024	1,083
$C_{\max}$ 90%L(G1/G2)	45	0,917	0,904	0,931	0,913	0,832	0,995	0,883	0,945
$C_{\max}$ 90%U(G1/G2)	45	1,214	1,188	1,239	1,217	1,043	1,421	1,149	1,254

Примечание. AUC_{0-t} 90%U(G1/G2) и AUC_{0-t} 90%L(G1/G2) — верхняя и нижняя граница 90 % ДИ для отношения средних геометрических AUC_{0-t} ; $C_{\max}$ 90%U(G1/G2) и $C_{\max}$ 90%L(G1/G2) — верхняя и нижняя граница 90 % ДИ для отношения средних геометрических $C_{\max}$.
Note. AUC_{0-t} 90%U(G1/G2) and AUC_{0-t} 90%L(G1/G2) — upper and lower limits of the 90 % confidence interval for the AUC_{0-t} geometric mean ratio; $C_{\max}$ 90%U(G1/G2) and $C_{\max}$ 90%L(G1/G2) — upper and lower limits of the 90 % confidence interval for the $C_{\max}$ geometric mean ratio.

Таблица 5. Результаты косвенного сравнения воспроизведенных препаратов такролимуса

Table 5. The results of indirect comparison of generic Tacrolimus drugs

Показатель Parameters	Число пар сравнения Number of compared pairs	Среднее Mean	–90 % ДИ –90 % confidence interval	+90 % ДИ +90 % confidence interval	Медиана Median	Мин. Min	Макс. Max	Нижний квартиль Lower quartile	Верхний квартиль Upper quartile
AUC_{0-t} G1/G2	10	1,050	1,025	1,076	1,042	1,010	1,116	1,024	1,079
AUC_{0-t} 90%L(G1/G2)	10	0,958	0,931	0,985	0,956	0,902	1,031	0,939	0,986
AUC_{0-t} 90%U(G1/G2)	10	1,152	1,122	1,182	1,133	1,103	1,212	1,118	1,204
$C_{\max}$ G1/G2	10	1,061	1,032	1,091	1,056	1,011	1,128	1,026	1,100
$C_{\max}$ 90%L(G1/G2)	10	0,944	0,910	0,978	0,944	0,876	1,028	0,911	0,980
$C_{\max}$ 90%U(G1/G2)	10	1,193	1,165	1,222	1,176	1,152	1,267	1,162	1,234

Примечание. AUC_{0-t} 90%U(G1/G2) и AUC_{0-t} 90%L(G1/G2) — верхняя и нижняя граница 90 % ДИ для отношения средних геометрических AUC_{0-t} ; $C_{\max}$ 90%U(G1/G2) и $C_{\max}$ 90%L(G1/G2) — верхняя и нижняя граница 90 % ДИ для отношения средних геометрических $C_{\max}$.
Note. AUC_{0-t} 90%U(G1/G2) and AUC_{0-t} 90%L(G1/G2) — upper and lower limits of the 90 % confidence interval for the AUC_{0-t} geometric mean ratio; $C_{\max}$ 90%U(G1/G2) and $C_{\max}$ 90%L(G1/G2) — upper and lower limits of the 90 % confidence interval for the $C_{\max}$ geometric mean ratio.

что ни в одном из 10 случаев интервалы не выходили за общепринятые границы (80–125 %) для отношения AUC_{0-t} . Для отношения C_{max} несоответствие обнаружено в 1 случае (10 %).

При оценке соответствия показателя отношения AUC_{0-t} более узким границам 90–111 %, рекомендуемым для отношения³ AUC_{0-t} , данному требованию не соответствовали 90 % значений. При этом изначально не соответствовали современным нормам признания биоэквивалентности лишь 2 исследования (исследования 1 и 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из современных представлений о научно и регуляторно обоснованных границах признания биоэквивалентности, она может быть признана в 53 % случаев для препаратов иматиниба и в 10 % случаев для препаратов такролимуса. С другой стороны, нельзя говорить о том, что в остальных случаях нами доказана небиоэквивалентность воспроизведенных препаратов друг другу. Поскольку, как уже было отмечено, примененный метод косвенной оценки обладает существенным консерватизмом: высокой чувствительностью, но малой специфичностью. Согласно данным А.М. Glenney с соавт. [4], результат косвенной оценки приводит к увеличению значения ошибки в 1,4 раза.

В таком случае ориентиром может служить частота выхода значений верхней границы за предел 133 %, что наблюдалось в нашем случае для препаратов иматиниба приблизительно в 10 % случаев как для AUC_{0-t} , так и для C_{max} . Для препаратов такролимуса выход за границу 125 % (при необходимой границе 111 %) для AUC_{0-t} не наблюдался, как и не отмечен выход верхней границы C_{max} за пределы 133 %. То есть при проведении реальных исследований биоэквивалентности воспроизведенных препаратов не исключается результат, подтверждающий их биоэквивалентность друг другу.

В работе голландских исследователей частота доказательства биоэквивалентности для различных групп воспроизведенных препаратов достигала существенно более высоких значений: 90 и 87 % для AUC_{0-t} и C_{max} соответственно [3].

Причины подобного различия частоты доказательства биоэквивалентности между голландским исследованием [3] и полученными нами результатами могут быть связаны как с возможным фактом присутствия на рынке Российской Федерации воспроизведенных препаратов, которые не могут быть признаны биоэквивалентными между собой, так и с особенностями используемой методологии. Исследования биоэквивалентности в странах Европейского союза обычно более многочисленны

и проводятся с определенным запасом статистической мощности (не 80, а 90 %), что при косвенном сравнении дает основу для получения более узких ДИ отношений AUC_{0-t} и C_{max} . В исследованиях, проводимых для регистрации воспроизведенных препаратов в России, обычно постулируется мнение о минимальной достаточности (80 % мощности), что приводит к появлению существенного расширения доверительных интервалов и резкому снижению возможности доказательства биоэквивалентности воспроизведенных препаратов друг другу при проведении косвенного сравнения. В то же время следует отметить, что однозначных признаков небиоэквивалентности нами обнаружено не было: ни в одном из случаев нами не выявлено превышение границы 125 % для точечного значения отношения AUC_{0-t} или C_{max} как для иматиниба, так и для такролимуса, и лишь в 1 случае для препарата такролимуса превышение 111 % было обнаружено для величины AUC_{0-t} .

Таким образом, взаимозаменяемость или сопоставимая клиническая активность воспроизведенных препаратов не могут быть констатированы как очевидный факт при признании препаратов эквивалентными оригинальному препарату. Результат, свидетельствующий о биоэквивалентности двух воспроизведенных препаратов оригинальному в рамках допустимых границ, с научной точки зрения не может являться достаточным основанием для признания клинической эквивалентности этих воспроизведенных препаратов друг другу.

Отсутствие понимания этого научного факта и понимания сущности исследований фармакокинетической эквивалентности государственными структурами, регулирующими обращение лекарственных средств, делает весьма вероятным появление логических ошибок, связанных с тем, что биоэквивалентность воспроизведенных препаратов не является совокупностью простых силлогизмов, делающих последующий вывод очевидным. Это приводит к неоднозначным и, возможно, ошибочным результатам интерпретации заключений о биоэквивалентности воспроизведенных препаратов и возможности признания их клинической эквивалентности друг другу.

Полученный результат свидетельствует о том, что традиция принятия формализованных решений, без учета научной оценки полученных результатов, не может быть применима к оценке эффективности и безопасности лекарственных средств. Отсутствие весомого рычага влияния у научно-экспертного сообщества на чрезмерно формализованные решения, вырабатываемые административно без учета научной составляющей, создает повышенные риски

³ Questions and Answers: positions on specific questions addressed to the Pharmacokinetics Working Party (PKWP) (EMA/618604/2008 Rev. 13). European Medicines Agency; 2015. https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/questions-answers-positions-specific-questions-addressed-pharmacokinetics-working-party_en.pdf

при последующей реализации управленческих решений, от которых зависят здоровье пациента и результат работы врача.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о возможности признания биоэквивалентности и, соответственно, соблюдении основного условия для признания взаимозаменяемости практически в половине случаев сравниваемых пар воспроизведенных препаратов. Неопределенность для остальных случаев может быть связана с высокой степенью консерватизма метода косвенного сравнения, но не исключается и возможность истинной небиоэквивалентности в определенной части случаев, что в большей мере касается препаратов такролимуса при сужении

границ признания биоэквивалентности по показателю AUC_{0-1} до значения 90–111 %, рекомендованного европейскими регуляторными органами.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 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. Anderson S, Hauck WW. The transitivity of bioequivalence testing: potential for drift. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 1996;34(9):369–74. PMID: 8880284
2. Yu Y, Teerenstra S, Vanmolkot F, Neef C, Burger D, Maliepaard M. Interchangeability of gabapentin generic formulations in the Netherlands: a comparative bioavailability study. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;94(4):519–24. <https://doi.org/10.1038/clpt.2013.108>
3. Yu Y, Teerenstra S, Neef C, Burger D, Maliepaard M. Investigation into the interchangeability of generic formulations using immunosuppressants and a broad selection of medicines. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015;71(8):979–90. <https://doi.org/10.1007/s00228-015-1878-z>
4. Glenny AM, Altman DG, Song F, Sakarovitch C, Deeks JJ, D'Amico R, et al. Indirect comparisons of competing interventions. *Health Technol Assess.* 2005;9(26):1–134. PMID: 16014203

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Горячев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук. Dmitry V. Goryachev, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>
Уварова Наталья Евгеньевна. Natalia E. Uvarova. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6718-695X>

Статья поступила 29.01.2019
После доработки 16.05.2019
Принята к печати 16.08.2019

Article was received 29 January 2019
Revised 16 May 2019
Accepted for publication 16 August 2019

Оценка эффективности внедрения информационных систем для экспертизы лекарственных средств

К. А. Кошечкин, Ю. В. Олефир

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. Совершенствование лекарственного обеспечения является одним из ключевых факторов повышения качества оказания медицинских услуг, но без внедрения цифровых технологий в этот процесс практически не обойтись. Внедрение цифровых технологий в сфере обращения лекарственных средств является комплексной задачей, требующей системного подхода, куда входит планирование, проектирование, разработка, внедрение и эксплуатация информационных систем. **Цель работы:** разработка и апробация методики оценки эффективности информационных систем, применяемых для экспертизы лекарственных средств. **Материалы и методы:** анализ научных публикаций отечественной и зарубежной специальной литературы по проблеме оценки эффективности внедрения информационных систем. Также был проведен системный анализ с использованием процедуры построения модели системы обработки данных. **Результаты:** на основе данных литературы определены методики, которые могут быть применены для оценки эффективности внедрения информационных систем. На примере системы «Документооборот — Экспертиза лекарственных средств» построена модель и проведена оценка эффективности этой системы. По результатам оценки предложены пути повышения эффективности модельной системы. **Выводы:** на основании анализа источников литературы показано, что применение методов цифрового моделирования позволяет анализировать эффективность информационных систем в сфере экспертизы лекарственных средств. В работе проанализирована система записи для приема образцов лекарственных средств «Документооборот — Экспертиза лекарственных средств», позволяющая распланировать очередность поступления заявок и исключить параллельное поступление нескольких обращений. По результатам анализа предложено повысить эффективность системы путем открытия дополнительного окна для приема заявителей. **Ключевые слова:** информационные системы; бизнес-процесс; эффективность; цифровые технологии; экспертиза лекарственных средств

Для цитирования: Кошечкин КА, Олефир ЮВ. Методы оценки эффективности внедрения информационных систем для экспертизы лекарственных средств. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):191–196. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-191-196>

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

Assessment of the Effectiveness of Implementation of Information Systems for Medicines Evaluation

K. A. Koshechkin, Yu. V. Olefir

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

Abstract. Improvement of drug supply is one of the key factors contributing to the quality of medical services, but it cannot be achieved without introduction of digital technologies. This is a complex task that requires a systematic approach which includes planning, design, development, implementation and operation of information systems. **The purpose** of this study was to develop and test a procedure for assessing the effectiveness of information systems supporting medicines evaluation. **Materials and methods:** the paper analyses Russian and foreign scientific publications devoted to the assessment of effectiveness of information systems implementation. The author conducted a system analysis using the procedure for constructing a model of a data processing system. **Results:** the analysis of literature sources helped to determine methods that could be used to assess the effectiveness of information systems implementation. The «Document management — Medicines evaluation» system was used to construct a model system, and the analysis of the system's effectiveness made it possible to propose ways for further improvement. **Conclusion:** the analysis of the literature sources demonstrated that the use of digital modelling methods helps to assess the effectiveness of information systems supporting medicines evaluation. The paper analysed the «Document management — Medicines evaluation» system used for receipt and registration of medicine samples. This system makes it possible to preplan the order in which applications will be received and rule out the possibility of simultaneous receipt of several applications. Based on the results of the analysis it is suggested that an additional receiving point should be set up in order to improve the throughput of the system.

Key words: information systems; business process; effectiveness; digital technology; medicines evaluation

For citation: Koshechkin KA, Olefir YuV. Assessment of the effectiveness of implementation of information systems for medicines evaluation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):191–196. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-191-196>

***Corresponding author:** Konstantin A. Koshechkin; koshechkin@expmed.ru

Вопросы повышения эффективности системы здравоохранения остро стоят на повестке дня. По итогам заседания президиума Совета при Президенте России по стратегическому развитию и приоритетным проектам 25 октября 2016 г. утвержден паспорт приоритетного проекта «Электронное здравоохранение». Инициативы в сфере здравоохранения соотносятся с общим направлением развития страны в сторону цифровой экономики. Президент Российской Федерации указом от 9 мая 2017 г. № 203 утвердил «Стратегию развития информационного общества в Российской Федерации на 2017–2030 годы». Программа устанавливает на период до 2025 г. восемь направлений работы, реализация которых ориентирована на достижение развития цифровой экономики России, в том числе цифрового здравоохранения.

Совершенствование лекарственного обеспечения — один из ключевых факторов повышения качества оказания медицинских услуг. Внедрение цифровых технологий в сфере обращения лекарственных средств является сложной, комплексной работой, требующей системного подхода, куда входят планирование, проектирование, разработка, внедрение и эксплуатация информационных систем. На всех этапах работы требуется анализ эффективности планируемых или эксплуатируемых систем для принятия решений о целесообразности их развития, модернизации и дальнейшего внедрения.

Цель работы — разработка и апробация методики оценки эффективности информационных систем, применяемых для экспертизы лекарственных средств.

Для выполнения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- изучить методики, которые могут быть применены для оценки эффективности внедрения информационных систем, использующихся в сфере экспертизы лекарственных средств;
- на примере одной из информационных систем построить математическую модель и провести оценку эффективности системы;
- по результатам оценки предложить пути повышения эффективности модельной системы, для которой выполнялась оценка эффективности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был проведен анализ научных публикаций отечественной и зарубежной специальной литературы по проблеме оценки эффективности внедрения информационных систем. Также был проведен системный анализ с использованием процедуры построения модели системы обработки данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В международной практике принято использовать так называемые ключевые показатели эффективности (англ. Key Performance Indicators, KPI) —

показатели работы, которые могут быть применены к информационной системе [1]. Данные показатели обычно выражаются в цифровых значениях и связаны с достижением стратегических и операционных целей организации, которая применяет то или иное цифровое решение. Использование ключевых показателей эффективности дает возможность оценить состояние объекта автоматизации и помочь в оценке реализации стратегии за счет внедрения информационных систем.

Оценка эффективности является методом формализованного измерения набора показателей, характеризующих состояние некоторой системы. Анализируемые параметры должны быть заранее определены субъектом, проводящим анализ. Например, в отношении информационных систем в сфере обращения лекарственных средств могут оцениваться надежность, обеспечение исполнения требований, срок эксплуатации, простота применения, стоимость, соответствие стандартам. Оценка может проводиться для сравнения разных информационных систем, одной и той же информационной системы на стадиях внедрения и эксплуатации или состояния объекта автоматизации до внедрения системы и после внедрения.

Оценку можно проводить относительно отдельных компонент или системы в целом. По продолжительности различают краткосрочный, среднесрочный и долгосрочный анализы. Информационные системы могут быть проанализированы в зависимости от эксплуатационной нагрузки, например при минимальной, максимальной и средней нагрузке в схожие периоды анализа.

Оценку необходимо проводить с учетом целей реализации информационных систем, их условно можно разделить на три категории. К первой относятся информационные системы, внедрение которых повышает эффективность ранее реализованных бизнес-процессов. Их целесообразно оценивать до и после внедрения информационной системы. Для каждого процесса индикаторы должны быть разработаны индивидуально. Критически важным является выбор индикаторов, связанных именно с автоматизируемым процессом, а не с самой информационной системой. Например, в системе электронного формирования договоров необходимо оценивать количество сформированных договоров за определенное время до внедрения системы и после с поправкой на входящее количество заявок на оформление. Менее информативно оценивать такую систему, например, по скорости выполнения отдельных операций в системе.

Другой категорией информационных систем являются решения, повышающие контроль над бизнес-процессом. Данная категория подразумевает наличие данного бизнес-процесса в организации до его автоматизации. Для них целесообразно использовать

метрики, которые были сформулированы руководством организации до внедрения информационной системы, а также показатели, оценивающие доступность данных метрик для руководства без участия посредников. Как пример для этой категории можно привести «Лабораторные информационные системы», которые автоматизируют процессы, проходящие в лаборатории. Примеры метрик оценки степени контроля: скорость, качество, отказы, хозяйственно-экономические критерии.

Третьей разновидностью информационных систем с точки зрения оценки эффективности являются системы, создающие новый, ранее не существовавший бизнес-процесс. Примером такой системы может быть Федеральная государственная информационная система мониторинга движения лекарственных препаратов от производителя до конечного потребителя с использованием маркировки, которая внедряет ранее не существовавший процесс прослеживания лекарственных препаратов, одной из целей которого является создание возможности борьбы с контрафактной продукцией. В этом случае метрики могут быть основаны на исходных факторах, которые учитывались при создании системы. Относительно приведенного примера такой метрикой может стать количество контрафактной продукции, изымаемой из оборота, или иные критерии, напрямую связанные с целями реализации нового процесса.

Оценка эффективности внедрения информационных систем в сфере обращения лекарственных средств подчас является нетривиальной задачей в связи со сложностью выявления объективных критериев, которые могут быть количественно оценены. В связи с этим возможно проведение анализа на основании субъективных факторов восприятия системы пользователями или экспертами.

Другим способом оценки является математическое моделирование, представляющее собой процесс построения и изучения математических

моделей. Все естественные и общественные науки, использующие математический аппарат, по сути, занимаются математическим моделированием: заменяют реальный объект математической моделью и затем изучают последнюю.

Применительно к области оценки эффективности информационных систем актуально аналитическое моделирование. Это методика, использующая математические модели (например, моделирование времени отклика) для прогнозирования поведения информационной системы.

Аналитическая модель — это модель какого-либо процесса, с помощью которой при изменении переменных можно проследить зависимость результата процесса от их значения. Такая модель позволяет быстро и точно охарактеризовать поведение системы [2]. Наиболее наглядны и эффективны аналитические модели при описании функционирования систем, в которые в случайные моменты времени поступают обращения [3, 4].

При имитационном моделировании реализующий модель алгоритм воспроизводит процесс функционирования системы во времени. Имитируются элементарные явления, составляющие процесс, с сохранением их логической структуры и последовательности протекания во времени [5]. Этот метод широко применяется на этапе проектирования сложных систем. Основным средством реализации имитационного моделирования служит цифровое моделирование. Это способ исследования реальных явлений, процессов, устройств, систем и др., основанный на изучении их математических моделей с помощью вычислительной техники. При этом программа является своеобразной моделью исследуемого объекта. Сравнение методов моделирования представлено в таблице 1.

В качестве примера нами был рассмотрен процесс приема образцов лекарственных средств. В качестве используемого метода было выбрано

Таблица 1. Характеристика методов моделирования

Table 1. Characteristics of modeling methods

Наименование Name	Характеристика Characteristic
Математическое моделирование Math modelling	Замена реального объекта его математической моделью Replacing a real object with its mathematical model
Аналитическое моделирование Analytical modelling	Построение алгоритма функционирования исследуемого объекта и сравнение его состояний в разных условиях Construction of the studied object's operation algorithm and comparison of its states in different conditions
Имитационное моделирование Simulation	Создание модели явлений, составляющих процесс, с сохранением их логической структуры и последовательности протекания во времени Creating a model of the phenomena that make up the process, while maintaining their logical structure and the temporal sequence of events
Цифровое моделирование Digital simulation	Построение цифровой модели явления на основе алгоритма функционирования изучаемого явления с применением математической модели Building a digital model of a phenomenon based on the studied phenomenon's operation algorithm and using a mathematical model

цифровое моделирование как наиболее полно позволяющее выполнить поставленную цель.

Для описания исследования необходимо определить структуру системы и показатели качества и эффективности. Для автоматизации процедуры приема образцов лекарственных средств применяется информационная система «Документооборот — Экспертиза лекарственных средств» (свидетельство об официальной регистрации программ для ЭВМ № 2006611854 от 31.05.2006).

Рассмотрим одноканальную систему с отказами, которая представляет собой окно приема образцов, в которое, согласно требованиям Федерального закона Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», заявители предоставляют в уполномоченное экспертное учреждение образцы лекарственных средств для проведения экспертизы их качества. Заявитель, обратившийся для сдачи образцов в тот момент, когда окно занято, получает отказ в оказании услуги. Интенсивность потока заявителей $\lambda = 1$ (одно обращение в 40 мин). Средняя продолжительность оказания услуги приема образцов — 60 мин. Поток обслуживания и поток заявок приема образцов являются условно простейшими.

Для оценки эффективности функционирования данной системы требуется определить в установившемся режиме предельные значения следующих параметров:

- вероятности отказа получения услуги, $P_{отк}$;
- относительной пропускной способности, q ;
- абсолютной пропускной способности, A .

Далее необходимо сравнить фактическую пропускную способность системы с номинальной, когда интенсивность потока заявок совпадает со скоростью фактического оказания услуги, т.е. заявители идут один за другим без ожидания в очереди, и найти статистические оценки характеристик системы при продолжительности работы 480 мин.

Время обслуживания определяется как случайная величина, распределенная по закону Пуассона. Вероятностное распределение дискретного типа моделирует случайную величину, представляющую собой число событий, произошедших за фиксированное время, при условии, что данные события происходят с некоторой фиксированной средней интенсивностью и независимо друг от друга. Были введены в качестве обозначений параметров системы следующие переменные: интенсивность обращения заявителей для сдачи образцов, $T_{инт} = 40$; интенсивность обращения заявителей для сдачи образцов, $T_{усл} = 60$; среднее время оказания услуги — приема образцов лекарственных средств (мин), $T_{день} = 480$; продолжительность работы системы (мин).

Опишем переменные, которые необходимы для решения поставленной задачи:

$Syst = [0 \ 0 \ 0]$ — обращения в системе (всего обратившихся для сдачи образцов за время работы; заявители, сдавшие образцы; отказ в оказании услуги);

$rsv_q = 0$ — относительная пропускная способность системы;

$rsv_a = 0$ — абсолютная пропускная способность системы;

$rsv_n = 0$ — номинальная пропускная способность системы;

$p_no = 0$ — вероятность получения отказа в оказании услуги;

$Intens = 1/T_{усл}$ — интенсивность потока обслуживания заявителей.

После объявления переменных запишем формулы для расчета:

$$\begin{aligned} rsv_q &= Intens / (T_{инт} + Intens); \\ rsv_a &= Intens * T_{инт} / (Intens + T_{инт}); \\ rsv_n &= Intens; \\ p_no &= 1 - rsv_q. \end{aligned}$$

Для выполнения статистического моделирования необходимо составить процедуру. Переменной $Syst(1)$ присвоим значение поступивших заявок на сдачу образцов лекарственных средств, переменной $Syst(2)$ — числа обслуженных обращений и переменной $Syst(3)$ — числа отказов в оказании услуги. Функция n необходима для моделирования процесса поступления обращений и инициализируется как случайная величина, распределенная по закону Пуассона с математическим ожиданием 40 (мин). Отсчет времени ведется в минутах как цикл с параметром t . Так как в среднем поступает одно обращение на сдачу образцов в 40 мин, то событие $n = 0$ означает, что обращение поступило в систему. Время обслуживания определяется переменной t , которая инициализируется как случайная величина, распределенная по закону Пуассона с математическим ожиданием 60 (мин). Данные о времени окончания обслуживания обращения хранятся в переменной t_end . Если $t = 0$, то окно обслуживания свободно, и обращение, поступившее в систему, будет обслужено. Если $t > 0$, то поступившее обращение получает отказ в оказании услуги, что фиксируется как $Syst(3) = Syst(3) + 1$, а величина t убывает с каждым циклом на одну минуту ($t = t - 1$).

```
for (y = 1:2)
    Syst = [0 0 0];
    t = 0; n = 0;
    for (i = 1:T_день)
        if (n = 0) // поступление обращения
            о приеме образцов
                Syst(1) = Syst(1) + 1; n = poissrnd(1/T_инт);
                if (t = 0) // обращение поступает
                    в обработку
                        Syst(2) = Syst(2) + 1; t = poissrnd(T_усл);
                    else // система занята, обращение
                        отклоняется
```



```
Syst(3) = Syst(3) + 1;  
end  
end // обслуживание обращения  
if (t > 0) t = t - 1;  
end  
if (n > 0) n = n - 1;  
end  
end.
```

В результате проведенного цифрового моделирования процесса сдачи образцов вычислены относительная и абсолютная пропускные способности системы, которые равны 0,35045 и 0,035045 соответственно. Также определена номинальная пропускная способность системы, которая равна 0,056784 и которая могла бы существовать, если бы процесс предоставления услуги каждому обратившемуся в экспертное учреждение требовал точно 40 мин, а заявители обращались за услугой один за другим без перерыва.

Также при помощи цифрового моделирования работы системы при продолжительности рабочего дня 480 мин определены статистические характеристики, которые показали, что общее количество обратившихся за время моделирования составляет 12 заявителей. Из 12 заявителей четверем сразу была оказана услуга по приему образцов.

Таким образом, методом цифрового моделирования процесса оказания услуги приема образцов лекарственных средств были определены основные показатели эффективности процесса. Если сравнить фактическую и номинальную пропускные способности системы, то оказывается, что номинальная в 1,5 раза больше фактической пропускной способности, вычисленной с учетом случайного характера потока заявок и времени обслуживания. Это указало на то, что система функционирует недостаточно эффективно. Для повышения эффективности работы приема образцов были установлены более оптимальные параметры системы (оптимизирован порядок поступления заявок и добавлен еще один канал обслуживания, т.е. дополнительное окно).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основе данных литературы были определены методики, которые могут быть применены для оценки эффективности внедрения информационных систем. На примере системы «Документооборот — Экспертиза лекарственных средств» (свидетельство об официальной регистрации программ для ЭВМ № 2006611854 от 31.05.2006) построена модель и проведена оценка эффективности.

По результатам оценки предложены пути повышения эффективности модельной системы. Данные нововведения являются частью концепции внедрения CALS/PLM технологий [6], которые находят свое применение в рамках управления деятельностью учреждения.

С помощью предложенной модели была оценена система записи для приема образцов, созданная в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России [7]. На основании полученных в работе результатов для оптимизации интенсивности работы и пропускной способности системы было открыто дополнительное окно для приема заявителей.

Таким образом, показано, что применение методов цифрового моделирования позволяет обоснованно совершенствовать бизнес-процессы в сфере экспертизы лекарственных средств, в том числе за счет внедрения систем автоматизации.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР AAAA-A18-118021590049-0).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590049-0).

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. Eccles RG. The performance measurement manifesto. *Harvard Business Review*. 1991;69(1):131–7. PMID: 10109469
2. Caliri GV. Introduction to Analytical Modeling. In: *26th International Computer Measurement Group Conference, Proceedings*, December 10–15, 2000, Orlando, FL, USA. P. 31–6.
3. Галиуллина АФ. Аналитическое моделирование деловых процессов как систем массового обслуживания для оценки их показателей эффективности. В кн.: *Наука вчера, сегодня, завтра: сборник статей по материалам XX международной научно-практической конференции*. Новосибирск: СибАК; 2015. С. 11–5. [Galiullina AF. Analytical modeling of business processes as queuing systems to assess their performance. In: *Science yesterday, today, tomorrow: Collection of articles on materials of the XX International scientific-practical conference*. Novosibirsk: SibAK; 2015. P. 11–5 (In Russ.)]
4. Bhatti SK, Singh RP, Singh I. Analytical model for performance measurement in healthcare sector of Punjab. *Journal of Modeling in Management*. 2015;10(2):226–37. <https://doi.org/10.1108/JM2-12-2013-0065>
5. Шеннон Р. Имитационное моделирование систем — искусство и наука. М.: Мир; 1978. [Shannon R. *Simulation modeling of systems — art and science*. Moscow: Mir; 1978 (In Russ.)]
6. Кошечкин КА, Олефир ЮВ, Меркулов ВА. Управление информационным сопровождением жизненного цикла лекарственных средств. Концепции применения элементов CALS/PLM-технологий для информационной поддержки жизненного цикла лекарственных средств. М.: Полиграф-Плюс; 2015. [Koshchekin KA, Olefir YuV, Merkulov VA. *Management of information support of the life cycle of medicines. Concepts of using elements of CALS/PLM-technologies for information support of the life cycle of medicines*. Moscow: Poligraf-Plus; 2015 (In Russ.)]

7. Сбоев ГА, Рычихина ЕМ, Дигтярь АВ, Кошечкин КА. О разработке комплексной экспертной информационной системы испытательных центров. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2012;(3):35–9. [Sboev GA, Rychikhina EM,

Digityar' AV, Koshechkin KA. Establishing a comprehensive expert information system of testing centres. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2012;(3):35–9 (In Russ.)]

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Кошечкин Константин Александрович, канд. биол. наук. *Konstantin A. Koshechkin*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0001-7309-2215>
Олефир Юрий Витальевич, д-р мед. наук, старший научный сотрудник. *Yuri V. Olefir*, Dr. Sci. (Med.), Senior Research Associate. **ORCID**: <http://orcid.org/0000-0001-7652-4642>

Статья поступила 31.10.2018

После доработки 01.02.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 31 October 2018

Revised 1 February 2019

Accepted for publication 16 August 2019

Опыт проведения клинико-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств (часть 1: гематологические исследования)

А. В. Сорокина*, С. В. Алексеева, Н. В. Еремина, А. Д. Дурнев

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова»,
Балтийская ул., д. 8, Москва, 125315, Российская Федерация

Резюме. Доклиническая оценка безопасности лекарств является обязательным этапом их разработки. Клинико-лабораторные исследования, в частности гематологические, биохимические и патоморфологические, являются существенной частью программы изучения хронической токсичности. Выбор методических подходов к изучению токсикологических характеристик потенциальных лекарственных средств позволяет оценить степень риска их последующего клинического применения, выявить возможные органы-мишени, установить степень повреждения, а также возможность и динамику восстановления поврежденных систем. Значительную роль в обеспечении получения адекватных результатов упомянутых исследований играет корректное методологическое выполнение всех этапов пробоподготовки и учет всевозможных факторов при интерпретации полученных данных. Так, выбор методических подходов к лабораторным исследованиям крови обуславливается информацией о видовых, возрастных и половых особенностях экспериментальных животных и о специфических особенностях исследуемого препарата. Цель работы — методическое обобщение опыта проведения гематологических исследований, накопленного в лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова» при проведении хронических токсикологических экспериментов.
Ключевые слова: доклинические токсикологические исследования; хроническая токсичность; клинико-лабораторные исследования; гематологические исследования; отбор проб крови; тонкопленочный мазок крови; лейкоцитарная формула; автоматический гематологический анализатор; гемостаз

Для цитирования: Сорокина АВ, Алексеева СВ, Еремина НВ, Дурнев АД. Опыт проведения клинико-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств (часть 1: гематологические исследования). *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(3):197–206. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-197-206>

***Контактное лицо:** Сорокина Александра Валериановна; alex-mike5475@mail.ru

Summary of Clinical Laboratory Studies Performed During Preclinical Safety Evaluation of Medicinal Products (Part I: Haematological Studies)

A. V. Sorokina*, S. V. Alekseeva, N. V. Eremina, A. D. Durnev

Zakusov Institute of Pharmacology,
8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russian Federation

Abstract. Preclinical safety evaluation is an important stage in the development of medicinal products. Clinical laboratory studies, including haematological, biochemical and pathomorphological studies, are an essential part of chronic toxicity studies. A careful choice of methodological approaches to examination of toxicological characteristics of drug candidates makes it possible to assess the degree of risk associated with their subsequent clinical use, identify potential target organs, determine the extent of damage, as well as the possibility and dynamics of restoring damaged systems. Key prerequisites for obtaining adequate results of the studies are correct methodological implementation of all the stages of sample preparation and careful consideration of all factors during interpretation of the obtained data. Thus, the choice of methodological approaches to blood tests is often determined by the species, age and sex of laboratory animals, as well as by specific characteristics of the tested drug. The aim of the study was to summarise data on haematological studies performed in the Drug Toxicology Laboratory of the Federal State Budgetary Institute «Zakusov Institute of Pharmacology» when conducting chronic toxicity studies.

Key words: preclinical toxicology studies; chronic toxicity; clinical laboratory studies; haematological studies; blood sampling; thin blood film; white blood cell differential count; automated haematology analyser; haemostasis

For citation: Sorokina AV, Alekseeva SV, Eremina NV, Durnev AD. Summary of clinical laboratory studies performed during preclinical safety evaluation of medicinal products (part I: haematological studies). *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(3):197–206. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-3-197-206>

***Corresponding author:** Aleksandra V. Sorokina; alex-mike5475@mail.ru

Токсикологические исследования являются обязательной и неотъемлемой составляющей программы доклинических исследований, предваряющих проведение клинических испытаний, и в каждом случае составляют самостоятельную научную задачу.

Оценка повреждающего действия препарата при его многократном повторном введении (хроническая токсичность) имеет целью выявление токсических эффектов, наиболее чувствительных к действию исследуемого препарата органов и систем организма (мишеней токсических воздействий) и исследование обратимости вызываемых повреждений¹. Сведения, полученные в ходе исследования хронической (субхронической) токсичности, создают основу для обоснованного прогноза риска проведения клинических исследований лекарств².

Исследование хронической токсичности — многоплановая процедура, включающая комплекс исследований максимального количества систем и органов на различных уровнях организации. Данные, полученные в ходе этой процедуры, подвергаются перекрестному сопоставлению и признаются значимыми только при совпадении частных заключений по каждому фрагменту исследований с обязательным учетом возможного влияния фармакологических эффектов, присущих изучаемому веществу.

Результаты гематологических исследований предоставляют важную информацию о состоянии активности костного мозга, а также о возможных внутрисосудистых эффектах, например гемолизе. Практика показывает, что причиной искажений, неопределенных или ложных результатов может оказаться недостаточная осведомленность исполнителей в многочисленных методических деталях экспериментов.

Цель работы — обобщение опыта лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова» в части проведения гематологических исследований, потенциально полезное для исследователей-токсикологов и экспертов. В статье разобраны вопросы надлежащего забора крови у лабораторных животных (мыши, крысы, кролики), подготовки биоматериала и проведения гематологических исследований, а также основные показатели гематологического анализа крови и референсные значения показателей.

ОСОБЕННОСТИ ЗАБОРА БИОМАТЕРИАЛА И ПРОБОПОДГОТОВКИ

Забор цельной крови и ее исследование

Клеточный состав периферической крови зависит от особенностей содержания и кормления

животных, их видовой и половой принадлежности, времени суток, сезонности, температурного и светового режима, других составляющих и может различаться в разных экспериментах³. Снижение до минимума разбросов результатов из-за вероятных ошибок возможно лишь при строгой стандартизации всех этапов отбора материала и пробоподготовки с соблюдением стандартных операционных процедур (СОПов).

Для корректного проведения гематологических и биохимических исследований важна техника забора биологического материала. Определяющими особенностями взятия биопроб, в частности крови у лабораторных животных, являются ограниченный объем пробы, возможность загрязнения биоматериала элементами шерсти и необходимость ограничения подвижности животных за счет их жесткой фиксации.

Объем крови у здоровых млекопитающих относительно постоянен и составляет от 5 до 9 % массы тела в зависимости от вида (табл. 1). Без возникновения критических последствий, влияющих на последующие анализы, можно отобрать лишь объем крови в количестве, составляющем 1 % массы тела. Из-за стрессовых воздействий и компенсаторных реакций, связанных с отбором крови, возможны искажения лейкоцитарной формулы и биохимических параметров крови. В случае периодического отбора проб объем крови следует корректировать в меньшую сторону [1, 2]. В ходе эвтаназии возможен отбор около 50 % общего объема крови животного, что используется только в случаях, когда нетерминальные методы отбора не позволяют собрать необходимое для клинико-лабораторного метода исследования количество биоматериала. Примерные объемы крови животных, рекомендуемые для отбора, в зависимости от возраста животного и кратности отбора представлены в таблице 1. Следует учитывать, что объем полученной плазмы или сыворотки будет составлять примерно половину от взятого объема цельной крови.

Предпочтительный способ забора проб крови зависит от вида животного и может определяться необходимостью в повторном взятии материала⁴. Отбор крови у грызунов из орбитального венозного синуса для опытных исследователей не составляет труда. Одним из его существенных недостатков является тот факт, что процедура приводит к небольшому повреждению ткани и, как следствие, к высвобождению тканевого тромбопластина, результатом чего является искажение результатов коагуляционного исследования.

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

² Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М.: Гриф и К; 2013.

³ Макаров ВГ, Макарова МН, ред. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Справочник. СПб.: ЛЕМА; 2013.

⁴ Там же.

Таблица 1. Объемы крови животных, рекомендуемые для отбора в токсикологических исследованиях

Table 1. Blood sample volumes for laboratory animals as recommended for toxicology studies

Вид животного	Масса тела, г	Общий объем крови, мл	Еженедельный отбор, мл	Ежемесячный отбор, мл	После эвтаназии, мл
Мышь	20–30	~ 2	0,1	0,2	1
Крыса	200–400	~ 20	1	2	10
Кролик	2500–3000	~ 200	10	20	100

Забор крови из яремной вены у крыс может выполняться с или без анестезии. Его преимуществом по сравнению с методикой отбора из орбитального синуса является отсутствие физического повреждения тканей. Однако само применение анестезии далеко не всегда желательно и/или требует постановки дополнительных контрольных экспериментов.

Образцы крови можно также получить из хвостовой вены грызунов путем ампутации кончика хвоста или венепункции. Первая процедура с очевидными последствиями может привести к несколько разбавленным образцам крови, загрязненным тканевыми жидкостями. Для предотвращения загрязнения первые две-три капли удаляются из пробы. Недостаток венепункции — травмирование эндотелия сосудов иглой и, как следствие, ускоренное тромбообразование и склеивание стенок вен⁵.

Пункция сердца успешно используется некоторыми исследователями для сбора образцов крови, однако связанные с этим риски, включающие утечку крови в перикардальный мешок, как правило, перевешивают любое потенциальное преимущество этого метода перед другими, более приемлемыми процедурами.

Эмоциональный и болевой стресс во время манипуляций с лабораторными животными может также послужить причиной искажения результатов, поэтому для минимизации беспокойства животных к работе должен быть допущен персонал, прошедший специальную подготовку по надлежащему обращению с ними.

В некоторых случаях хорошим решением может стать относительно безопасная ингаляционная анестезия смесью, состоящей из диоксида углерода (70 %) и кислорода (30 %). В случае особой необходимости допускается использование неингаляционных анестезирующих средств (кетамин, ксилазин, смесь ксилазала с золетилом и др.). Однако большинство из них являются индукторами микросомальных ферментов, что может повлиять на биофармацию изучаемого вещества с непредсказуемыми последствиями.

При должном навыке для сведения к минимуму дискомфорта животных часто используют различные способы фиксации с помощью подобранных по размеру рестрейнеров.

Популярность приобретает использование для забора крови вакуумных пробирок с антикоагулянтами, соответствующими последующим задачам. Это хорошо стандартизует процедуру, но практически неприменимо у мелких грызунов.

При использовании современного оборудования объем сыворотки/плазмы, необходимый при рутинных анализах крови, составляет не менее 5–30 мкл на один показатель, а для измерения 10 основных биохимических параметров обычно требуется около 400–500 мкл сыворотки/плазмы. Кроме того, для дифференциальной оценки лейкоцитов и количества ретикулоцитов требуется дополнительно около 50 мкл для приготовления и анализа мазков крови, окрашенных соответствующим образом. Для этого, в свою очередь, суммарно требуется 1,0–1,2 мл цельной крови, но с учетом возможного повторного анализа, плохого выхода сыворотки и т. д. обычно отбирают 1,5–1,8 мл крови для проведения типичного набора гематологических и биохимических тестов, исключая коагулологические исследования и анализ на метгемоглобин [3–5].

Цельная кровь имеет высокую вязкость и поэтому трудно перемешивается. Перед началом гематологического измерения пробирку с кровью необходимо осторожно вращать и переворачивать не менее 10 раз для равномерного распределения элементов крови, предотвращения адгезии и повреждения клеток. Анализ пробы желательно проводить в ближайшие 5–10 мин после взятия пробы. Позднее наблюдается снижение большинства показателей, что может привести к искажению результатов эксперимента. При работе на автоматических гематоанализаторах предпочтительно использовать программу «Разбавление пробы», что позволяет избежать сбоев в работе из-за повышенной свертываемости крови, например, у крыс, или в результате фармакологического эффекта.

Дополнительные гематологические анализы, которые могут потребоваться для доклинических токсикологических исследований специфических лекарственных кандидатов, включают определение метгемоглобина, карбоксигемоглобина, фибриногена, протромбинового времени (РТ) и активированного частичного тромбопластинового времени (АРТТ). Первые два показателя могут быть

⁵ Хиггинс К. Расшифровка клинических лабораторных анализов. Руководство. М.: Лаборатория знаний; 2016.

измерены с помощью кооксиметра. Поскольку метгемоглобин, окисленная форма гемоглобина, нестабилен, так как фермент метгемоглобинредуктаза крови восстанавливает его обратно до гемоглобина, эти образцы следует собирать на льду и анализировать в течение 1 ч. РТ и АРТТ следует определять из образцов крови, взятых с цитратом в качестве антикоагулянта. Поскольку отношение объема цитратного антикоагулянта к объему отобранной крови критично, для проведения коагуляционных испытаний необходимо получить 1 мл цитратной крови с использованием туберкулинового шприца, предварительно заполненного 0,1 мл раствора цитрата.

Стоит отметить, что получение максимально точных результатов возможно только при строгом соблюдении методик калибровки приборов.

Приготовление тонкопленочного мазка крови на предметном стекле

Правильная оценка и дифференциация разных форм клеток находятся в прямой зависимости от технического выполнения предварительных процедур: взятия крови, техники микроскопирования и метода окраски. Для дифференцированного подсчета лейкоцитов и ретикулоцитов делаются мазки цельной крови непосредственно в момент отбора проб без добавления антикоагулянтов⁶.

Для получения мазков высокого оптического качества необходимо использовать готовые чистые обезжиренные стекла толщиной 1 мм. Каплю исследуемой крови наносят на середину стекла на расстоянии 2 см от края. Шпатель или шлифованное стекло помещают в 1–2 мм от капли под углом 35–45°, двигают его немного назад, чтобы захватить кровь, которая растекается по ребру стекла (шпателя), и затем легким движением продвигают вперед для получения монослойного ряда клеток. Мазок должен получиться достаточно длинным (3–4 см), желтоватого цвета, располагаться на 0,5–1 см от краев и оканчиваться «метелочкой».

При приготовлении мазка не следует сильно надавливать на стекло (шпатель), так как при этом травмируются форменные элементы крови. В первую очередь страдают клетки эритроцитарного ряда, деформация которых приводит к ложным результатам, затрудняя диагностику. Для предотвращения подобных случаев и стандартизации процесса приготовления препаратов крови в современных лабораториях используют автоматические приборы для производства равномерных мазков. В этом случае данное действие контролируется ав-

томатически, что обеспечивает возможность получения стандартных мазков с обширной «рабочей поверхностью», оптимальным распределением крови и минимальным повреждением клеток. Длина и толщина мазка зависят от гематокрита и количества крови, а также определяются скоростью движения распределяющей пластины, которая выставляется при калибровке⁷.

Автоматические анализаторы практически полностью заменили мануальное осуществление фиксации, окраски (по Романовскому) и сушки препаратов крови. Лейкограмма и морфометрические параметры эритроцитов и тромбоцитов также анализируются с помощью автоматической гематологической системы анализа мазка крови. Количество ретикулоцитов (суправитальная окраска во влажной камере, краситель бриллиантовый крезиловый синий) подсчитывают автоматизировано при помощи специальных программ или визуально под микроскопом (увеличение 1000).

ОСОБЕННОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Общий анализ крови

Влияние потенциальных лекарственных средств на систему крови в токсикологических исследованиях оценивается по следующим гематологическим показателям: количеству гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокриту, тромбокриту, среднему объему эритроцитов, среднему содержанию гемоглобина в эритроцитах, средней концентрации гемоглобина в эритроците. Обязательно проводится дифференциальный подсчет лейкоцитов (соотношение различных видов лейкоцитов), так как изменения («сдвиги») в лейкоцитарной формуле при референтном значении общего содержания лейкоцитов могут свидетельствовать о длительных хронических процессах в организме лабораторных животных, снижении активности иммунной системы и т. д.⁸

Немаловажное значение имеет изучение морфологии эритроцитов. Так, характерные изменения, касающиеся величины, формы, степени насыщения эритроцитов гемоглобином, подсчет и оценка ретикулоцитов (незрелых эритроцитов) дают представление о влиянии токсических факторов на активность эритропоэза и способствуют выявлению различных патологий⁹.

При выявлении гематологических изменений в ходе эксперимента целесообразно провести дополнительное специализированное цитологическое

⁶ Тэмл Х, Диам Х, Хаверлах Т. Атлас по гематологии. Практическое пособие по морфологической и клинической диагностике. М.: МЕДпресс-информ; 2014.

⁷ Карпищенко АИ, ред. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.

Риган В, Сандерс Т, Деникола Д. Атлас ветеринарной гематологии. М.: Аквариум; 2014.

⁸ Williams PL, James RC, Roberts SM, eds. Principles of toxicology: environmental and industrial applications. John Wiley & Sons, 2000.

⁹ Gad SC, eds. Animal models in toxicology. Taylor & Francis Group, 2006.

(цитохимическое или иммуноцитохимическое) исследование костного мозга, которое позволит оценить повреждение клеток на начальном этапе кроветворения, когда происходит образование и дифференциация стволовых клеток¹⁰.

Основные показатели крови, определяемые автоматическими гематологическими анализаторами, их описание и интерпретация результатов представлены в таблице 2.

Дифференциальный анализ лейкоцитарной формулы

Морфологическое исследование мазка крови на предметном стекле имеет решающее значение в гематологической экспертизе. Правильная оцен-

ка и дифференциация разных форм клеток зависят от способа забора крови и качества проб; техники приготовления мазка и микроскопирования; метода окраски.

Подсчет лейкоцитарной формулы заключается в регистрации всех встречающихся в поле зрения лейкоцитов отдельно по их росткам. Следует учитывать, что при мануальном приготовлении мазков распределение клеток крови по предметному стеклу происходит неравномерно. Лейкоциты различаются между собой по размерам, удельной массе, упругости и т. д., поэтому в середине мазка чаще встречаются лимфоциты, по краям препарата — нейтрофилы, эозинофилы и моноциты.

Таблица 2. Основные показатели гематологического анализа цельной крови и их описание

Table 2. Main parameters of whole blood tests and their description

Показатель	Описание	Особенности измерения и/или трактовка результатов
WBC (white blood cells)	Лейкоциты ($10^9/\text{л}$); бесцветные форменные элементы крови.	В современных гематологических анализаторах осуществляется дифференциальный подсчет лейкоцитов. В большинстве случаев разделение лейкоцитов идет на три группы: лимфоциты, гранулоциты и средние клетки. Последняя группа является интегральной и включает в себя эозинофилы, базофилы, моноциты и плазматические клетки. Такая дифференциация лейкоцитов применима лишь для динамического наблюдения за состоянием лейкоцитарной формулы здоровых животных. При наличии патологии со стороны лейкопоза анализатор не способен выдавать правильные результаты, поэтому для решения данной проблемы необходима дополнительная визуальная оценка мазка крови. Объемы различных форм лейкоцитарных клеток весьма разнообразны, благодаря чему лейкоциты возможно разделить кондуктометрическим методом. Размеры малых лимфоцитов близки к размерам эритроцитов, и при их измерении возникает необходимость разрушения эритроцитов, которые легко лизируются вследствие хрупкости их мембран. Однако даже после полного разрушения эритроцитов в пробе возможны ошибки измерения в результате агрегации тромбоцитов, грубого перемешивания крови в пробирке с антикоагулянтами, длительного хранения или неправильного температурного режима.
RBC (red blood cells)	Эритроциты ($10^{12}/\text{л}$); красные клетки крови, имеющие вид безъядерных двояковогнутых дисков.	Эритроциты подсчитывают в цельной крови, для уменьшения интерференции со стороны лейкоцитов кровь предварительно необходимо разбавить. В современных анализаторах это производится автоматически дилуентом, входящим в набор для каждого прибора. Увеличение числа лейкоцитов приводит к прогрессивному нарастанию ошибки при подсчете. Так, при лейкоцитозе свыше $50 \cdot 10^9/\text{л}$ искажается показатель объема эритроцитов (MCV). Ложнозавышенные результаты наблюдаются также при наличии в крови гигантских тромбоцитов (с объемом $>30 \text{ фл}$) или криоглобулинов. Снижение эритроцитов в крови наблюдается при агглютинации клеток или выраженном микроцитозе эритроцитов.
HGB (haemoglobin)	Гемоглобин (г/дл или г/л); основной дыхательный пигмент, принадлежащий к хромопротеинам и обеспечивающий ткани кислородом. Является одним из основных параметров для оценки эритропоза.	Основным методом определения количества гемоглобина является цианметгемоглобиновый метод, основанный на преобразовании под действием феррицианида калия гемоглобина в цианметгемоглобин, концентрация которого определяется спектрофотометрически при длине волны 540 нм. Завышение уровня гемоглобина наблюдается при лейкоцитозах более $50 \cdot 10^9/\text{л}$ и в присутствии нестабильных гемоглобинов (сульфо- и карбогемоглобинов). Ошибку измерения гемоглобина провоцирует повышенная мутность сыворотки, которая встречается при гиперлипидемии, гипербилирубинемии, криоглобулинемии и др. Стоит обратить внимание на то, что величина результирующей ошибки не связана с методологией, а является результатом технических особенностей: оптической геометрии прибора, размера выходного отверстия из кюветы для образцов и расстояния до фотодиода.
HCT (hematocrit)	Гематокрит (% или л/л); отражает долю объема крови, занимаемую эритроцитами.	В автоматических анализаторах крови гематокрит высчитывается суммой непосредственно измеренных объемов эритроцитов в единице объема крови. Проблемы «остаточной» плазмы, которая встречается при определении данного показателя методом центрифугирования, не существует. Причины ложнозавышенных результатов те же, что и в предыдущих случаях: присутствие гигантских тромбоцитов, гиперлейкоцитоз ($>50 \cdot 10^9/\text{л}$), гипергликемия ($>600 \text{ мг/кг}$), криоглобулинемия. Ложнозаниженные результаты встречаются при агглютинации эритроцитов и выраженном микроцитозе ($<36 \text{ фл}$).

¹⁰ Hodgson E, ed. A textbook of modern toxicology. John Wiley & Sons, 2004.

Продолжение таблицы 2

Показатель	Описание	Особенности измерения и/или трактовка результатов
MCV (mean red cell volume)*	Средний объем эритроцита (мкм ³); вычисляется делением суммы клеточных объемов на число эритроцитов.	Средний объем эритроцита как усредненный показатель может иметь нормальное значение при одновременно выраженных микро- и макроцитозе, поэтому целесообразно оценивать распределение клеток по объему в гистограмме. Ложнозавышенные результаты бывают при агглютинации эритроцитов, когда агглютинат воспринимается анализатором как одна большая клетка, при диабетическом кетоацидозе вследствие гипермолярности плазмы и набухания эритроцитов. Ложнозаниженные результаты встречаются при механическом гемолизе, коагулопатии и ряде других причин.
MCH (mean corpuscular hemoglobin)*	Среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците, выражается в абсолютных единицах.	Данный показатель более объективен, чем цветовой, который не отражает содержание гемоглобина в эритроците. MCH используют для дифференциации анемий на нормо-, гипо- и гиперхромные.
MCHC (mean cell hemoglobin concentration)*	Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл).	В отличие от MCH, величина которого зависит от объема клетки, MCHC показывает истинное насыщение эритроцита гемоглобином. Является наиболее стабильным из гематологических показателей, поэтому используется как индикатор ошибки прибора или пробоподготовки. В современных гематологических анализаторах, работающих по принципу проточной цитометрии, измеряют концентрацию гемоглобина в каждом отдельном эритроците, вводя в эритроцитарное звено гемограммы дополнительный показатель — HDW (hemoglobin distribution width, ширина распределения концентрации гемоглобина в эритроцитах), который характеризует гетерогенность эритроцитарного пула. Снижение уровня MCHC встречается при состояниях, связанных с нарушением синтеза гемоглобина.
RDW (red cell distribution width)*	Ширина распределения эритроцитов по объемам.	Показатель характеризует степень анизоцитоза, является важным дополнительным критерием в определении динамики развития анемических состояний у лабораторных животных. Данное значение используют в диагностике микросфероцитоза. Изолированное повышение RDW является признаком раннего развития железодефицитной анемии.
PLT (platelet)	Тромбоциты (10 ³ /мм ³); безъядерные сферические клетки — цитоплазматические фрагменты мегакариоцитов костного мозга, необходимые для поддержания гемостаза.	В отличие от мануального метода, в котором предварительно лизируются эритроциты, в анализаторах тромбоциты и эритроциты измеряются одновременно в одной камере, что создает проблему дифференциации макротромбоцитов и микроцитов, а также шизоцитов крови. Для решения данной проблемы в современных приборах существует система дискриминаторов, определяющих высоту электрического сигнала, пропорциональную размеру клетки и ширину (длительность) импульсов. Все импульсы, соответствующие размерам частиц от 1,8 до 30 фл, определяются как тромбоциты. При выходе амплитуды за диапазоны нормального распределения прибор автоматически проводит коррекцию результатов и выдает их истинное значение. Для дополнительного контроля проводят визуальную оценку тромбоцитов на микроскопическом препарате, предназначенном для дифференцировки лейкоцитов, на котором можно увидеть присутствие агрегации или агглютинации тромбоцитов, микроцитарных эритроцитов и других элементов (артефактов) крови, препятствующих правильному подсчету тромбоцитов.
MPV (mean platelet volume)	Средний объем тромбоцитов (мкм ³).	В неактивированном состоянии тромбоциты имеют дискоидную форму. При активации клетки приобретают сферическую, звездчатую форму с нитевидными отростками — псевдоподиями. «Молодые» кровяные пластинки имеют больший объем, поэтому при активации тромбоцитопоза данный показатель увеличивается. В целом, считается, что более объемные тромбоциты метаболически и функционально активнее, чем менее объемные. В течение первых двух часов после взятия крови с K ⁺ -EDTA происходит набухание тромбоцитов с изменением их объема и, соответственно, увеличением MPV. Увеличение MPV наблюдается при нарушении функций щитовидной и поджелудочной железы. Уменьшение этого показателя отмечается при спленэктомии.
PDW (width of distribution of thrombocytes)	Распределение тромбоцитов по объему (%).	Количественно показывает степень анизоцитоза тромбоцитов. В норме тромбоцитарная кривая характеризуется унимодальностью, при выявлении аномального распределения тромбоцитов необходима визуальная оценка клеток в окрашенном мазке. Наличие в крови преимущественно молодых форм сдвигает гистограмму вправо, старые клетки располагаются слева. Данный показатель меняется при пролиферативных состояниях.
PCT (plateletcrit)	Тромбокрит (%).	Показывает долю объема цельной крови, занимаемую тромбоцитами.

* Эритроцитарный индекс. В современных гематологических анализаторах помимо основных показателей RBC, HGB и HCT рассчитываются эритроцитарные индексы, которые дают дополнительную информацию по эритропозу. Все эритроцитарные индексы являются расчетными, поэтому на их значение влияют все ошибки измерения эритроцитов и гемоглобина.

Мазки крови сначала исследуют при малом увеличении 100 и 200 (окуляр 10; объективы 10 и 20 соответственно) для оценки количества клеток и обнаружения лучшего фрагмента для подсчета форменных элементов. Не следует смотреть клетки в конечном отделе препарата («метелочке»), поскольку там чаще встречаются деформированные лейкоциты, предпочтительнее отступить на 1–1,5 см от края мазка¹¹. Детальный анализ количественного и качественного состава лейкоцитов производят под иммерсией и кратностью увеличения 1000 (окуляр 10; объектив 100). Траекторию движения по мазку определяет гематолог, учитывая предварительный «сухой» просмотр при малом увеличении. При нормальном монохромном распределении используют стандартную технику просмотра: считают несколько полей зрения по краю мазка, затем возвращаются к центру по зубчатой траектории. Минимальное количество лейкоцитов, необходимое для дифференциального анализа, — 100 клеток, однако для уменьшения погрешности при дальнейшей статистической обработке желательно рассмотреть не менее 200 клеток. Параллельно с дифференцировкой белых клеток проводится морфологическая оценка эритроцитов и тромбоцитов¹².

При визуальном анализе изображения гематолог может лишь на качественном уровне оценить морфологические особенности клеток крови. С помощью систем компьютерного анализа изображения клеток возможно цитометрически оценивать эритроциты и тромбоциты, в частности определять количественные характеристики морфологии клеток: площади и периметры ядра, соотношение площадей ядра и цитоплазмы, оптическую плотность ядра и цитоплазмы и другие показатели, которые характеризуют индивидуальные структурные особенности клеток и играют определяющую роль в диагностической оценке результатов в условиях экспериментального изучения безопасности новых лекарственных средств.

Подсчет ретикулоцитов

Ретикулоциты представляют собой незрелые (молодые) эритроциты, которые образуются после исчезновения ядер из нормобластов. В ретикулоцитах содержатся остатки скоплений клеточных органелл зернисто-сетчатой структуры, не различимые после обычного окрашивания для подсчета лейкоцитарной формулы. Они выявляются после прижизненной обработки клеток бриллиантовым крезиловым синим или новым метиленовым синим. В процессе окраски рибонуклеопротейиды, содержащиеся в клетке, образуют комплекс с красителем, который позво-

ляет легко идентифицировать и подсчитать ретикулоциты. Окрашивание органелл можно проводить в пробирке с последующим приготовлением тонкопленочного мазка на предметном стекле. Возможно и окрашивание во влажной камере (37 °C), когда мазок крови наносят на предварительно окрашенное бриллиантовым крезиловым синим стекло, а затем стекло помещают в чашку Петри с влажной средой и, не давая мазку высохнуть, выдерживают в термостате 10–15 мин. В мазке ретикулоцитарные клетки подсчитывают в ‰ на 1000 эритроцитов в поле зрения.

Специализированные гематологические анализаторы позволяют по окраске митохондриальной РНК флуоресцентным красителем тиазоловым оранжевым определять относительное и абсолютное количество клеток и средний объем, а также разделять ретикулоциты на 3 группы (по содержанию РНК).

В гематологических исследованиях количество ретикулоцитов и оценка степени их зрелости являются важным показателем активности эритропоэза. Так, повышенное содержание этих клеток с высоким содержанием РНК является показателем токсического действия препаратов на систему кроветворения с развитием гемолитических анемий и острых лейкозов, а пониженное содержание — возможного развития апластического синдрома или острого миелолейкоза. Однако не стоит забывать о широте референтных значений данного показателя у лабораторных животных, поэтому при анализе результатов необходимо дифференцировать отрицательное действие препарата от антигипоксического или иного положительного эффекта.

Система свертывания крови — гемостаз

Основная задача гемостаза состоит в поддержании целостности кровеносной системы. Для выполнения этой задачи в системе гемостаза выработан сложный комплекс процессов, который реагирует на малейшие повреждения тканей кровеносных сосудов и восстанавливает их целостность. Оценка гемостаза в токсикологических исследованиях включает определение количества тромбоцитов и плазменных факторов свертывания крови¹³.

Количество тромбоцитов можно определить несколькими методами, каждый из которых обладает своими недостатками и преимуществами.

Подсчет в камере Горяева достаточно точен, не требует подсчета эритроцитов, но сам процесс трудоемок и нерационален в случае экспериментов с большим количеством животных. Анализ проводится в ближайшие часы после взятия крови.

В отличие от метода подсчета тромбоцитов камере Горяева подсчет в мазке недостаточно точен

¹¹ Карпищенко АИ, ред. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.

¹² Саркисов ДС, Перов ЮЛ, ред. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов. М.: Медицина; 1996.

¹³ Долгов ВВ, Вавилова ТВ, Свирин ПВ. Лабораторная диагностика нарушения гемостаза. Учебно-методическое пособие. М.: Триада; 2019.

и зависит от большого количества факторов. Существенный недостаток этого метода — необходимость одновременного подсчета эритроцитов и тромбоцитов в крови. Преимущество — независимость от времени забора крови, т.е. возможность проводить анализ в удобное исследователю время при надлежащем хранении биоматериала.

Преимущество работы на гематологическом анализаторе заключается в возможности дополнительно к подсчету количества клеток определить тромбоцитарные индексы: средний объем тромбоцитов, их распределение по объему и тромбокрит.

В экспериментальной гематологии для каждого вида лабораторных животных установлены пределы физиологической нормы, поэтому выявление тромбоцитопении или тромбоцитоза требует обязательной коррекции результатов с учетом видовой принадлежности. Снижение количества тромбоцитов может наблюдаться при аутоиммунной тромбо-

цитопении, диссеминированном внутрисосудистом свертывании или нарушении производства тромбоцитов из-за поражения мегакариоцитов вследствие воздействия химических веществ, излучения, вирусов или неоплазии. Повышение содержания тромбоцитов происходит вследствие вторичных причин, таких как миелопролиферативные заболевания, воспаления или новообразования, или вследствие первичных изменений костного мозга, характеризующихся заметным увеличением числа мегакариоцитов. Такие диагнозы, как тромбоцитопения и тромбоцитоз, должны быть подкреплены дополнительным исследованием мазка периферической крови.

Основу современного исследования гемостаза составляют четыре базовых показателя — протромбиновое и тромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время и концентрация фибриногена (табл. 3).

Таблица 3. Основные показатели системы свертывания крови и их описание

Table 3. Key parameters of the blood coagulation system and their description

Показатель	Описание	Особенности измерения и/или трактовка результатов
PT (prothrombin time)	Протромбиновое время — мера относительной активности факторов внешнего и общего путей свертывания крови.	Показатель важен для диагностики дисфункций системы свертывания крови, исследования антикоагулянтов и оценки функции печени. Процессы, которые происходят в организме лабораторных животных при повреждении стенки сосуда и, как результат, приводят к образованию кровяного сгустка, моделируются <i>in vitro</i> путем добавления тканевого тромбопластина (фактор III) к плазме крови в присутствии ионов кальция и измерения времени коагуляции. Изменения данного показателя могут быть вызваны различными патологическими состояниями (поражением печени, ДВС-синдромом, авитаминозом) или действием антикоагулянтов.
TT (thrombin time)	Тромбиновое время — тест, характеризующий состояние конечного этапа свертывания, который оценивает количество активного фибриногена.	В тесте ТТ определяют время от момента добавления тромбина определенной активности к цитратной плазме до момента образования фибринового сгустка. Увеличение показателя тромбинового времени возможно вследствие снижения содержания функционального фибриногена (дисфибриногенемия), снижения содержания фибриногена (гипофибриногенемия), присутствия продуктов распада фибриногена, гепарина или антител к тромбину или вследствие амилоидоза. Поскольку время свертывания в тесте ТТ сильно зависит от активности используемого тромбина, то проблема стандартизации этого теста сводится к применению стабильного раствора тромбина с одной и той же активностью. Для исследования плазмы, не содержащей гепарин, используют тромбин с активностью 3 МЕ/мл, для гепаринизированной плазмы — 6 МЕ/мл и 9 МЕ/мл.
APTT (activated partial thromboplastin time)	Активированное частичное тромбопластиновое время — мера относительной активности факторов внутреннего и общего путей свертывания крови.	В тесте АРТТ определяют время свертывания плазмы после инкубирования пробы с поверхностно-активирующим агентом (активатор фактора VII) и хлоридом кальция. Показатель чувствителен к дефициту всех факторов свертывания (кроме VII), к гепарину, к специфическим и неспецифическим ингибиторам.
Fibrinogen	Фибриноген — гликопротеин, участвующий в образовании фибрина.	Уровень фибриногена в плазме может быть определен с помощью различных методик, среди которых термическая или солевая преципитация, образование сгустка при помощи тромбопластина или тромбина с последующим взвешиванием сгустка или растворением его и определением концентрации общего белка. Кроме того, могут использоваться различные иммунологические методы. В современных лабораториях применяют метод определения уровня фибриногена по Клауссу. Преимущество этого метода заключается в том, что он позволяет определить только функциональный фибриноген, который принимает непосредственное участие в процессе свертывания. Метод заключается в том, что при добавлении к разбавленной плазме избытка тромбина время свертывания не зависит от факторов свертывания и обратно пропорционально только содержанию фибриногена в исследуемом образце. Причиной повышения содержания фибриногена могут быть реакции воспаления, иммунные и деструктивные процессы.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

На значения показателей гематологического исследования крови влияют многочисленные переменные (вид, пол, возраст, источник животных, условия содержания в клетке, условия окружающей среды, рацион, методика отбора пробы крови, использование анестезии, методика анализа, используемый гематологический анализатор и др.). В этой связи важно проводить любые манипуляции для животных испытуемых и контрольных групп в одинаковых условиях эксперимента.

Несмотря на то, что группы контрольных животных должны всегда включаться в токсикологический эксперимент, часто оказывается полезным при интерпретации данных наличие внутрилабораторных данных исторического контроля, поэтому лаборатории, активно занимающиеся доклиническими токсикологическими исследованиями, должны установить внутренние контрольные диапазоны.

В попытке представить «типичные» диапазоны клинической патологии у животных были использованы литературные данные в дополнение к собственным неопубликованным наблюдениям (табл. 4)¹⁴. Данные представлены для животных тех возрастов, которые чаще всего используются в исследованиях хронической токсичности: 20 недель для мышей и крыс и 5 месяцев для кроликов. Как правило, влияние половой принадлежности либо минимально, либо неочевидно при изучении клинической патологии лабораторных животных. При наличии значимых различий представлены значения для обоих полов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доклиническое исследование хронической токсичности является обязательным этапом изуче-

ния нового лекарственного средства перед его дальнейшей клинической апробацией. Критическое значение при этом приобретают результаты клинико-лабораторных исследований, позволяющие идентифицировать органы-мишени токсического действия лекарственного препарата и оценить степень соответствующих повреждений. Качество получаемых в данных исследованиях результатов напрямую зависит от надлежащего отбора биоматериала, пробоподготовки, правильности проведения анализа.

При выявлении токсических эффектов следует проанализировать возможное влияние методов забора и обработки крови, времени забора, выбора тестов, методов контроля качества и интерпретации результатов тестирования. Следует помнить, что исследуемое вещество может повлиять на состояние, созревание, распределение и/или высвобождение стволовых клеток, функции и/или использование клеток периферической крови. Для адекватной интерпретации результатов гематологического исследования следует учитывать вариабельность нормальной и патологической физиологии животных и ее возможного влияния на определяемые параметры в конкретных условиях токсикологического эксперимента.

Кроме гематологических исследований важную роль при составлении заключения о соотношении риск-польза применения нового лекарственного препарата играют данные биохимических и патоморфологических исследований, детальное обсуждение проведения которых предполагается в следующей части работы.

В заключение отметим, что, несмотря на токсикологический контекст настоящей статьи, приведенная методология с некоторыми правками может также быть использована в лабораториях, занимаю-

Таблица 4. Основные референсные параметры гематологических показателей крови для мышей, крыс и кроликов

Table 4. Main reference values for blood test parameters for mice, rats, and rabbits

Показатель, единицы измерения	Мыши	Крысы	Кролики
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	♂4,0–12,0 ♀3,5–9,7	♂6,0–19,0 ♀5,0–14,0	5,4–11,9
Эритроциты, 10 ¹² /л	8,0–10,0	♂7,0–9,8 ♀6,5–9,2	5,5–7,0
Гемоглобин, г/дл	13,6–16,8	14,0–17,0	12,0–14,7
Гематокрит, %	36,9–46,9	36,0–52,0	37,0–44,5
Средний объем эритроцита, фл	44,5–49,7	50,0–60,0	61,4–68,6
Среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците, пг	16,1–18,6	16,0–20,0	20,2–23,0
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/дл	34,8–38,2	31,0–38,0	32,3–34,9
Тромбоциты, 10 ³ /мм ³	700–1400	800–1200	175–500
Ретикулоциты, % от количества эритроцитов	1,6–3,7	0,2–0,8	0–2,0

¹⁴ Jacobson-Kram D, Keller KA., eds. Toxicological testing handbook: principles, applications, and data interpretation. Informa Healthcare USA, 2006.

щихся проведением доклинических исследований специфической фармакологической активности новых лекарственных препаратов.

Благодарности. Работа проведена без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. The study was performed without 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. Diehl K, Hull R, Morton B, 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 Tox.* 2001;21(1):15-23. PMID: 11180276.
2. Caron A, Lelong C, Bartels T, Dorchies O, Gury T, Chalier C, Benning V. Clinical and anatomic pathology effects of serial blood sampling in rat toxicology studies, using conventional or micro-sampling methods. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2015;72(3):429-39. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.05.022>
3. McGuill MW, Rowan AN. Biological effects of blood loss: implications for sampling volumes and techniques. *ILAR Journal.* 1989;31(4):5-20. <https://doi.org/10.1093/ilar.31.4.5>
4. Zou W, Yang Y, Gu Y, Zhu P, Zhang M, Cheng Z, et al. Repeated blood collection from tail vein of non-anesthetized rats with a vacuum blood collection system. *J Vis Exp.* 2017;(130):e55852. <https://doi.org/10.3791/55852>
5. Poitout-Belissent F, Aulbach A, Tripathi N, Ramaiah L. Reducing blood volume requirements for clinical pathology testing in toxicologic studies-points to consider. *Vet Clin Pathol.* 2016;45(4):534-51. <https://doi.org/10.1111/vcp.12429>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Сорокина Александра Валериановна, канд. биол. наук. *Aleksandra V. Sorokina*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9600-7244>

Алексеева Светлана Витальевна. *Svetlana V. Alekseeva*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-1262-6997>

Еремина Наталья Вахитовна, канд. биол. наук. *Natalia V. Eremina*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7226-5505>

Дурнев Андрей Дмитриевич, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН. *Andrey D. Durnev*, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>

Статья поступила 05.04.2019

После доработки 29.07.2019

Принята к печати 16.08.2019

Article was received 5 April 2019

Revised 29 July 2019

Accepted for publication 16 August 2019

Автопробеги в поддержку национальных целей в области здравоохранения Motor Routes to Support National Healthcare Objectives*



Фотография предоставлена межотраслевым объединением «Фармпробег»

С 27 мая по 3 июня 2019 г. представители фармацевтического профессионального сообщества и средств массовой информации приняли участие в I Всероссийском Фармпробеге и проехали на автомобилях по маршруту Казань — Нижний Новгород — Московская область — Калуга — Владимирская область — Ярославль — Великий Новгород — Санкт-Петербург. Это регионы, где базируются крупнейшие российские фармацевтические кластеры — заводы, выпускающие отечественные лекарственные средства еще с советских времен, и современные новые производственные площадки.

На торжественной церемонии открытия в Казани **Дмитрий Чагин**, председатель правления Ассоциации фармацевтических производителей ЕАЭС, обозначил перспективы: «Сегодня у нашей отрасли существует огромный потенциал для развития, в будущем мы будем способны не только производить лекарственные средства, но и выпускать оригинальные и инновационные препараты. Наша цель сегодня — не просто фокус на импортозамещение, а переход на стадию импортоопережения». Участников приветствовали руководитель межфракционной депутатской группы Государственной думы Федерального собрания Российской Федерации по совершенствованию законодательства в сфере лекарственного обеспечения **Айрат Фаррахов**, ди-

ректор Департамента развития фармацевтической и медицинской промышленности Минпромторга России **Алексей Алехин**, президент кластера «Фарм-МедПолис» **Альберт Гайфуллин** и руководитель бизнес-подразделения «Евразия» АО «Босналек» **Валентина Бучнева**.

Министр Минпромторга России **Денис Мантуров** напутствовал участников автопробега: «Уверен, что каждый пункт маршрута Фармпробега внесет свою лепту в решение актуальных проблем отрасли, поможет нам сделать шаг вперед на пути повышения уровня доступности эффективной и качественной медицинской помощи для наших сограждан».

Ключевым событием первого дня стал круглый стол «Эффективные механизмы лекарственного обеспечения в Российской Федерации. Вопросы качества и доступности в региональном разрезе», модератором которого выступил научный руководитель ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко» **Рамил Хабриев**.

Борис Романов, заместитель генерального директора ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России по научной работе стал спикером круглого стола «Регистрация и вывод новых препаратов на рынок. Социальный аспект и вопросы регулирования», который прошел в Ярославле на шестой день пробега. Борис Романов рассказал о том, что научная экс-



Фотография предоставлена участником Фармпробега Б.К. Романовым

* Conferences organised in a number of Russian cities with participants travelling from city to city by car.



Фотография предоставлена участником Фармпробега Б.К. Романовым

пертиза лекарственных препаратов в России соответствует лучшим мировым практикам и занимает меньше времени, чем в других странах. Обозначил новшества последних лет, итогом которых стало сокращение доли отрицательных экспертных заключений, и указал на изменения, связанные с переходом на правила экспертизы и регистрации по процедурам ЕАЭС.

В ходе мероприятия директор Департамента государственного регулирования обращения лекарственных средств Минздрава России **Филипп Романов** рассказал о готовящихся новшествах, направленных на дальнейшую оптимизацию процедуры регистрации лекарственных препаратов и их дальнейшего обращения.

Восемь дней на колесах, более двух с половиной тысяч километров российских дорог, сотни встреч, открывающих новые горизонты развития и сотрудничества, по-особому сплотили людей. Может быть, поэтому итоговая пресс-конференция «Национальные цели в области здравоохранения. Развитие прорывных технологий» прошла в Санкт-Петербурге в душевной и доверительной обстановке. Участники конференции делились впечатлениями и обсуждали планы на будущее.

«Фармпробег — это новая форма, которая идеально совпала с новым наполнением», — отметил сомодератор проекта главный редактор газеты, интернет-портала и телевидения «Фармацевтический вестник» **Герман Иноземцев**.

Самым важным достижением мероприятия стало эффективное общение всех заинтересованных сторон в условиях неформальной обстановки.

20 июня из Москвы в Санкт-Петербург стартовал Smart-пробег, призванный привлечь внимание к проблемам лечения рака. Мероприятие поддержали как пациентские, так и профессиональные медицинские организации. Smart-пробег (названный по одноименной марке автомобилей, на ко-

торых двигались участники) завершился 21 июня на Международном онкологическом форуме «Белые ночи — 2019», который прошел с 20 по 23 июня в Санкт-Петербурге.

«Мы решили поддержать эту прекрасную инициативу наших коллег, поскольку не понаслышке знаем, насколько важна профилактика онкологических заболеваний. Так, в рамках посещения передвижного маммографического комплекса в Калуге во время Фармпробега-2019, мы выяснили, что раннее выявление рака молочной железы снижает смертность на 30 %. Крайне важно пропагандировать среди населения значимость профилактических мер в отношении онкологических заболеваний и, без сомнения, Smart-пробег этому серьезно способствует», — отметила **Анна Плесовских**, генеральный директор межотраслевого объединения «Фармпробег».

«Подобные проекты в своей основе несут глубокую миссию объединения и развития нашей отрасли, поэтому Институт токсикологии всецело поддерживает идею Фармпробега и Smart-пробега. В следующем году мы планируем принять активное участие в работе деловой программы II Всероссийского Фармпробега, учитывая тот факт, что старт масштабной акции пройдет 25 мая 2020 года в Санкт-Петербурге», — прокомментировал **Максим Иванов**, директор ФГБУН ИТ ФМБА России.

В этих двух масштабных акциях нового формата приняли участие представители всех звеньев фармацевтической отрасли: от разработчиков и производителей, дистрибьюторов, аптечного сегмента до медицинских и пациентских организаций, профильных ассоциаций и фармацевтических масс-медиа.

Итогом автопробегов стало подтверждение на местах готовности российской фармацевтической отрасли к переходу на стадию импортоопережения.

М.Б. Иванов, Б.К. Романов, А.В. Плесовских



Владимир Григорьевич Кукес (к 85-летию со дня рождения)

Vladimir Grigorievich Kukes (on the 85th Anniversary)

8 сентября 2019 года исполняется 85 лет выдающемуся ученому, академику РАН Владимиру Григорьевичу Кукесу — человеку большой эрудиции, организаторских способностей, личного обаяния, которого по праву считают в России одним из основоположников клинической фармакологии как науки.

Деятельность Владимира Григорьевича неразрывно связана с практической работой врача, ученого, педагога. Восемьдесят пять славных и плодотворных лет. Возраст — достойный уважения: есть что вспомнить и чем гордиться.

Владимиром Григорьевичем пройден замечательный путь от участкового терапевта до почетного заведующего кафедрой, Заслуженного деятеля науки Российской Федерации, академика РАН.

В.Г. Кукес родился 8 сентября 1934 года в г. Ленинграде в семье служащих. В 1957 г. окончил лечебный факультет Первого Московского медицинского института им. И.М. Сеченова. С 1961 по 1964 г. прошел обучение в аспирантуре на кафедре пропедевтической терапии у заведующего кафедрой В.Х. Василенко, с 1961 по 1962 г. — курсы повышения квалификации по клинической фармакологии у Б.Е. Вотчала в Центральном институте усовершенствования врачей (ныне — Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования).

Свою профессиональную деятельность В.Г. Кукес начал в качестве врача Магаданской областной больницы (1957–1960 гг.), куда был направлен по распределению после окончания института. После защиты кандидатской диссертации работал ассистентом кафедры пропедевтической терапии 1964–1971 гг. Первого ММИ им. И.М. Сеченова под руководством И.И. Сивкова. В 1970 г. защитил докторскую диссертацию.

В.Г. Кукес является одним из основоположников клинической фармакологии в России. В 1971 г. по его

инициативе в Первом ММИ им. И.М. Сеченова был организован отдел клинической фармакологии, который явился первым подразделением клинической фармакологии в СССР и в 1985 г. был реорганизован в кафедру клинической фармакологии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, которую Владимир Григорьевич возглавлял до 2018 г.

В 1993 г. был избран член-корреспондентом РАМН, в 1999 г. — академиком РАМН (с 2013 г. — академик РАН).

В 1991–1999 гг. возглавлял Научно-исследовательский институт традиционных методов лечения, с 1999 г. — Институт клинической фармакологии. В 2005–2014 гг. директор, а с 2015 г. по настоящее время руководитель научного направления «Клиническая фармакология» Центра клинической фармакологии в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

За долгие годы плодотворной работы под его руководством были созданы многочисленные учебные программы и методические разработки по преподаванию клинической фармакологии в медицинских вузах страны. Многие из нас свои первые шаги в профессиональной деятельности начинали именно с ознакомления с базовыми положениями современной клинической фармакологии, изложенными в его работах. Так, им написаны учебник для лечебных факультетов «Клиническая фармакология», выдержавший шесть переизданий (1991, 1999, 2003, 2006, 2008, 2014, 2018 гг.), учебник для фармацевтических факультетов «Клиническая фармакология и фармакотерапия» (2003, 2008, 2013, 2017 гг.), «Внутренние болезни» (на русском языке: 1981, 1986, 1995 гг.; на испанском языке: 1995 г.), «Практикум по клинической фармакологии» (2011, 2013 гг.).

В.Г. Кукес является автором более 500 научных публикаций, многие из которых опубликованы

в иностранных журналах. При его непосредственном участии созданы 21 монография, 10 учебников, 54 методических и учебных пособия для студентов медицинских вузов и практических врачей.

В.Г. Кукес является членом специализированного диссертационного совета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова по двум специальностям: «Фармакология, клиническая фармакология» и «Внутренние болезни». Под его руководством выполнено 30 докторских и 128 кандидатских диссертаций.

Владимир Григорьевич внес весомый вклад в развитие клинической фармакологии как науки. Впервые в стране им предложено изучение комплексных вопросов клинической фармакологии, включающее исследование фармакокинетики, фармакодинамики, взаимодействия и побочного действия лекарственных средств, разработаны и внедрены методы определения концентрации отечественных и зарубежных лекарственных средств в различных биологических средах организма, доказана необходимость проведения острого лекарственного теста для подбора эффективной и безопасной дозы препарата, прогнозирования его клинического эффекта и риска возможного побочного действия.

Под его руководством и при непосредственном участии впервые в стране стали изучаться метаболизм и биоритмология лекарственных средств, методы гено- и фенотипирования ферментов биотрансформации и транспортеров лекарственных средств, лежащие в основе клинической фармакогенетики, их клиническое значение для оптимизации фармакотерапии, персонализированной медицины, молекулярные механизмы взаимодействия лекарственных препаратов, клиническая фармакология блокаторов медленных кальциевых каналов, бета-адреноблокаторов, антидепрессантов, витаминов в комплексных лекарственных препаратах и биологических жидкостях.

В.Г. Кукес внес большой вклад в развитие отечественной фарминдустрии, участвуя в создании и проведении клинических исследований оригинальных отечественных лекарственных средств: форидона, ортофена, метиоприла, квидитена, этмозина, этацизина, а также в изучении фармакокинетики и фармакодинамики арбидола, небинтана, проксадолола, этоксидола и ряда других лекарственных препаратов. Эти разработки позволили повысить эффективность лечения целого ряда заболеваний.

Труд В.Г. Кукеса отмечен следующими наградами: Государственная премия СССР (1980 г.), премия Совета Министров Латвийской ССР (1990 г.). В 1978 г. Президиум АМН СССР за монографию «Хроническая недостаточность кровообращения» присудил В.Г. Кукесу премию им. Г.Ф. Ланга. В 1999 г. за большой вклад в развитие фармакологии В.Г. Кукес был награжден памятной медалью академика А.А. Лихачева.

В 2004 г. стал лауреатом премии мэра города Москвы в области медицины за разработку нового оригинального отечественного лекарственного средства протексон для лечения наркомании, в 2008 г. лауреатом премии Правительства РФ в области науки и техники, а в 2009 году за лучшую научную работу по фармакологии и токсикологии присуждена Премия РАМН имени Н.П. Кравкова. Награжден медалью за «Трудовую доблесть» в 1980 г., Орденом Почета — в 2005 г. В 2009 г. Лигой малочисленных народов и этнических групп награжден почетным знаком и медалью «За заслуги перед малочисленными народами России». В 2008 г. В.Г. Кукесу присвоено звание Почетного жителя муниципального образования Таганское в городе Москве.

И сегодня Владимир Григорьевич остается генератором идей. Именно он является инициатором развития направления персонализированной медицины с позиции клинической фармакологии: использование фармакогенетического тестирования, оценки активности изоферментов цитохрома P450 и транспортеров лекарственных средств для персонализации фармакотерапии пациентов с социально значимыми заболеваниями. При непосредственном участии В.Г. Кукеса в 2013 г. создан и функционирует первый московский Центр персонализированной медицины, в котором проходят лечение наиболее тяжелые, резистентные к обычной фармакотерапии больные.

Под руководством В.Г. Кукеса активно ведутся поиск и оценка лекарственных средств, модулирующих активность системы элиминации ксенобиотиков и других функциональных систем. Только за последние пять лет с его участием оформлено и зарегистрировано пять действующих патентов на изобретение.

Свой юбилей Владимир Григорьевич встречает за рабочим столом на постах руководителя научного направления «Клиническая фармакология» ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, президента Международной ассоциации клинических фармакологов и фармацевтов, почетного заведующего кафедрой клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Обаятельный, жизнелюбивый, всегда несущий в себе творческий заряд, готовый поделиться своими знаниями и идеями, он из тех людей, встреча с которыми обогащает. Творческая убежденность, страстность в достижении результатов, истинный демократизм и простота в сочетании с высокой культурой и огромной эрудицией снискали признание и уважение всех, кто знает Владимира Григорьевича и работает вместе с ним.

Дорогой Владимир Григорьевич! От всего сердца желаем Вам долгих лет плодотворной жизни, большой радости новых творческих свершений, счастья и благополучия!



**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

