

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ДИНАМИКА

10-ЛЕТНЕ ЖУРНАЛА



№1.2014

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ФАРМАКОДИНАМИКА

№1
2014



Главный редактор

Жердев Владимир Павлович

д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, Москва

Зам. главного редактора

Фирсов Александр Алексеевич

член-корр. РАН, д.б.н., профессор, Москва

Ответственный секретарь

Литвин Александр Алексеевич

д.б.н., Москва

Редакционная коллегия

Белолипецкая

Вера Геннадиевна
к.б.н., Москва

Белоусов Юрий Борисович

член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор, Москва

Бондарева

Ирина Борисовна
д.б.н., Москва

Воронина

Татьяна Александровна
заслуженный деятель науки
РФ, д.м.н., профессор, Москва

Ковалёв Георгий Иванович

д.м.н., профессор, Москва

Кулмагамбетов

Ильяс Райханович
д.м.н., профессор, академик
НАН, Казахстан, Алматы

Мирзоян Рубен Симонович

заслуженный деятель науки
РФ, д.м.н., профессор, Москва

Насонов

Александр Сергеевич
к.б.н., Москва

Раменская

Галина Владиславовна
д.ф.н., профессор, Москва

Сариев Абрек Куангалиевич

д.м.н., профессор, Москва

Соколов

Андрей Владимирович

д.б.н., Москва

Спасов

Александр Алексеевич
академик РАН, д.м.н.,
профессор, Волгоград

Стародубцев

Алексей Константинович
д.м.н., профессор, Москва

Сычёв

Дмитрий Александрович
д.м.н., профессор, Москва

Тюренок

Иван Николаевич
член-корр. РАН, д.м.н.,
профессор, Волгоград

Чистяков

Виктор Владимирович
д.ф.н., профессор, Москва

Выпускающая группа

Белоусов

Дмитрий Юрьевич
Ответственный за выпуск
журнала,

генеральный директор

ООО «Издательство ОКИ»

+7 (910) 449-22-73

+7 (926) 568-17-35

e-mail: clinvest@mail.ru

сайт: www.izdat-oki.ru

Дизайн, верстка:

Design2pro.ru

Афанасьева

Елена Владимировна
Финансовый директор

ООО «Издательство ОКИ»,

подписка

+7 (916) 986-04-65

e-mail: eva88@list.ru

Подписано в печать 01.10.2014 г.

«Тверской Печатный Двор», www.tpd-print.ru

Адрес редакции: 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН

Тел./факс: +7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Журнал «Фармакокинетика и Фармакодинамика» является приложением к журналу «Качественная клиническая практика». Журнал «Качественная клиническая практика» зарегистрирован Комитетом РФ по печати 28.05.2001 г. Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №77-9142. Авторские материалы не обязательно отражают точку зрения редакции. Редакция не несет ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах.

Сайты

www.PharmacoKinetica.ru

www.ClinVest.ru

www.Clinical-Pharmacy.ru

WEB-порталы

www.HealthEconomics.ru

www.Market-Access-Solutions.ru

www.Izdat-Oki.ru

Журналы

Фармакокинетика и Фармакодинамика

Качественная клиническая практика

Клиническая фармация

Центр фармакоэкономических исследований

Market Access Solutions

Издательство ОКИ

СОДЕРЖАНИЕ

От главного редактора

10-летие журнала «Фармакокинетика и фармакодинамика»
(Жердев В.П.) 3

Актуальные обзоры

Изоформа CYP1A2, как составная часть суперсемейства
цитохрома P450
(Новицкая Я.Г., Жердев В.П., Виглинская А.О., Литвин А.А.) 4

Роль лектинов как биологически активных веществ
в фармацевтических препаратах
(Антонюк В.А.) 14

Теоретические основы

Правила проведения исследований биоаналоговых
лекарственных средств (биоаналогов)
(Иванов Р., Секерёва Г., Кравцова О., Кудлай Д., Лукьянов С.,
Тихонова И., Дёмин А., Максумова Л., Никитина И., Обухов А.,
Зайцев Д., Степанов А., Носырева М., Самсонов М.) 21

Исследования биоэквивалентности

Проблемы проведения биоаналитической части
исследований биоэквивалентности
лекарственных препаратов в России
(Хохлов А.Л., Лилеева Е.Г., Сеницина О.А., Спешилова С.А.,
Демарина С.М., Шитов Л.Н.) 37

Исследования фармакокинетики

Роль 3-оксиметаболита феназепам и леваны
в реализации их нейротропного действия
(Воронина Т.А., Ларионов В.Б., Головенко Н.Я.,
Неробкова Л.Н., Гайдуков И.О.) 44

Экскреция лекарственного вещества глутарон —
нового производного глутаминовой кислоты
(Смирнова Л.А., Сучков Е.А., Рябуха А.Ф., Кузнецов К.А.,
Тюренок И.Н., Перфилова В.Н.) 50

Координационное соединение кобальт бис(цитрато)станнат —
результат поиска новых противогриппозных
лекарственных средств
(Матюшкина М.В., Годован В.В., Сейфуллина И.И.,
Гридина Т.Л.) 52

Межлекарственные взаимодействия у новых
противоэпилептических препаратов:
фокус на перампанел и зонисамид
(Белоусов Ю.Б.) 57

Исторический очерк

Фитофармакология: у истоков фармации и клинической
фармакологии
(Сычёв Д.А., Герасимова К.В., Белоусов Д.Ю.) 63

Юбилей

Кукес Владимир Григорьевич — к 80-летию со дня рождения
(От редакции) 74

Информация

Список условных обозначений 76

Краткие правила для авторов 79

Список опубликованных статей в журнале
«Фармакокинетика и Фармакодинамика»
за период с 2004 по 2013 гг. 80

СОДЕРЖАНИЕ

PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS

№1
2014



Chief editor

Zherdev Vladimir

Ph.D., Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Moscow

Deputy chief editor

Firsov Alexander

Corresponding Member RAS, Ph.D., Professor, Moscow

Executive secretary

Litvin Alexander

Ph.D., Moscow

Editorial Board

Belolipetskaia Vera

Ph.D., Moscow

Belousov Yuri

Corresponding Member RAS,
Ph.D., Professor, Moscow

Bondareva Irina

Ph.D., Moscow

Voronin Tatiana

Honored Scientist RF, Ph.D.,
Professor, Moscow

Kovalev Georgy

Ph.D., Professor, Moscow

Kulmagambetov Ilyas

Ph.D., Professor, Academician
National Academy of Sciences,
Almaty, Kazakhstan

Mirzoyan Ruben

Honored Scientist RF, Ph.D.,
Professor, Moscow

Nasonov Alexander

Ph.D., Moscow

Ramenskaya Galina

Ph.D., Professor, Moscow

Sariev Abrek

Ph.D., Professor, Moscow

Sokolov Andrey

Ph.D., Moscow

Spasov Alexander

RAS, Ph.D., professor, Volgograd

Starodubtcev Alex

Ph.D., Professor, Moscow

Sychev Dmitry

Ph.D., Professor, Moscow

Tyurenkov Ivan

Corresponding Member PAS,
Ph.D., Professor, Volgograd

Chistyakov Viktor

Ph.D., Professor, Moscow

Graduate group

Belousov Dmitry

Responsible for this issue
CEO in LLC «Publishing OCl»
+7 (910) 449-22-73
e-mail: clinvest@mail.ru
Site: www.izdat-oki.ru

Design and layout:

Design2pro.ru

Afanasyeva Elena

Chief Financial Officer
LLC «Publishing OCl»
subscription
+7 (916) 986-04-65
e-mail: eva88@list.ru

Signed in print 01.10.2014

Typography: «Tver Printing House», www.tpd-print.ru

Editorial address: 125315, Moscow, ul. Baltiiskay 8

FGBI «Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusova» RAS

Tel. / Fax: +7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Journal «Pharmacokinetics and Pharmacodynamics» is a supplement to the journal «Good Clinical Practice». Journal «Good Clinical Practice» registered by Russian Committee for Press 28.05.2001 Certificate of registration of mass media PI №77-9142. Copyright material does not necessarily reflect the views of the publisher. We take no responsibility for the accuracy of the information contained in promotional materials.

Sites

www.Pharmacokinetics.ru
www.ClinVest.ru
www.Clinical-Pharmacy.ru

WEB-portals

www.HealthEconomics.ru
www.Market-Access-Solutions.ru
www.Izdat-Ok.ru

Journals

Pharmacokinetics and Pharmacodynamics
Good Clinical Practice
Clinical Pharmacy

Center of Pharmacoeconomics Research
Market Access Solutions
Publisher OCl

CONTENTS

From the Editor

10th anniversary of the journal «Pharmacokinetics and pharmacodynamics»
(Zherdev V.P.) 3

Recent Reviews

Isoform CYP1A2, as a part of the cytochrome P450 superfamily
(Novickaya Y.G., Zherdev V.P., Viglinskaya A.O., Litvin A.A.) 4

Role of lectins as biologically active substances in pharmaceutical preparations
(Antonyuk V.A.) 14

Theoretical foundations

Guidelines of research biosimilar drugs
(Ivanov R., Sekareva G., Kravtsova O., Kudlay D., Lukyanov S., Tikhonova I., Demin A., Maksumova L., Nikitina I., Obukhov A., Zaitsev D., Stepanov A., Nosyreva M., Samsonov M.) 21

Bioequivalence studies

Problems of bioanalytical part of bioequivalence studies of drugs in Russia
(Khokhlov A.L., Lileeva E.G., Sinitsyna O.A., Speshilova S.A., Demarina S.M., Shitov L.N.) 37

Pharmacokinetic studies

Role of 3-oximetabolite phenazepam and levan in realize their neurotropic efficacy
(Voronina T.A., Larionov V.B., Golovenko N.Y., Nerobkova L.N., Gaidukov I.O.) 44

Excretion of the drug glutaron — a new derivative of glutamic acid
(Smirnova L.A., Suchkov E.A., Ryabukha A.F., Kuznetsov K.A., Tyurenkov I.N., Perfilova V.N.) 50

Coordination compounds cobalt bis(citrate)stannate — are results of searching new antiinfluenza drugs
(Matyushkina M.V., Godovan V.V., Seyfullina I.I., Grydina T.L.) 52

Drug-drug interactions in the new antiepileptic drugs: focus to perampanel and zonisamide
(Belousov Y.B.) 57

Historical Review

Phytopharmacology: at the origins of pharmacy and clinical pharmacology
(Sychev D.A., Gerasimov K.V., Belousov D.U.) 63

Anniversaries

Vladimir Kukes — the 80th anniversary
(Editorial) 74

Information

List of symbols 76

Brief guidelines for authors 79

List of articles published in the journal «Pharmacokinetics and Pharmacodynamics» for the period from 2004 to 2013 years 80

CONTENTS

10-летие журнала

«Фармакокинетика и фармакодинамика»



Перед Вами юбилейный номер журнала «Фармакокинетика и фармакодинамика», который является логическим продолжением журнала «Клиническая фармакокинетика», вышедшего впервые в 2004 году. На первом этапе мы считали, что наиболее важное внимание необходимо уделить исследованиям клинической фармакокинетики (ФК) как для новых фармакологических веществ (на этапе I-й

фазы клинических испытаний), так и для широко применяемых в медицинской практике лекарственных средств. Что касается исследований ФК в рамках I-й фазы исследований нового препарата, основной задачей является проверка и перенос данных, полученных при доклиническом изучении его ФК и биотрансформации не менее чем на двух видах экспериментальных животных.

При изучении клинической ФК известных лекарственных средств основная цель исследований заключается в поиске ФК детерминант, ответственных за проявление их клинического действия. В случае положительного результата, коррелируемый с эффектом ФК параметр, может служить отправной точкой для разработки оптимальных схем применения того или иного лекарственного средства в клинической практике под ФК контролем. Эту же цель преследует и терапевтический лекарственный мониторинг, где оптимизация применения лекарственного препарата осуществляется путём контроля его концентраций в биоматериале. При этом концентрация действующего вещества (и/или его «активного» метаболита) должна находиться в так называемом «терапевтическом окне», в пределах которого проявляется оптимальный терапевтический эффект с минимальным побочным действием препарата.

Таким образом, из вышесказанного следует необходимость проведения ФК исследований как на этапе создания нового фармакологического вещества и оптимизации его лекарственной формы, так и при разработке оптимальных, рациональных схем применения известных лекарственных средств, в особенности с узкой терапевтической шириной действия.

Именно этим проблемам клинической ФК были посвящены статьи, публикуемые на страницах журнала «Клиническая фармакокинетика». Однако позднее в 2011 г. мы сочли целесообразным расширить круг публикаций в области ФК и фармакодинамических исследований и изменили название журнала на нынешнее. Это связано с тем, что в настоящее время в мировой практике общепризнанно, что доклинические и клинические ФК исследования при создании новых, а также воспроизведённых лекарственных средств, являются обязательными, и они помогают ответить на ряд важных вопросов, возникающих при изучении:

- скорости и степени всасывания лекарственного вещества из места введения;

- биотрансформации лекарственных веществ с выявлением «мажорных» метаболитов, а также активных метаболитов, обладающих, наряду с неизменённым лекарственным веществом такой же или иной фармакологической активностью;
- проницаемости лекарственных веществ через гистогематические барьеры и их доставки к месту действия;
- тканевой доступности лекарственных веществ;
- взаимосвязи между фармакокинетикой и фармакодинамикой изучаемых лекарственных веществ, что может играть важную роль в дальнейшем при переносе данных с животных на человека;
- выбора оптимального пути введения лекарственного вещества с учётом его «первого прохождения» через печень и биологической доступности;
- фармакокинетических исследований различных лекарственных форм и выбор на этой основе оптимальных, обладающих большей биодоступностью, позволяющими рекомендовать их для дальнейшего изучения и внедрения в практику;
- выведения из организма лекарственного вещества и его продуктов превращения.

Кроме того, после получения разрешения на I фазу клинических исследований ФК изучение нового создаваемого лекарственного средства, наряду с безопасностью и переносимостью является обязательным при его изучении на добровольцах. При проведении II и III фаз клинических исследований инновационного средства, проведение его фармакокинетического изучения не является обязательным. Однако после выявления клинической эффективности изучаемого средства и получения разрешения МЗ РФ на его медицинское применение ФК исследования, как и ФК изучение любого лекарственного препарата, в том числе и воспроизведённого — желательны в плане дальнейшей разработки на основе полученных результатов схем рационального и оптимального применения в клинической практике, о чём было сказано выше.

Изменение названия журнала в последние три года способствовало появлению статей, связанных с экспериментальными исследованиями новых и воспроизведённых лекарственных средств, значительному увеличению количества обзорных статей по экспериментальной и клинической ФК, лекарственному взаимодействию, биоэквивалентности и др.

Надеемся на дальнейшее сотрудничество в области фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств и ждём от вас новых интересных научных результатов.

С наилучшими пожеланиями,

Жердев В.П.

**ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН,
г. Москва**

Изоформа CYP1A2, как составная часть суперсемейства цитохрома P450

Новицкая Я.Г., Жердев В.П., Виглинская А.О., Литвин А.А.
ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН, г. Москва

Резюме. Описана роль цитохрома P450 и его изоформы CYP1A2 в метаболизме кофеина. Представлены данные о фармакокинетике кофеина у человека и лабораторных животных. Даны примеры межлекарственного взаимодействия субстратного маркера CYP1A2-кофеина с различными лекарственными веществами.

Ключевые слова: цитохром P450, кофеин, метаболизм, фармакокинетика, межлекарственное взаимодействие.

Isoform CYP1A2, as a part of the cytochrome P450 superfamily

Novickaya Y.G., Zherdev V.P., Viglinskaya A.O., Litvin A.A.

FGBI «Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusov» RAS, Moscow

Summary. The role of cytochrome P450 isoforms CYP1A2 and in the metabolism of caffeine is described. Caffeine pharmacokinetics data in humans and laboratory animals are presented. Examples of drug-drug interactions of substrate marker caffeine with different drugs are given.

Keywords: cytochrome P450, caffeine, metabolism, pharmacokinetics, drug-drug interaction

Автор, ответственный за переписку:

Жердев Владимир Павлович — д.м.н., профессор, заслуженный деятель наук РФ, зав. лабораторией фармакокинетики ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН, г. Москва; адрес: 125315, Москва, ул. Балтийская, 8; тел.: +7(495) 601-21-57 (сл.); моб. +7(916)734-87-63; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Введение

В реакциях биотрансформации I фазы ключевую роль играет цитохром P450.

Цитохром P450 — суперсемейство ферментов, осуществляющих биотрансформацию не только лекарственных средств (ЛС) и других ксенобиотиков, но также эндогенных веществ, участвующих в синтезе стероидных гормонов, холестерина, желчных кислот, простаноидов (тромбоксана A₂, простациклина I₂) [30, 46]. Впервые цитохром P450 из микросом печени крысы выделили Klingenberg M. и Garfincell D. в 1958 г. [56].

Как показали филогенетические исследования, цитохромы P450 появились в живых организмах около 3,5 миллиардов лет назад. Цитохром является гемопротееином — в восстановленной форме он связывает углерода монооксид [77, 83, 104].

У цитохрома P450 имеется множество изоформ — изоферментов, которых выделено уже более тысячи. Они играют важную роль в окислении многочисленных эндогенных и экзогенных соединений [57].

По классификации Nebert D.W., изоферменты цитохрома P450 принято разделять по близости (гомологии) нуклеотид/аминокислотной последовательности на семейства, а последние, в свою очередь, на подсемейства. Изоферменты цитохрома P450 с идентичностью аминокислотного состава более 40% объединены в семейства, которых выделено 36, 12 из них обнаружены у млекопитающих [76, 85]. Изоферменты цитохрома

P450 с идентичностью аминокислотного состава более 55% объединены в подсемейства, которых выделено 39. Семейства цитохромов P450 принято обозначать римскими цифрами, подсемейства — римскими цифрами и латинской буквой. Отдельные изоферменты обозначаются следующим образом: сначала арабская цифра, обозначающая семейство, далее латинская буква, обозначающая подсемейство, в конце указывается арабская цифра, соответствующая изоферменту.

Представители различных семейств и подсемейств цитохрома P450 отличаются субстратной специфичностью и регуляторами активности (ингибиторами и индукторами). Члены отдельных семейств, подсемейств, а также отдельные изоферменты могут иметь перекрёстную субстратную специфичность, а также перекрёстные ингибиторы и индукторы.

Отличительной особенностью изоферментов семейства CYP1 является способность индуцироваться под действием полиароматических углеводородов, в том числе, диоксина и 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксина. В организме человека семейство CYP1 представлено двумя подсемействами: IA и IB.

CYP1A2 — белок, состоящий из 515 аминокислотных остатков, имеющий молекулярную массу 58 кД. Ген CYP1A2 находится в 15 хромосоме. CYP1A2 отсутствует в микросомах фетальной печени и печени новорождённых, однако его находят к 1-3 месяцам жизни, причём к первому году его количество составляет 50% от количества CYP1A2 взрослого [7].

CYP1A2 содержится в основном в печени и отсутствует или слабо выражен во внепечёночных тканях человека [93], крыс и мышей [35].

В печени человека на CYP1A2 приходится 13% общего количества изоформ цитохрома P450 [55, 93] и данная изоформа участвует в метаболизме около 4% ЛС [105].

В метаболизме кофеина изофермент CYP1A2, главным образом, участвует в 3-N-деметилировании кофеина до параксантина (1,7-диметилксантин) [31].

1.1. Метаболизм субстратного маркера CYP1A2 — кофеина (человек и модельные животные). Сходства и отличия

Метаболизм кофеина у человека

Более 90% кофеина метаболизируется изоформой CYP1A2. Большая межиндивидуальная вариабельность активности CYP1A2 влияет на концентрацию субстрата, например, кофеина [66] и эти вариации можно объяснить такими факторами, как пол, раса, генетический полиморфизм и воздействие индукторов [84].

Молярные отношения метаболитов кофеина, используемые в качестве показателя активности CYP1A2 в популяциях, распределяются в соответствии с би- или тримодальным распределением, а также предположительно являются нормальным и однородным/одномодальным распределением [66]. Два разных направления метаболизма (N-деметилирование и C8-гидроксилирование) кофеина катализируются одной изоформой CYP1A2 [34].

CYP1A2 отвечает за 3-N-деметилирование, 1-N-деметилирование и 7-N-деметилирование и фактически может катализировать все реакции связанные с кофеином и его метаболитами. CYP1A2 метаболизирует кофеин до параксантина в среднем на 81,5%, до теобромина на 10,8% и до теофиллина на 5,4%, в то время как CYP2E1 оказывает большое влияние на образование теофиллина и теобромина [54].

Исходя из значений площади под фармакокинетической кривой (AUC) кофеина и каждого из диметилксантинов в плазме крови, Mean±SD степени превращения кофеина в параксантин, теобромин и теофиллин составила 79,6±21,0, 10,8±2,4 и 3,7±1,3%, соответственно [71]. В другом исследовании показано, что среди диметилксантинов в плазме крови параксантин составляет 63,0±13,0%, теобромин — 27,0±15,0% и теофиллин — 10,0±2,6% [87].

Анализ метаболитов в моче человека указывает на то, что в основном образуется параксантин (72%), теобромин (20%) и теофиллин (8%) [11].

Многочисленные исследования метаболизма кофеина на микросомах печени показали, что 3-N-деметилирование до параксантина у человека (основной путь окисления) специфично катализируется CYP1A2. В тоже время предполагается, что другие пути окисления кофеина могут быть опосредованы, по крайней мере, частично, изоформами P450, отличными от CYP1A2. В

экспериментах на микросомах печени с использованием CYP1A-специфических ингибиторов или индукторов, показано, что CYP1A2 человека играет ключевую роль в биотрансформации кофеина, особенно в катализе реакции N-деметилирования [20, 21, 31, 53].

Таким образом, результаты исследований биотрансформации кофеина у человека *in vivo* и *in vitro* показали, что интенсивность его деметилирования уменьшается в ряду: 3-N-деметилирование > 1-N-деметилирование > 7-N-деметилирование. В тоже время необходимо отметить, что количество параксантина, теобромина и теофиллина, регистрируемое в исследованиях *in vivo* и *in vitro* отличается по абсолютным величинам.

Филимоновой А.А., Зиганшиной Л.Е., Чичириковым А.А. описано определение активности изоферментов CYP1A2, 2E1, 3A4 системы цитохрома P450 с использованием ВЭЖХ по содержанию кофеина и его метаболитов в слюне и плазме крови. Период полувыведения кофеина у добровольцев варьировал от 3 до 14 ч, кажущийся клиренс имел значения от 1,17 до 20,50 л/ч. Процентное соотношение параксантина, теобромина и теофиллина составило 57±15, 11±3 и 32±15%, соответственно. Процентное содержание 1,3,7-триметилмочевой кислоты составило 4,0±4,8% от общего числа метаболитов. Величины относительной биодоступности кофеина варьировали от 0,13 до 0,91. Было сделано заключение, что оценка метаболизма кофеина является надёжным тестом для определения функционального состояния печени и активности изоферментов системы цитохрома P450 CYP1A2, 2E1, 3A4 [9].

Krul C., Hageman G. методом ВЭЖХ проанализировали содержание кофеина (1,3,7-триметилксантин (137K)) и его пяти метаболитов в моче: параксантин или 1,7-диметилксантин (17K), 1,7-диметилурациловая кислота (17Y), 1-метилксантин (1K), 1-метилурациловая кислота (1Y) и 5-ацетиламино-6-формалино-3-метилурацил (АФМУ). Применялась стандартизированная процедура для перорального приёма и отбора мочи. Активность изоформы CYP1A2 рассчитывали по $MO (АФМУ + 1K + 1Y) / 17Y$. При использовании данной процедуры, метаболические отношения были определены для четырёх групп людей: здоровые, некурящие женщины, принимающие оральные контрацептивы, (5) и не принимающие контрацептивы (5), здоровые некурящие мужчины (9) и дети (7). Результаты данного исследования сопоставимы с литературными данными для людей с похожими характеристиками. Значимое повышение МО обнаружено у мужчин (Mean±SD составляет 4,87±0,47) по сравнению с женщинами (Mean±SD 3,62±0,91); $p=0.005$, Mann-Whitney). Для остальных групп испытуемых статистически значимых отличий в активности фермента выявлено не было [65].

В работе Begas E. и соавт. на 44 добровольцах (21 мужчина, 23 женщины) оценивали активность CYP1A2, CYP2A6, ксантиноксидазы (ХО) и N-ацетил-трансферазы-2 (NAT-2). Пробы образцов мочи были проанализированы через 6 ч после приёма 200 мг

кофеина (в течение 30 ч соблюдалась метилксантиновая диета). Основные метаболиты кофеина в моче — это 1У, АФМУ, 1К, 17У и 17К. Активность CYP1A2, CYP2A6, XO и NAT-2 оценивали по метаболическим отношениям (АФМУ+1У+1К)/17У, 17У/17К, 1У/(1+1У) и АФМУ/(АФМУ+1У+1К), соответственно. Курение повлияло только на CYP1A2, а гендерная принадлежность не оказывала никакого влияния на активность фермента [19].

Dobrinas M. и соавт. описали высокую вариабельность активности изоформы CYP1A2 и влияние на неё курения. Активность CYP1A2 определяли соотношением параксантин/кофеин у 184 курильщиков, 113 из которых воздерживались от курения в течение 4 недель. Участников исследования генотипировали на 22 полиморфизма в 12 генах. Установлено, значительное влияние курения на индуцибельность ряда полиморфизмов изофермента CYP1A2. В тоже время у других курильщиков табачный дым не вызывал увеличения интенсивности биотрансформации кофеина, то есть индукцию CYP1A2. Это связано с тем, что в условиях генетически детерминированного снижения активности CYP1A2, табачный дым не способен индуцировать этот изофермент [43].

Метаболизм кофеина у крыс и других животных

Содержание изофермента CYP1A2 в микросомах печени обезьян и собак, не получавших лечение индуцирующими данную изоформу препаратами, значительно ниже чем у человека [51, 88]. У обезьян одного рода, но разных видов ферменты семейства CYP1A могут отличаться по ряду свойств. Содержание изофермента CYP1A2 в гепатоцитах печени макаки-крабоеда намного ниже, чем у макаки-резуса. В тоже время наибольшей гомологией к человеку по аминокислотному составу изоферментов цитохрома P450 обладают приматы. При этом показано довольно сильное сходство последовательности аминокислот с CYP1A2 человека (95%), но использование обезьян в качестве экспериментальных моделей обходится дорого, поэтому большинство исследований проводится на крысах и кроликах [4, 46, 92].

Изучение изоферментов цитохрома P450 в эксперименте на животных имеет не только научное значение, но также может быть использовано в экспертизе новых ЛС, например, в качестве доклинического исследования взаимодействия ЛС на уровне биотрансформации [79].

В течение многих лет на крысах изучается роль цитохрома P450 в метаболизме кофеина. Исследования проводятся с использованием высоких концентраций субстрата, преимущественно неспецифических индукторов или ингибиторов P450 [38, 39], часто без включения всех изоформ P450 [50, 78] или всех метаболических реакций кофеина [39].

На группе мышей с недостаточной экспрессией CYP1A2 (далее — CYP1A2^{-/-}) проведено исследование роли CYP1A2 в фармакокинетике и метаболизме

кофеина. Период полувыведения кофеина из крови был в семь раз больше у животных CYP1A2^{-/-}, чем у мышей дикого типа. В то же время клиренс был в восемь раз ниже. Между изучаемыми группами мышей не обнаружено статистически достоверно отличающихся параметров, влияющих на фармакокинетику, таких как креатинин, АЛТ, АСТ, щелочная фосфатаза и билирубин, или альбумин. Активность других изоформ цитохрома P450 (CYP2A, 2B, 2C, 2E1, и 3A) у этих двух групп мышей также не отличалась. 3-N-деметилированные метаболиты кофеина, характерные для CYP1A2, (особенно 1-метилксантин, и 1-метилурат) были также обнаружены в моче CYP1A2^{-/-} животных, и у 40% мышей дикого типа. Эти данные показывают, что кофеин у мышей дикого типа метаболизируется, прежде всего, CYP1A2 [31].

Исследования на крысах показали, что кофеин выступает в качестве индуктора CYP1A2. Можно предположить, что индукция CYP1A2 кофеином может частично влиять на привыкание к кофеину [3]. Однако остаётся неизвестным, является ли кофеин индуктором данной изоформы у человека. Результаты исследований на клетках HepG2 показали, что кофеин не является активатором рецепторов ароматических углеводов, основного фактора транскрипции, участвующего в регуляции CYP1A2. Кроме того, CYP1A2 не индуцирует экспрессию в первичных гепатоцитах человека в концентрациях, достигаемых при обычном приёме кофе. С другой стороны, 9-кратное увеличение экспрессии CYP1A2 кофеином наблюдалось в гепатоцитах крыс. Эти результаты предполагают, что обычный приём кофе не вызывает индукцию CYP1A2 у человека, и, скорее всего, способствует развитию привыкания к кофеину у людей [100].

Одним из главных различий между человеком и крысой, как видами, заключается в общей экскреции кофеина и метаболитов (без учёта деметилированных метаболитов), которые составляют до 5 и 42% от введённой дозы, соответственно [12, 13].

В тканях печени крысы обнаружены только первичные метаболиты, при этом 1-N-деметилирование является основным путём метаболизма, образуя теобромин, содержание которого составляет 51% от обнаруженных диметилксантинов, и 1,3,7-DAU является важным метаболитом, соответствующим 9,7% от общего содержания метаболитов кофеина [23].

В то же время в исследованиях *in vitro* (на микросомах печени) было установлено, что C-8-гидроксилирование — доминирующий метаболический путь у крыс [10, 12]. Показано, что C-8-гидроксилирование кофеина является основной метаболической реакцией в микросомах печени крыс и печёночных долях (около 70%) по сравнению с 1-N- и 7-N-деметилированием (8-9%) и 3-N-деметилированием (около 13%), при концентрации субстрата 100 мкМ [63].

В опытах *in vitro* показано, что основные различия в метаболизме кофеина у крыс и человека заключаются

в выраженности 3-N-деметилирования и 8-гидроксилирования, а также в количественном и качественном влиянии изоформы P450 на некоторые пути окисления. В то время как у человека 3-N-деметилирование количественно является основным путём окисления, C-8-гидроксилирование — доминирующий метаболический путь у крыс. Обе эти основные реакции у двух видов специфично катализируются CYP1A2. CYP1A2 вносит значительный вклад в образование некоторых вторичных метаболитов кофеина [31, 63].

Таким образом, вклад CYP1A2 в метаболизм кофеина наиболее высок при 3-N-деметилировании у человека и C-8-гидроксилировании у крыс по сравнению с другими изоформами P450. По вышеуказанным причинам, кофеин можно применить в качестве маркера для оценки активности CYP1A2 как в микросомах печени человека, так и в микросомах печени крыс с использованием разных реакций: 3-N-деметилирования у человека и C-8-гидроксилирования у крыс [63, 64, 80].

В опытах *in vitro* показано, что кофеин окисляется по нескольким положениям своей химической структуры: помимо 3-N-деметилирования до параксантина, он проходит 1-N-деметилирование, 7N-деметилирование, и C-8-гидроксилирование (до теобромина, теофиллина, и 1,3,7-триметилмочевой кислоты, соответ-

ственно) (рис. 1). При этом C-8-гидроксилирование кофеина является основной метаболической реакцией в микросомах печени крыс (около 70%). Напротив, 3-N-деметилирование являлось главным окислительным путём кофеина в микросомах печени человека (85%) по сравнению с 1-N-деметилированием (75%) и 7-N-деметилированием (38,7%) и C-8-гидроксилированием (28,7%), при измерении концентрации субстрата 100 мкМ [21].

Необходимо отметить, что подавляющее большинство исследований по изучению биотрансформации кофеина было проведено *in vitro* на микросомах клеток печени человека и крыс [64, 98]. В этих исследованиях показано, что основное направление биотрансформации кофеина у человека — 3-N-деметилирование с образованием основного метаболита параксантина, у крыс — C-8-гидроксилирование с образованием основного метаболита 1,3,7-триметилмочевой кислоты.

Однако в исследованиях на целостном организме крыс получен целый ряд данных, противоречащих полученным данным в опытах *in vitro*. Так, в частности, установлено, что в моче крыс основной метаболит — параксантин [83]. В плазме крови и мозге крыс наряду с неизменённым кофеином обнаружены его деметилированные метаболиты. В то же время 1,3,7-триметилмочевая кислота не определялась [102].

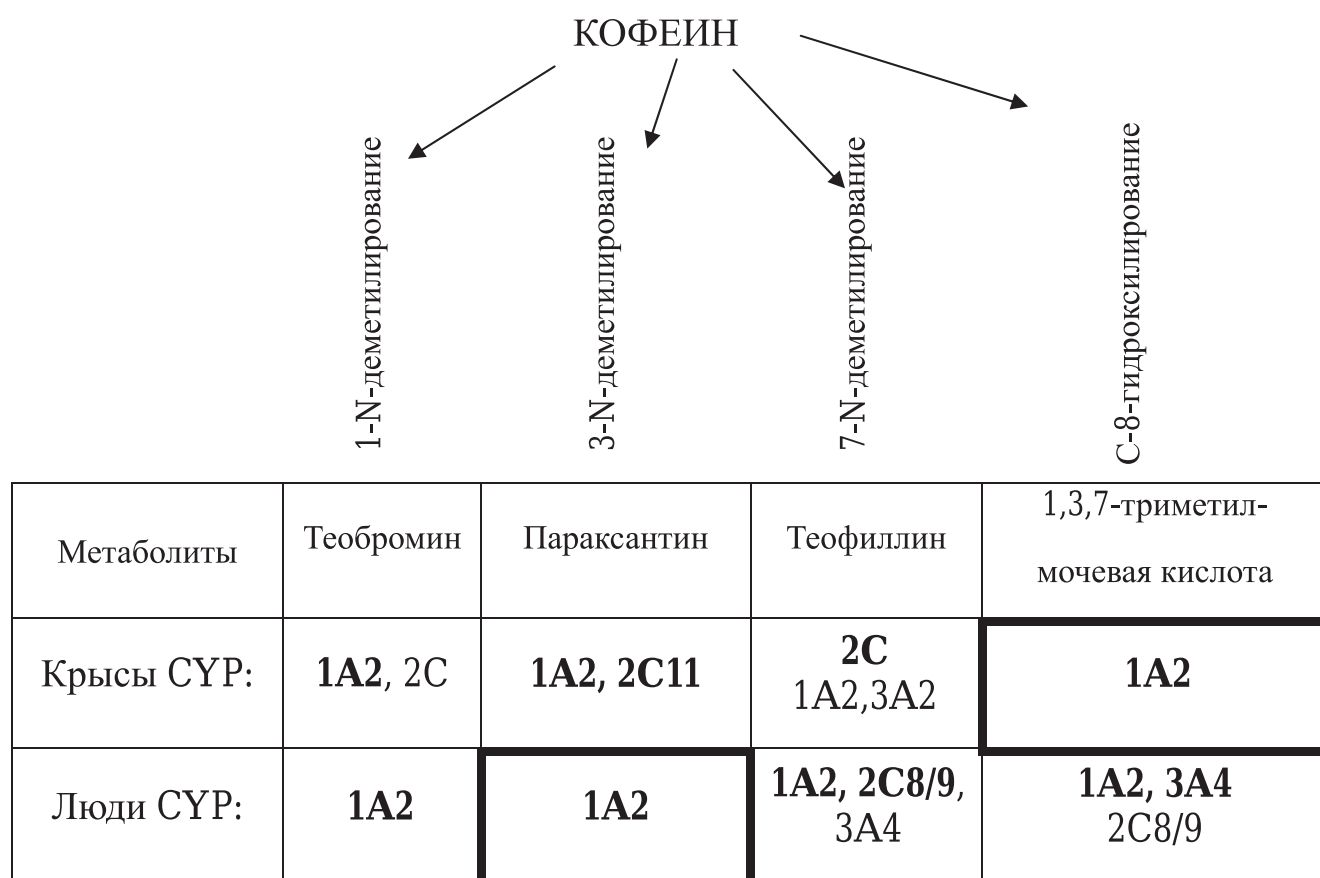


Рис. 1. Вклад изоформ цитохрома P450 в метаболизм кофеина в микросомах печени крыс и человека *in vitro* [105]. Выделенные рамки демонстрируют основные метаболические пути кофеина у двух видов. Основные изоформы P450 выделены жирным шрифтом

Известно, что у людей CYP1A1, 1A2, 2C8, 2C9, 2D6 и 3A4 и у крыс CYP1A1, 1A2, 2C13, 2C11, 2D1 и 3A1(23) белки гомологичны на 78%, 70%, 68%, 77%, 71% и 73% соответственно [68, 72].

Исследования на животных могут быть полезны, так как в случае получения положительного результата, появляются новые модели для исследования.

1.2. Фармакокинетика субстратного маркера CYP1A2-кофеина и его метаболитов (человек и модельные животные). Сходства и отличия

Главными источниками кофеина, по крайней мере, у взрослых людей, являются кофе и чай. В разных количествах кофеин встречается в какао, безалкогольных напитках типа кока-колы, матэ и в различных рецептурных и безрецептурных ЛС. На основе данных о балансе питательных веществ, ежедневное потребление кофеина на душу населения в Европе и Северной Америке составляет более чем 200 мг/сутки [57].

Несмотря на широкое использование, немного известно о том, как влияет генетика на потребление, быструю реакцию или долгосрочные эффекты кофеина. Традиционно кофеин рассматривается как безопасный препарат, и при пероральном приёме он быстро и полностью абсорбируется из ЖКТ [6, 32, 98].

Благодаря высокой липофильности кофеин всасывается из ЖКТ на 99%, и достигает пика концентрации в сыворотке крови через 30-60 мин. Быстро распределяется по всему организму после приёма внутрь и проникает через гематоэнцефалический барьер путём диффузии, а также за счёт поглотительной транспортной системы. Константа степени ионизации (рКа) кофеина равна 14, коэффициент распределения в липидах (log P) 0,85. Как следствие, молекула существует преимущественно как слабое основание в среде желудочного сока (рН = 2-3) [89]. Умеренно липофильный характер кофеина позволяет ему проходить через все биологические мембраны [23, 24].

В целом скорость всасывания и биодоступность кофеина у людей, собак, кроликов, крыс и мышей подобны [101]. У животных и человека всасывание кофеина из ЖКТ в системный кровоток происходит быстро и полно [14]. Чтобы оценить межвидовую фармакокинетику кофеина, теобромина, теофиллина и параксантина (всасывание, биодоступность, экскрецию) в общем сходных у человека, собак, кроликов, крыс и мышей следует учитывать межвидовые различия в путях метаболизма и ферментах, вовлечённых в этот процесс [101].

Кофеин, принимаемый человеком и вводимый животным, распределяется во всех жидкостях организма и проникает через все биологические барьеры. Кофеин и его деметилированные метаболиты не аккумулируются в органах и тканях и в значительной степени метаболизируются печенью, в результате чего в моче человека регистрируется менее 2% неизменённого кофеина от введённой дозы [47].

Фармакокинетика кофеина в плазме крови и спинномозговой жидкости сходна [100].

Можно наблюдать дозозависимую и дозозависимую фармакокинетику кофеина и других метилксантинов. Объясняется этот феномен насыщением метаболических путей и ослаблением элиминации из-за низкой активности ферментов и заболеваниями печени. Эти эффекты дозозависимой кинетики, отмеченной у животных, можно объяснить насыщением метаболической трансформации кофеина [12, 25]. Линеиную или нелинейную фармакокинетику кофеина можно наблюдать в зависимости от способа и скорости введения [67]. Системный клиренс общего кофеина равнялся $3,83 \pm 1,94$ и $1,14 \pm 0,80$ мл/мин/кг и несвязанного кофеина — $5,09 \pm 2,60$ и $1,41 \pm 0,71$ мл/мин/кг, у взрослых кроликов и крольчат, соответственно [75].

Ожирение, физическая нагрузка, заболевания, курение и взаимодействие с другими ЛС влияют на элиминацию кофеина и метилксантинов благодаря индукции или ингибированию CYP1A2. Хроническое потребление или запрет на приём кофеина человеком не сильно влияет на его распределение, но компоненты пищи (например, травяные чаи), а также алкоголь модифицируют фармакокинетику кофеина и его метаболитов. Использование метаболических отношений метаболитов кофеина в плазме крови и/или моче, фенотипирование активности различных ферментов, таких как монооксигеназ цитохрома, N-ацетилирования, 8-гидроксилирования, ксантиноксидазы, стало ценным инструментом для идентификации полиморфизмов и понимания индивидуальных вариаций и возможных связей с рисками для здоровья [47].

Период полувыведения кофеина составляет от 3 до 12 ч (4-6 ч в среднем). У лиц с нарушениями функции печени наблюдается задержка выведения кофеина, у таких пациентов период полувыведения составляет $23,3 \pm 14,06$ ч. Кофеин связывается с белками плазмы на 25-36%, и кажущийся объём его распределения составляет от 0,5 до 0,75 л/кг у человека и 0,9 л/кг у крысы, что говорит о том, что это вещество распределяется в общем объёме жидкостей в организме [15, 23, 24, 28]. Кофеин может проникать в мозг путём простой диффузии и путём диффузии с помощью молекулы-переносчика [74].

Кажущийся клиренс после перорального приёма составляет в среднем 0,02-0,14 л/ч/кг, кажущийся объём распределения у взрослых колеблется от 0,3 до 1,0 л/кг. Выводится кофеин в виде метаболитов (теобромина, теофиллина, параксантина) почками, 1-5% кофеина выводятся в неизменном виде [1, 2, 5, 10, 37, 43].

Фармакокинетика кофеина может изменяться под действием препаратов, влияющих на изменение активности CYP1A2 (человек и крысы) или CYP2C (крысы), например, путём аутоиндукции или при помощи определённых антидепрессантов и нейролептиков. Таким образом, пациентам, принимающих кофеин-содержащие препараты, или любителям кофе, принимающих

лекарства, которые взаимодействуют с CYP1A2, может потребоваться корректировка дозы приёма кофеина внутрь или прекращение приёма.

Установлено, что кофеин и его метаболиты являются сильными ингибиторами переносчиков органических анионов у человека [95], которые встречаются в лёгких, почках, и яйцах человека [68], а также в гематоэнцефалическом барьере, что было показано на культуре эндотелиальных клеток человеческого мозга [55]. Период полувыведения кофеина составляет 4-5 ч, но этот параметр может быть пролонгирован у пациентов с заболеваниями печени, у новорождённых (до 100 часов), или во время беременности [35, 60]. Его биотрансформация ограничивается главным образом печенью (связано с активностью CYP1A2), а выведение неизменённого соединения почками составляет 3% [33, 59].

Моделирование, основанное на исследованиях близнецов, показывает, что генетика играет важную роль в индивидуальной изменчивости при употреблении кофеина и при прямом воздействии кофеина. Фармакодинамические и фармакокинетические полиморфизмы были обусловлены действием кофеина. Эти данные могут помочь в будущем при исследовании роли генетики в формировании острых и хронических эффектов кофеина [103].

Lelo A., Birkett D.J. и соавт. изучали фармакокинетику кофеина, параксантина, теобромина и теофиллина на 6 здоровых добровольцах мужского пола после перорального приёма каждого компонента в отдельных случаях. Общий плазменный клиренс кофеина и параксантина имел приблизительно одинаковые значения (2,07 и 2,20 мл/мин/кг, соответственно) также, как и для теофиллина и теобромина (0,93 и 1,20 мл/мин/кг, соответственно). Плазменный клиренс несвязанного кофеина и параксантина был также близок по величине (3,11 и 4,14 мл/мин/кг, соответственно), как и для теофиллина и теобромина (1,61 и 1,39 мл/мин/кг, соответственно). Периоды полувыведения теофиллина и теобромина (6,2 и 7,2 ч, соответственно) были значительно больше периодов полувыведения кофеина и параксантина (4,1 и 3,1 ч, соответственно). Кажущийся объём распределения в стационарном состоянии теофиллина (0,441 л/кг) был меньше, чем у других метилксантинов (0,630-0,721 л/кг). Однако объём распределения свободной фракции теофиллина (0,771 л/кг), оказался таким же, как и для теобромина (0,791 л/кг), в то время как для параксантина (1,180 л/кг) этот параметр был близок по значению к объёму распределения кофеина (1,061 л/кг) [70].

Изофермент CYP1A2 метаболизирует ряд ЛС, включая клозапин, оланзапин и теофиллин. Эти лекарственные препараты демонстрируют высокую степень межиндивидуальных различий фармакокинетического ответа. Измерение активности CYP1A2 *in vivo* может являться важным инструментом для выявления факторов, влияющих на изменчивость фармакокине-

тики препарата, и помогать в подборе дозы препаратов, метаболизируемых данной изоформой. До настоящего времени кофеин остаётся единственным соединением, применяемым для проведения фенотипирования CYP1A2 *in vivo* [7].

Существует большое количество матриц (биологические жидкости, содержащие препарат, и/или метаболита/ы) для измерения активности CYP1A2 с помощью кофеина. На данный момент потенциальное влияние периода метилксантинового воздержания на фенотипирование CYP1A2 и воздействие кофеина на определение активности CYP1A2 являются актуальными вопросами [82].

В исследовании *Teekachunhatean S. и соавт.* проведён сравнительный анализ фармакокинетики кофеина после введения в виде клизмы и приёма одной порции кофе. Относительная биодоступность кофеина после кофеиновой клизмы, была в 3,5 раза меньше, чем после перорального потребления кофе [97].

Работа *Wilkinson J.M. и соавт.* посвящена распределению кофеина и его метаболитов (теофиллина, теобромина, параксантина) в мозге 20-дневного плода крысы и плазме крови взрослого человека. Установлено, что значения AUC кофеина в мозге плода крысы и плазме крови взрослого человека не отличались для мозга и плазмы при одинаковой дозировке (5 или 25 мг/кг). Однако метаболиты кофеина накапливались в мозге плода при введении обеих доз, в результате чего наблюдалось трёхкратное увеличение образования метаболитов по сравнению с уровнем кровообращения плода. Поскольку многие аспекты метаболизма кофеина схожи у крыс и человека, предполагается, что потреблению кофеина во время беременности должно уделяться особое внимание [102].

Изучено влияние кофеина на суточные ритмы частоты сердечных сокращений (ЧСС), температуру тела (ТТ) и двигательную активность (ДА) у крыс в зависимости от времени введения препарата, а также возможные механизмы, связанные с фармакокинетикой кофеина. В ходе исследования ЧСС, ТТ и ДА измеряли каждые 10 мин радиотелеметрически. Исследование разделили на три периода: период контроля Р1, период лечения Р2 и восстановительный период Р3. Во время Р2, крысы из утренней (М(рк)) и вечерней (Е(рк)) групп получали такую же дозу, как и животные телеметрического исследования. В последний день Р2, были взяты образцы крови 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 и 24 ч после утреннего и вечернего введения в целях определения фармакокинетики М(рк) и Е(рк). Результаты показали, что утреннее введение кофеина подавило суточный ритм ЧСС и изменил суточную амплитуду ДА и ТТ, а вечернее введение не подавило суточный ритм ДА, но изменил амплитуду и акрофазы трёх ритмов, с указанием хронофармакологического эффекта. С учётом фармакокинетических эффектов, площадь под кривой (AUC) была значительно ниже у крыс Е(рк) по сравнению с М(рк), за счёт увеличения общего плазменного

клиренса и объёма распределения. Сделан вывод, что хронофармакокинетические эффекты кофеина могут объяснить, по крайней мере, частично, наблюдаемые кофеин-индуцированные изменения суточных ритмов [81].

1.3. Межлекарственное взаимодействие субстратного маркера CYP1A2-кофеина с различными лекарственными веществами

В данном разделе описана главная роль печени в метаболизме кофеина и многих ЛС, представлены примеры этих взаимодействий. Клинические исследования показали частое взаимодействие лекарств, приводящее к замедлению элиминации кофеина и снижению клиренса, как кофеина, так и его метаболитов. Средства традиционной медицины, а также пищевые добавки из растительных экстрактов могут влиять на фармакокинетику кофеина. На здоровых добровольцах с использованием кофеина в качестве тест-препарата изучено влияние натрия таншинуна ПА сульфоната — водорастворимого производного препарата китайской медицины даншена на активность CYP1A2. Активность CYP1A2, определяемая величиной МО параксантина к кофеину в течение 6 ч в плазме крови, увеличилась на 41,1%, AUC кофеина достоверно снизилась на 13,3%, а AUC параксантина достоверно выросла на 17,4% [34].

CYP1A2 метаболизирует многие препараты, например, такие как фенацетин, такрин, ропинирол, ацетаминофен, рилузол, теofilлин и кофеин [18].

Взаимодействие между флувоксамином (50-100 мг/сутки) и кофеином (200 мг перорально) у здоровых добровольцев показало снижение общего клиренса кофеина с 107 до 21 мл/мин и рост периода полувыведения с 5 до 31 ч. Клиренс N3-, N1- и N7-деметилированных метаболитов кофеина снижался с 46 до 9 мл/мин, с 21 до 9 мл/мин и с 14 до 6 мл/мин, соответственно [58].

Известно, что грейпфрутовый сок является ингибитором CYP3A4 [8]. Изучено влияние грейпфрутового сока на метаболизм кофеина и гемодинамические эффекты потенциального пищевого взаимодействия. В данном перекрёстном исследовании участники (10 добровольцев с нормальным давлением) получали кофеин (3,3 мг/кг) с водой или с грейпфрутовым соком. Концентрации кофеина в сыворотке крови определяли в течение 24 ч. В другой фазе испытаний, 6 из 10 добровольцев принимали кофеин с несколькими дозами грейпфрутового сока. Амбулаторный мониторинг артериального давления проводился в течение 12 ч для оценки гемодинамических эффектов. Значения AUC (среднее значение $\pm$ SD) для группы кофеин-вода, кофеин-сок, кофеин-многократно грейпфрутовый сок составляли $47,0 \pm 10,8$, $48,7 \pm 15,2$ и $49,6 \pm 7,0$ мкг/мл $\times$ ч, соответственно. В величинах систолического, диасто-

лического давления, процентного соотношения времени с диастолическим давлением более 90 мм рт. ст. статистически значимых различий не наблюдалось. Таким образом, сделан вывод, что грейпфрутовый сок не оказывает влияния на фармакокинетику кофеина или гемодинамические эффекты [73].

Известно, что настойка зверобоя так же является индуктором CYP3A4. После применения зверобоя (капсулы эсберикум, 240 мг/сутки экстракта, 3,5 мг гиперфорина) или плацебо не выявлено статистически значимых различий в значениях AUC кофеина и параксантина между группами, получавшими плацебо и зверобой. Таким образом, сделан вывод, что экстракт зверобоя в различных лекарственных формах, не оказывает влияния на фармакокинетику кофеина и параксантина [16].

Однако распределение флувоксамина (50 мг/сутки перорально), изученное на здоровых некурящих добровольцах мужского пола, которые также получали кофеин (200 мг перорально), показало отсутствие значимой корреляции между клиренсом кофеина и флувоксамина или между МО параксантина-кофеин (концентрации измеряли в течение 6 ч в сыворотке крови) и клиренсом флувоксамина [94], что находится в противоречии с предыдущими работами *in vitro* [27] и *in vivo* [58].

Другие ЛС, которые могут взаимодействовать, включают антипсихотик клозапин [43], противовоспалительные препараты идроксиламид [26] и рофекоксиб [17] и такрин [46].

Показано, что метаболизм кофеина ингибируется антибиотиками производными хинолона. Исследования *in vitro* распределили вероятность таких взаимодействий в следующем ряду: эноксацин — 74,9%, ципрофлоксацин — 70,4%, налидиксовая кислота — 66,6%, пипемидовая кислота — 59,3%, норфлоксацин — 55,7%, ломефлоксацин — 23,4%, пефлоксацин — 22,0%, амифлоксацин — 21,4%, дифлоксацин — 21,3%, офлоксацин — 11,8%, темафлоксацин — 10,0%, флороксацин — не оказывает влияния. Исследования *in vivo* показали, что вероятность взаимодействия с кофеином этих ЛВ убывает в ряду: эноксацин > ципрофлоксацин > норфлоксацин > офлоксацин > ломефлоксацин [48]. Среди фторхинолонов эноксацин и, в меньшей степени, ципрофлоксацин и пефлоксацин ингибируют метаболизм кофеина. Предложено использовать невзаимодействующие хинолоны, например, офлоксацин и норфлоксацин [51, 61].

Другие антидепрессанты и ЛС для лечения тревожных расстройств, например, венлафаксин, алпразол, золпидем и триметадон, а также стимулятор бодрствования армодафинил статистически не влияли на фармакокинетику кофеина и его метаболитов [11, 39, 41, 90, 96].

Литература

1. Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. Москва: Универсум публишинг, 1997. — 531 с.
2. Белоусов Ю.Б., Леонова М.В. Основы клинической фармакологии и рациональной фармакотерапии. Москва: Бионика, 2002. — 368 с.
3. Грибакина О.Г., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Жердев В.П., Середенин С.Б. Оценка фармакокинетического взаимодействия афобазола с препаратом-субстратом цитохрома CYP2C9 в эксперименте in vivo. Экспериментальная и клиническая фармакология. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т. 76, № 3. С. 35-37.
4. Игнатъев И.В., Коман И.Э., Сычев Д.А., Казаков Р.Е., Фалынскова И.Н., Кулес В.Г. Сравнительный анализ распределения частот генотипов полиморфного маркера C3434T гена MDRI, кодирующего транспортер лекарственных средств гликопротеин-P. // Материалы 5-ой Международной конференции «Клинические исследования лекарственных средств». — 2005. С. 82-83.
5. Каркищенко Н.Н., Хоронько В.В., Сергеева С.А., Каркищенко В.Н. Фармакокинетика. Ростов н/Д: Феникс, 2001. — 384 с.
6. Катицунг Г.Б. Базисная и клиническая фармакология. — Санкт-Петербург: Невский Диалект, 1998. — Т.1. С. 73-68.
7. Кулес В.Г. Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство. Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2009. — 432 с.
8. Сычев Д.А., Аникин Г.С., Александрова Е.К. и др. Фармакокинетическое взаимодействие лекарственных средств с фруктовым и соками. Клиническое значение. // Клиническая фармакология и фармакоэкономика. 2008.Т.1, №2. С. 57-67.
9. Филимонова А.А., Зиганшина Л.Е., Чичиров А.А. Определение активности изоферментов системы цитохрома P450 1A2, 2E1, 3A4 с использованием кофеина в качестве тест-субстрата. // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения, 2007. №4, С. 43-44.
10. Хабриев Р.У., Чучалин А.Г., Зиганшина Л.Е. Лекарственные средства (справочное издание). Москва: ГЭОТАР-МЕДИА, 2005. — 563 с.
11. Amchin J., Zarycranski W., Taylor K.P., et al. Effect of venlafaxine on CYP1A2-dependent pharmacokinetics and metabolism of caffeine. // J Clin Pharmacol., 1999, Vol. 39, №3, P. 252–259.
12. Arnaud M.J., Welsch C. Caffeine metabolism in human subjects. In: Proceedings of the ninth international colloquium on science and technology of coffee. // Ninth International Colloquium on Science and Technology of Coffee. London: Association Scientifique Internationale du Cafe, London. — 1980, P. 385–395.
13. Arnaud M.J. Comparative metabolic disposition of [1-Me14C] caffeine in rats, mice, and Chinese hamsters. // Drug Metab. Dispos., 1985, Vol. 13, №4. P. 471–478.
14. Arnaud M.J. Identification, kinetic and quantitative study of [2-14C] and [1-Me-14C] caffeine metabolites in rat's urine by chromatographic separations. // Biochem. Med., 1976, Vol. 16, №1, P. 67–76.
15. Arnaud M.J. The pharmacology of caffeine. // Prog. Drug Res., 1987, Vol. 31, P. 273–313.
16. Arold G., Donath F., Maurer A., et al. No relevant interaction with alprazolam, caffeine, tolbutamide, and digoxin by treatment with a low-hyperforin St John's wort extract. // Planta Med., 2005, Vol.71, №4. P. 331–337.
17. Backman J.T., Karjalainen M.J., Neuvonen M., et al. Rofecoxib is a potent inhibitor of cytochrome P450 1A2: studies with tizanidine and caffeine in healthy subjects. // Br. J. Clin. Pharmacol., 2006, Vol. 62, №3, P. 345–347.
18. Baldwin S.J., Bloomer J.C., Smith G.J., et al. Ketoconazole and sulphaphenazole as the respective selective inhibitors of P4503A and 2C9. // Xenobiotica, 1995, Vol. 25, №3, P. 261-270.
19. Begas E., Kouvaras E., Tsakalof A., et al. In vivo evaluation of CYP1A2, CYP2A6, NAT-2 and xanthine oxidase activities in a Greek population sample by the RP-HPLC monitoring of caffeine metabolic ratios. // Biomed. Chromatogr., 2007, Vol. 21, №2, P. 190-200.
20. Berthou F., Flinois J.P., Ratanasavanh D., et al. Evidence for the involvement of several cytochromes P-450 in the first steps of caffeine metabolism by human liver microsomes. // Drug Metab. Dispos., 1991. Vol. 19, №3, P. 561–567.
21. Berthou F., Guillois B., Riche C., et al. Interspecies variations in caffeine metabolism related to cytochrome P4501A enzymes. // Xenobiotica, 1992, Vol. 22, №6, P. 671–680.
22. Bienvenu T., Pons G., Rey E., et al. Effect of growth hormone on caffeine metabolism in hypophysectomized rats. // Drug Metab. Dispos., 1990, Vol. 18, №3, P. 327–330.
23. Bonati M., Latini R., Galletti F., et al. Caffeine disposition after oral doses. // Clin. Pharmacol. Ther., 1982, Vol. 32, №1. P. 98–106.
24. Bonati M., Latini R., Tognoni G., et al. Interspecies comparison of in vivo caffeine pharmacokinetics in man, monkey, rabbit, rat, and mouse. // Drug Metab. Rev., 1985, Vol. 15, №7, P. 1355–1383.
25. Bortolotti A., Jiritano L., Bonati M. Pharmacokinetics of paraxanthine, one of the primary metabolites of caffeine, in the rat. // Drug Metab. Dispos., 1985, Vol.13, №2. P. 227–231.
26. Brazier J.L., Descotes J., Lery N., Ollagnier M., Evreux J.C. Inhibition by idrocilamide of the disposition of caffeine. // Eur. J. Clin. Pharmacol., 1980, Vol. 17, №1, P. 37–43.
27. Brosen K., Skjelbo E., Rasmussen B.B., et al. Fluvoxamine is a potent inhibitor of cytochrome P4501A2. // Biochem. Pharmacol., 1993, Vol. 45, №6, P. 1211–1214.
28. Busto U., Bendayan R., Sellers E.M. Clinical pharmacokinetics of non-opiate abused drugs. // Clin. Pharmacokinet., 1989, Vol. 16, №1, P. 1–26.
29. Buters J.T., Tang B.K., Pineau T., et al. Role of CYP1A2 in caffeine pharmacokinetics and metabolism: studies using mice deficient in CYP1A2. // Pharmacogenetics, 1996, Vol. 6, №4, P. 291?296.
30. Butler M.A., Iwasaki M., Guengerich F.P., Kadlubar F.F. Human cytochrome P-450PA (P-4501A2), the phenacetin O-deethylase, is primarily responsible for the hepatic 3-demethylation of caffeine and N-oxidation of carcinogenic arylamines. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 1989, Vol. 86, №20, P. 7696–7700.
31. Campbell M.E., Grant D.M., Inaba T., Kalow W. Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theophylline, and theobromine by polycyclic aromatic hydrocarbon-inducible cytochrome(s) P-450 in human liver microsomes. // Drug Metab. Dispos., 1987, Vol. 15, №2, P. 237–249.
32. Carrillo J., Christensen M. et al. Evaluation of Caffeine as an In Vivo Probe for CYP1A2 Using Measurements in Plasma, Saliva, and Urine. // Ther. Drug Monit., 2000, Vol. 22, №4, P. 409-417.
33. Carrillo J.A., Benitez J. Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medication. // Clin. Pharmacokinet., 2000, Vol. 39, №2, P. 127–153.
34. Chen Y., Tu J.H., He Y.J., et al. Effect of sodium tanshinone II A sulfonate on the activity of CYP1A2 in healthy volunteers. // Xenobiotica, 2009, Vol. 39, №7, P. 508–513.
35. Chou T.M., Benowitz N.L. Caffeine and coffee: effects on health and cardiovascular disease. // Comp. Biochem. Physiol., 1994, Vol. 109, №2. P. 173–189.

36. Choudhary D., Jansson I., Schenkman J.B., et al. Comparative expression profiling of 40 mouse cytochrome P450 genes in embryonic and adult tissues. // Arch. Biochem. Biophys., 2003, Vol. 414, №1, P. 91–100.
37. Chung W.G., Roch H.K., Kim H.M., Cha Y.N. Involvement of CYP3A1, 2B, and [2E1] in C-8 hydroxylation and CYP1A2 and flavin-containing monooxygenase in N-demethylation of caffeine; identified by using inducer treated rat liver microsomes that are characterized with testosterone metabolic patterns. // Chem. Biol. Int., 1998, Vol. 113, №1, P. 1–14.
38. Chang W.G., Cha Y.N. Oxidation of caffeine to theobromine and theophylline is catalyzed primarily by flavincontaining monooxygenase in liver microsomes. // Biochem. Biophys. Res. Commun., 1997, Vol. 235, №3. P. 685–688.
39. Cysneiros R.M., Farkas D., Harmatz J.S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between zolpidem and caffeine. // Clin. Pharmacol. Ther., 2007, Vol. 82, №1, P. 54–62.
40. Dahl M.L. Cytochrome P450 phenotyping/genotyping in patients receiving antipsychotics useful aid to prescribing. // Clin. Pharmacokinet., 2002, Vol. 41, P. 453–470.
41. Darwish M., Kirby M., Robertson P.Jr., et al. Interaction profile of armodafinil with medications metabolized by P enzymes 1A2, 3A4 and 2C19 in healthy subjects. // J. Clin. Pharmacokinet., 2008, Vol. 47, №1, P. 61–74.
42. Dobrinas M., Cornuz J., Eap C.B. Pharmacogenetics of CYP1A2 activity and inducibility in smokers and exsmokers. // Pharmacogenet. Genomics., 2013, Vol. 23, №5, P. 286–292.
43. Donovan J.L. A primer on Caffeine Pharmacology and Its Drug Interactions in Clinical Psychopharmacology. // Psychopharmacol. Bulletin, 2001, Vol. 35, №3, P. 30748.
44. van Troostwijk L.J., Doude, Koopmans R.P., Vermeulen H.D., et al. CYP1A2 activity is an important determinant of clozapine dosage in schizophrenic patients. // Eur. J. Pharm. Sci., 2003a, Vol. 20, № 4–5. P. 451–457.
45. Edwards R.J., Murray B.P., Murray S., et al. Contribution of CYP1A1 and CYP1A2 to the activation of heterocyclic amines in monkeys and human. // Carcinogenesis, 1994, № 15, P. 829–836.
46. Fontana R.J., deVries T.M., Woolf T.F., et al. Caffeine based measures of CYP1A2 activity correlate with oral clearance of tacrine in patients with Alzheimer's disease. // Br. J. Clin. Pharmacol., 1998, Vol. 46, №3, P. 221–228.
47. Fredholm B.B. Methylxanthines. Berlin: Springer Verlag, 2011. — 566 p.
48. Frye R.F., Matzke G.R., Adedoyin A., et al. Validation of the five-drug “Pittsburgh cocktail” approach for assessment of selective regulation of drug metabolizing enzymes. // Clin. Pharmacol. Ther., 1997, Vol. 62, №3, P. 365–376.
49. Fuhr U., Doehmer J., Battula N., et al. Biotransformation of caffeine and theophylline in mammalian cell lines genetically engineered for expression of single cytochrome P450 isoforms. // Biochem. Pharmacol., 1992, Vol. 43, №2, P. 225–235.
50. Graham R.A., Downey A., Mudra D., et al. In vivo and in vitro induction of cytochrome P450 enzymes in beagle dogs. // Drug Metab. Dispos., 2002, Vol. 30, №6, P. 3206–1213.
51. Granfors M.T., Backman J.T., Neuvonen M., et al. Ciprofloxacin greatly increases concentrations and hypotensive effect of tizanidine by inhibiting its cytochrome P450 1A2- mediated presystemic metabolism. // Clin. Pharmacol. Ther., 2004, Vol. 76, №6, P. 598–606.
52. Grant D.M., Campbell M.E., Tang B.K., Kalow W.W. Biotransformation of caffeine by microsomes from human. Liver kinetics and inhibition studies. // Biochem. Pharmacol., 1987, Vol. 36, №8, P. 1251–1260.
53. Gu L., Gonzalez F.Z., Kalow W., et al. Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theobromine and theophylline by cDNA-expressed human CYP1A2 and CYP2E1. Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theobromine and theophylline by cDNA-expressed human CYP1A2 and CYP2E1. // Pharmacogenetics, 1992, Vol. 2, №2, P. 73–77.
54. Guengerich F.P., Turvy C.G. Comparison of levels of several human microsomal cytochrome P-450 enzymes and epoxide hydrolase in normal and disease states using immunochemical analysis of surgical liver samples. // J. Pharmacol. Exp. Ther., 1991, Vol. 256, №3, P. 1189–1194.
55. Guo L.Q., Taniguchi M., Chen Q.Y., et al. Inhibitory potential of herbal medicines on human cytochrome P450-mediated oxidation: properties of umbelliferous or citrus crude drugs and their relative prescriptions. // Jpn. J. Pharmacol., 2001, Vol. 85, №4, P. 399–408.
56. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolizing cytochrome P450 enzymes' properties and polymorphisms. Naunyn-Schmiedeberg's. // Arch Pharmacol., 2004, Vol. 369, P. 89–104.
57. James J.F. Caffeine and Health. London: Academic Press, London, 1994. — 432 p.
58. Jeppesen U., Loft S., Poulsen H.E., Br?sen K. A fluvoxamine-caffeine interaction study. // Pharmacogenetics, 1996, Vol. 6, №3, P. 213–222.
59. Kalow W., Tang B.K. The use of caffeine for enzyme assays: a critical appraisal. Clin. Pharmacol. Ther., 1993, Vol. 53, №5, P. 503–514.
60. Kaplan G.B., Greenblatt D.J., Ehrenberg B.L., et al. Dose-dependent pharmacokinetics and psychomotor effects of caffeine in humans. // Clin. Pharmacol., 1997, Vol. 37, №8, P. 693–703.
61. Kinzig-Schippers M., Fuhr U., Zaigler M., et al. Interaction of pefloxacin and enoxacin with the human cytochrome P450 enzyme CYP1A2. // Clin. Pharmacol. Ther., 1999, Vol. 65, №3, P. 262–274.
62. Kot M., Daniel W.A. Effect of cytochrome P450(CYP) inducers on caffeine metabolism in the rat. // Pharmacological Reports, 2007, Vol. 59, №3, P. 296–305.
63. Kot M., Daniel W.A. Caffeine as a marker substrate for testing cytochrome P450 activity in human and rat. // Pharmacol. Rep., 2008, Vol. 60, №6, P.789–797.
64. Kot M., Daniel W.A. Relative contribution of rat cytochrome P450 isoforms to the metabolism of caffeine: The pathway and concentration dependence. // Biochem. Pharmacol., 2008, Vol. 75, №7, P. 1538–1549.
65. Krul C., Hageman G. Analysis of urinary caffeine metabolites to assess biotransformation enzyme activities by reversed-phase high-performance liquid chromatography. // Journal of Chromatography B., 1988, Vol.709, №1. P. 27–34.
66. Landi M.T., Sinha R., Lang N.P., et al. Human cytochrome P4501A2// IARC Sci Publ., 1999, № 148, P. 173–195.
67. C.E. Lau, F. Ma, J.L. Falk. Oral and IP caffeine pharmacokinetics under a chronic foodlimitation condition. // Pharmacol. Biochem. Behav., 1995, Vol. 50, №2, P. 245–252.
68. Lee D.Y., Shin H.S., Bae S.K. et al. Effects of Enzyme Inducers and Inhibitors on the Pharmacokinetics of Intravenous Omeprazole in Rats. // Biopharm. Drug Dispos., 2006, Vol. 27, №5, P.209–218.
69. Lee G., Dallas S., Hong M., et al. Drug transporters in the central nervous system: brain barriers and brain parenchyma considerations. // Pharmacol. Rev., 2001, Vol. 53, №4, P.569–596.
70. Lelo A., Birkett D.J., Robson R.A., et al. Comparative pharmacokinetics of caffeine and its primary deethylated metabolites paraxanthine, theobromine and theophylline in man. // Br. J. Clin. Pharmacol., 1986, Vol. 22, №2, P. 177–182.
71. Lelo A., Miners J.O., Robson R.A., et al. Quantitative assessment of caffeine partial clearances in man. // Br. J. Clin. Pharmacol., 1986, Vol. 22, №2, P. 183–186.

72. Lewis D.V.F. Substrate specificity and metabolism in cytochrome P450. Structure, Function and Mechanism. — Bristol, 1996. — P. 115-167.
73. Maish W.A., Hampton E.M., Whitsett T.L., et al. Influence of grapefruit juice on caffeine pharmacokinetics and pharmacodynamics. // Pharmacotherapy, 1996, Vol. 16, №6, P. 1046-1052.
74. McCall A.L., Millington W.R., Wurtman R.J. Blood-brain barrier transport of caffeine: dose-related restriction of adenine transport. // Life Sci., 1982, Vol.31, №24, P. 2709–2715.
75. McNamara P.J., Burgio D., Yoo S.D. Pharmacokinetics of caffeine and its demethylated metabolites in lactating adult rabbits and neonatal offspring. Predictions of breast milk to serum concentration ratios. // Drug Metab. Dispos., 1992, Vol. 20, №2, P. 302–308.
76. Miners J.O., Birkett D.J. The use of caffeine as a metabolic probe for human drug metabolizing enzymes. // Gen. Pharmacol., 1996, Vol. 27, №2, P. 245–249.
77. Moore L.B., Goodwin B., Jones S.A., et al. St. John's wort induces hepatic drug metabolism through activation of the pregnane X receptor. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 2000, Vol. 97, №13, P. 7500-7502.
78. Morita K., Maeda Y., Masuda M., et al. Strain differences in CYP3A-mediated C-8 hydroxylation (1,3,7-trimethyluric acid formation) of caffeine in Wistar and Dark Agouti rats. // Biochem. Pharmacol., 1998, Vol. 55, №9, P. 1405–1411.
79. Offman E.M., Freeman D.J., Dresser G.K., et al. Red wine-cisapride interaction: comparison with grapefruit juice. // Clin. Pharmacol. Ther., 2001, Vol. 70, №1, P.17-23.
80. Oh K.S., Park S.J., Shinde D.D., et al. High-sensitivity liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the simultaneous determination of five drugs and their cytochrome P450-specific probe metabolites in human plasma. J. Chromatogr. // B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 2012, Vol. 895-896, P. 56-64.
81. Pelissier-Alicot A.L., Schreiber-Deturmeny E., Simon N., et al. Time-of-day dependent pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles of caffeine in rats. // Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 2002, Vol. 365, №4, P.318-325.
82. Perera V., Gross A.S., McLachlan A.J. Measurement of CYP1A2 activity: a focus on caffeine as a probe. // Curr. Drug Metab., 2012, Vol. 13, №5, P. 667-678.
83. Radhofer-Welte S. Pharmacokinetics and metabolism of the proton pump inhibitor pantoprazole in man. // Drugs Today, 1999, Vol. 35, №10, P. 765-772.
84. Rasmussen B.B., Brix T.H., Kyvik K.O., et al. The differences in the 3-demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. // Pharmacogenetics, 2002, Vol. 12, №6, P. 473–478.
85. Rebek T.R., Jaffe J.M., Walker A.H., et al. Modification of clinical presentation of prostate tumors by novel genetic variant in CYP3A4. // J. Nat. Cancer Inst., 1998, Vol. 91, №12, P. 1225-1229.
86. Robson R.A. The effects of quinolones on xanthine pharmacokinetics. // Am. J. Med., 1992, Vol. 92, № 4A, P. 22-25.
87. Rodopoulos N., Norman A. Assessment of dimethylxanthine formation from caffeine in healthy adults: comparison between plasma and saliva concentrations and urinary excretion of metabolites. // Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1996, Vol. 56, №3, P. 259–268.
88. Sakuma T., Hieda M., Igarashi T., et al. Molecular cloning and functional analysis of cynomolgus monkey CYP1A2. // Biochem. Pharmacol., 1998, Vol. 56, №1, P.131-139.
89. Sawynok J., Yaksh T.L. Caffeine as an analgesic adjuvant: a review of pharmacology and mechanisms of action. // Pharmacol. Rev., 1993, Vol. 45, №1, P. 43–85.
90. Schmider J., Brockmöller J., Arold G., et al. Simultaneous assessment of CYP3A4 and CYP1A2 activity in vivo with alprazolam and caffeine. // Pharmacogenetics, 1999, Vol. 9, № 6, P. 725–734.
91. Shrader E., Klauinick G., Jorritsma U., et al. High-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of [1-methyl-14C]caffeine and its eight major metabolites in rat urine. // J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 1999, Vol. 726, №1-2, P. 195-201.
92. Sharer J.E., Shipley L.A., Vandenbranden M.R., et al. Comparisons of phase I and phase II in vitro hepatic enzyme activities of human, dog, rhesus monkey, and cynomolgus monkey. // Drug Metab. Dispos., 1995, Vol. 23, №11, P. 1231-1241.
93. Shimada T., Martin M.V., Pruess-Schwartz D., et al. Roles of individual human cytochrome P-450 enzymes in the bioactivation of benzo(a)pyrene, 7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo(a)pyrene, and other dihydrodiol derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons. // Cancer Res., 1989, Vol. 49, P. 6304-6312.
94. Spigset O., Hägg S., Söderström E., Dahlqvist R. Lack of correlation between fluvoxamine clearance and CYP1A2 activity as measured by systemic caffeine clearance. // Eur. J. Clin. Pharmacol., 1999, Vol. 54, №12, P. 943–946.
95. Sugawara M., Mochizuki T., Takekuma Y., et al. Structure-affinity relationship in the interactions of human organic anion transporter 1 with caffeine, theophylline, theobromine and their metabolites. // Biochem. Biophys. Acta, 2005, Vol. 1714, №2, P. 85–92.
96. Tanaka K., Hara M. Inverse association between coffee drinking and the risk of hepatocellular carcinoma: a case-control study in Japan. // Cancer Sci., 2007, Vol. 98, №2, P. 214–218.
97. Teekachunhatean S., Tosri N., Rojanasthien N., et al. Pharmacokinetics of Caffeine following a Single Administration of Coffee Enema versus Oral Coffee Consumption in Healthy Male Subjects. // Epub. 2013, Vol. 2013 – 7 p.
98. Testa B., Kramer S.D. The Biochemistry of drug metabolism: Conjugations, Consequences of Metabolism, Influencing Factors/ – Weinheim: WILEY-VCH, 2010. – Vol.2. – 588 p.
99. Vaynshteyn D., Jeong H. Caffeine induces CYP1A2 expression in rat hepatocytes but not in human hepatocytes. // Drug Metab. Lett., 2012, Vol. 6, №2, P. 116-119.
100. Vickroy T.W., Chang S.K., Chou C.C. Caffeine-induced hyperactivity in the horse: comparisons of drug and metabolite concentrations in blood and cerebrospinal fluid. // J. Vet.Pharmacol. Ther., 2008, Vol. 31, №2, P. 156–166.
101. Walton K., Dorne J.L., Renwick A.G. Uncertainty factors for chemical risk assessment: interspecies differences in the in vivo pharmacokinetics and metabolism of human CYP1A2 substrates. // Food Chem. Toxicol., 2001, Vol. 39, №7, P. 667–680.
102. Wilkinson J.M., Pollard I. Accumulation of theophylline, theobromine and paraxanthine in the fetal rat brain following a single oral dose of caffeine. // Brain Res. Dev. Brain Res., 1993, Vol. 75, №2, P. 193-199.
103. Yang A., Palmer A.A., de Witt H. Genetics of caffeine consumption and responses to caffeine. // Psychopharmacology (Berl)., 2010, Vol. 211, №3, P. 245-257.
104. Yu K.S., Yim D.S., Cho J.Y. et al. Effect of omeprazole on the pharmacokinetics of moclobemide according to the genetic polymorphism of CYP2C19. // Clin. Pharmacol. Ther., 2001, Vol. 69, №4, P. 266-273.
105. Zuber R., Anzenbacherova E., Anzenbacher P. Cytochromes P450 and experimental models of drug metabolism. // J. Cell Mol. Med., 2002, Vol. 6, №2, P. 189-198.

Роль лектинов как биологически активных веществ в фармацевтических препаратах

Антонюк В.А.

Институт биологии клетки НАН Украины, г. Львов, Украина

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого, г. Львов, Украина

Резюме. В обзорно-критической статье рассматриваются лектины растений с точки зрения их значения как биологически активных веществ в фармацевтических препаратах. Основное внимание уделено критическому анализу возможного значения лектинов лекарственных растений в фармацевтических препаратах и анализу наиболее характерных ошибок научных работ, посвящённых данному вопросу. Приведён анализ некоторых фармацевтических препаратов, в которых основными действующими веществами декларируются лектины.

Ключевые слова: лектины, рибосомо-инактивирующие белки, митогены, фитопрепараты, фитотерапия.

Role of lectins as biologically active substances in pharmaceutical drugs

Antonyuk V.A.

Institute of Cell Biology, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, Ukraine

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

Summary. In an overview and critical article discusses plant lectins in terms of their importance as biologically active substances in pharmaceutical preparations. Focuses on the critical analysis of the possible values of lectins medicinal plants in pharmaceuticals and analysis of the most common errors scientific papers on the subject. The analysis of some pharmaceuticals, in which the main active ingredients are declared lectins.

Keywords: lectins, ribosome-inactivating proteins, mitogens, herbal drugs, herbal medicine

Автор, ответственный за переписку:

Антонюк Владимир Александрович — д.фарм.н., с.н.с., профессор, e-mail: antonyukvo@gmail.com

В подавляющем большинстве лекарственных препаратов, которые получают из природных источников (растений, грибов, микроорганизмов и животных) действующим началом являются вещества вторичного синтеза: алкалоиды, различные фенольные соединения, стероиды, терпеноиды, их соли или гликозиды и много других разнообразных веществ. Вещества первичного синтеза (нуклеиновые кислоты, белки и гликоконъюгаты) редко присутствуют на фармацевтическом рынке в качестве лекарственных препаратов. Однако, без белков жизнь невозможна. В организме ежесекундно протекают тысячи ферментативных реакций, нарушение которых приводит к тяжёлым заболеваниям или несовместимо с жизнью. В то же время препаратов на основе ферментов известно не много. Их применение ограничено желудочно-кишечным трактом, действием на кожу и раневые поверхности, влияния на процессы свёртывания и факторы крови и в ряде случаев на гипо- и гиперфункции эндокринных желёз [33]. Особую группу белков составляют лектины — вещества белковой природы, которые селективно связывают углеводы, но в отличие от ферментов-гликозидаз, не вызывают их химических превращений. Они также вездесущие и выполняют в организме живых организмов важные функции, прежде всего, связанные с распознаванием «своего» и «чужого». Поэто-

му логично предположить, что они также могут быть использованы как лекарственные препараты. Однако для их применения существуют те же трудности, что и для применения других белковых препаратов, в частности, ферментов, с которыми можно провести определённые аналогии. Одной из причин ограниченного применения ферментов, как и лектинов, является невозможность их доставки в специализированные клетки и ткани, где они проявляют своё действие. Второй важной причиной их ограниченного применения является возможность при их повторном введении в кровяное русло вызывать аллергические реакции, вплоть до анафилактического шока. Они лабильные и в большинстве случаев разлагаются в желудочно-кишечном тракте до отдельных аминокислот и во многих случаях не способны проникать через кожу, слизистые оболочки и интиму сосудов. Лектины, как и ферменты, являются термолабильными соединениями и, в основном, не выдерживают нагрева свыше +70 — +80°С. Всё это сильно сужает возможности их практического применения на современном этапе развития науки и технологий в качестве лекарственных препаратов. В отварах лекарственных растений они отсутствуют, так как не выдерживают 15-ти минутного кипячения, в настоях их нет, так как они не растворимы в 70° спирте. Лектины могут быть использованы в чистом виде,

но вводить их в кровяное русло рискованно из-за возможных аллергических проявлений. Остаются капли, полоскания, мази, спреи, свечи, которые рекомендованы в основном, для наружного применения.

А имеют ли лектины какое-то сильное и значимое физиологическое действие в свежем или высушенном сырье, или в термически необработанных соках? На это следует ответить утвердительно. Существует группа токсичных лектинов, откуда, собственно начиналась история их открытия и изучения. Третьего (15) марта 1888 г. в Дерпте (Тарту) *Петер Штильмарк* защитил диссертацию, посвящённую токсическому веществу семян клещевины обыкновенной. Исследуемое вещество вызвало агглютинацию эритроцитов и было автором названо рицином. Эта дата сегодня считается днём рождения новой науки — лектинологии, которая изучает получение, структуру и функцию лектинов [3]. На сегодняшний день очищены и охарактеризованы сотни лектинов, которых получают из микроорганизмов, растений, грибов и животных организмов [1].

Рицин — токсичный белок из семян *Ricinus communis*, а также подобные токсичные белки из семян *Croton tiglium* и *Abrus precatorius* могут вызвать смертельное отравление при употреблении этих семян животными и человеком. Для этого достаточно 5-10 съеденных семян. Термическая обработка семян это действие отменяет. Очевидно, что несмотря на инактивацию и расщепление рицина пищеварительными соками, какая-то часть его проникает в кровь и вызывает токсический эффект. Это может происходить в нижней поверхности языка в связи с его высокой васкуляризацией и высокой проницаемостью эпителия для различных химических веществ, или где-то дальше, когда семена глотают не разжёвывая. Следует отметить, что рицин очень токсичное вещество. Для белых лабораторных мышей LD_{50} при внутрибрюшинном введении составляла 65 нг/мышь, масса которых была ≈ 20 г [26].

Рицин, абрин, кротин и некоторые другие токсичные белки — бифункциональные лектины. Они состоят двух типов полипептидных цепей, одна из которых связывает углеводы (В-цепь), а вторая имеет ферментативную активность (А-цепь). А-цепь рицина обладает РНК-*N*-гликозидазной активностью, она специфически расщепляет *N*-гликозидную связь при аденозин-4324 на 28 гРНК, тем самым блокируя синтез белка в клетке. Достаточно проникновения лишь одной молекулы рицина в клетку, чтобы полностью заблокировать в ней синтез белка, что впоследствии приводит к гибели клетки. Механизм и кинетика этого процесса достаточно хорошо изучены [24]. Однако в этих токсичных лектинах, которые относят к так называемым рибосомо-инактивирующим белкам типа 2 (РИБ-2) биологическую активность обуславливает собственно А-цепь с ферментативной активностью, а В-цепь, которая специфически связывает углеводы только способствует проникновению молекулы ток-

сического лектина внутрь клетки. Это действие также важно, ведь одноцепочные рибосомо-инактивирующие белки первого типа (РИБ-1), найденные в ряде растений не проявляют токсичности именно из-за неспособности проникать в клетку. Однако некоторые специализированные животные клетки могут импортировать РИБ-1 путём эндоцитоза и чувствительны к РИБ активности. Например, сильный abortивный эффект белка трихозантина (РИБ-1), который содержится в корневых клубнях трихозанта японского, объясняют активным проникновением его в трофобласты [29]. В то же время другие клетки организма делятся на высоко-, средне- и низкочувствительные к трихозантину. Показано, что чем выше его проникновение в клетки, тем выше его токсическое действие [23]. Для проявления токсического эффекта РИБ-2 необходимо связывание с поверхностью клетки, трансмембранный транспорт и диссоциация субъединиц в цитоплазме. В результате определённых структурных различий в строении и устойчивости молекулы эти процессы при использовании различных РИБ-2 происходят не одинаково. Поэтому лектины этого типа отличаются по токсичности. Например, рицин является в 30 раз токсичнее вискумина (лектина листьев *Viscum album*) [37].

Существуют также другие бифункциональные лектины биологическое действие которых является не таким драматичным. Например, лектины, проявляющие гликозидазную или гемолизирующую активность. Нами в бледной поганке (*Amanita phalloides*) был обнаружен гемолизирующий лектин, который проявлял цитотоксическое и антимикробное действие [16]. Этот лектин, возможно, играет определённую роль в защите плодовых тел гриба от патогенов, однако токсикологическое значение его незначительное, разве что оно проявляется в различных симптомах отравления при ошибочном употреблении сырых или термически обработанных плодовых тел гриба. К счастью, гемолитические лектины не найдены в растениях, очень редки в грибах, но могут быть экзотоксинами микроорганизмов и некоторых беспозвоночных.

Токсичные лектины клещевины, омелы, абруса, момордики обладают выраженным противоопухолевым действием. Среди них лектины омелы имеют несколько большую терапевтическую широту и меньшую токсичность для нормальных клеток. Впервые противоопухолевое действие в лектине омелы обнаружил проф. *Луцик М.Д.* в 1975 году [7]. В экспериментах при внутрибрюшинном введении мышам в дозе 10 мкг/кг лектин омелы проявлял выраженное противоопухолевое действие ($LD_{50} = 80$ мкг/кг). Для проявления противоопухолевого эффекта нет необходимости в непосредственном контакте с опухолью. Того количества, что находилось в крови было достаточно для его проявления. Однако, различные штаммы опухолей оказались неодинаково чувствительны к действию лектина омелы. Саркома С-37 была более чувствительна к лек-

тину омелы, чем лимфома NK/Ly, а последняя более чувствительна, чем карцинома Эрлиха [8]. Многочисленные исследования подтвердили противоопухолевое действие лектина омелы и раскрыли её механизм [22, 36]. Однако, несмотря на выраженный противоопухолевый эффект был сделан вывод, что применение лектинов в нативном состоянии в клинике нецелесообразно по двум основным причинам:

1. лектины являются чужеродными белками и при повторном введении существует реальная угроза анафилактического шока;
2. вышеупомянутые лектины являются токсинами общего цитотоксического действия, имеют небольшую терапевтическую широту и способны аккумулироваться в организме [8].

Несмотря на это, испытания противоопухолевых свойств токсических лектинов продолжается. Одним из направлений экспериментов по повышению эффективности терапевтического эффекта токсичных лектинов является создание иммунотоксинов, т.е. конъюгатов между токсинами и моноклональными антителами или факторами роста. Такие конъюгаты селективно доставляются в опухолевые клетки и убивают их не повреждая нормальных клеток. Заслуживает внимания внутриопухолевое введение подобных лектинов, что приводит к хорошему терапевтического эффекту, уменьшая их побочное действие [20].

В то же время основная масса известных на сегодня лектинов лишена ферментативной активности и имеет невысокую токсичность при введении в клетки или ткани.

Фактором биологического воздействия на клетки организма может быть митогенная активность, обнаруженная во многих растительных лектинах. Однако, почти все лектины растений стимулируют Т-лимфоциты и очень редко, например, только одна изоформа лектина корней *Phytolacca americana* способна стимулировать также и В-лимфоциты. Наиболее известным и часто применяемым митогеном является фитогемагглютинин (ФГА, лектин-лейкоагглютинин семян фасоли обыкновенной). Митогенная активность ФГА делает его важным реагентом для клинической диагностики и исследования клеток. В частности, ФГА используется для хромосомного анализа, исследовании функции лимфоцитов при различных заболеваниях и продуцирования ими различных биологически активных веществ — лимфокинов, интерферонов и т.д.

В связи с сильным иммуностимулирующим действием, доступностью и относительной дешёвизной делались неоднократные попытки клинического применения фитогемагглютинина. Несмотря на хороший терапевтический эффект при диссеминированной меланоме [30], лейкемии [17], лимфобластозе у детей [34], применение ФГА для лечения этих заболеваний, связанное с введением лектинов в кровяное русло, сегодня практически прекращено, в связи с возможными аллергическими реакциями. Однако и сегодня есть

немало сторонников клинического применения митогенных лектинов (см., например, обзор [41]).

В то же время, нет достаточно сильных противопоказаний для наружного применения митогенов. Мазь из фитогемагглютинина проявляла хороший терапевтический эффект при лечении язв после лучевых поражений [11]. Терапевтический эффект растворов ФГА был подтверждён при лечении ран различной этиологии как в экспериментах на кроликах [2], так и в клинике [9]. Эти авторы считают, что терапевтический эффект ФГА обусловлен стимуляцией Т-лимфоцитов и усиленной продукцией лимфокинов.

В своё время нами изучалось влияние различных мазевых основ на освобождение ФГА из мазей. Было установлено, что ФГА лучше освобождается с мазевых основ гидрофильного типа (полиэтиленгликолевая, на основе метилцеллюлозного геля), в то время как с эсилон-аэросильной основы ФГА не освобождается. Медленно шло освобождение из эмульсионной и вазелин-ланолиновой основы [15].

Для организма млекопитающих лектин фасоли хотя и не является явно токсичным, однако употребление сырых семян неблагоприятно влияет на развитие растущего организма. В дикой природе грызуны (мыши, крысы) даже в самый сильный голод пытаются избегать употребления сырых семян фасоли. При насильственном кормлении крыс диетой с высоким содержанием ФГА наблюдалась задержка роста, снижение усвоения азота и нарушение всасывания в кишечнике. Считается, что лектин взаимодействует с гликокаликсом энтероцитов и вызывает их повреждение, что приводит к нарушению всасывания слизистой кишечника [28]. Скармливание молодым крысам ФГА в течение 10 дней уменьшало массу жировых отложений и скелетных мышц, что позволило авторам предположить, что липидный катаболизм является первой мишенью ФГА. Уровень инсулина в плазме крови также снижался, хотя вопреки ожиданию уровень глюкозы в крови оставался стабильным. Авторы считают, что полученные результаты позволяют рекомендовать в некоторых случаях применение низких доз ФГА для уменьшения гипергликемии и жировых отложений [19]. Продолжение исследований по скармливанию молодым крысам ФГА выявило повышение секреции в тонком кишечнике и увеличение уровня α -амилазы под влиянием лектина [18].

Однако содержание лектина в семенах фасоли очень высокое, оно составляет 1-3 г на кг семян, тогда как у большинства растений оно значительно ниже. Негативное влияние на энтероциты кишечника млекопитающих объясняется также углеводной специфичностью этого лектина, да и кормили крыс очень высокими дозами, которые почти никогда реально не поступают в организм животных.

Не так давно доктор натуропатии *Питера Д'Адамо* заявил о создании новой чудесной диеты в соответствии с группами крови. Согласно установки доктора *П. Д'Адамо*

люди с разными группами крови должны иметь свою диету, поскольку в зависимости от групп крови одни продукты могут быть для них полезны, а другие — вредны. Кроме того, на организм исключительно вредно влияют лектины, которые содержатся во многих растениях. Попадая в организм они вызывают агглютинацию эритроцитов, что приводит ко многим проблемам со здоровьем, таким, как боли в желудке, плохое пищеварение, головные боли, диарея, болезни печени и др. [25]. Согласно представлений *П. Д'Адамо* в процессе эволюции наряду с появлением групп крови возникали в крови соответствующих индивидуумов и антитела к лектинам, способных вызвать агглютинацию соответствующих групп. Например, известно, что в ряде растений имеются лектины, которые имеют высокую групповую специфичность, иначе говоря, лектины способны агглютинировать эритроциты соответствующей группы. Например, лектин семян *Tetragonolobus purpureus* способен агглютинировать только эритроциты О (I) группы, а лектины лимской фасоли — только эритроциты А (II) группы. Но не следует забывать, что лектинов, имеющих высокую селективность к определённым группам эритроцитов известно очень мало, большинство из них не оказывает выраженной селективности к эритроцитам человека. Кроме того, подавляющее большинство продуктов питания не имеет лектинов, или имеет очень невысокие их концентрации. Не наблюдается каких-либо отрицательных последствий при употреблении сырых семян гороха, арахиса, плодов помидора, банана, где лектины присутствуют, причём, в арахисе в довольно высокой концентрации. Белки этих продуктов расщепляются в желудке до аминокислот. Если же какое-то незначительное количество не полностью расщепляется, то дальше макрофаги их довольно быстро уничтожают. Поэтому нет смысла говорить о проникновении лектинов в кровь. Не следует сбрасывать со счетов и то, что многие растительные продукты употребляются после термической обработки, что разрушает лектины. Обо всём этом доктор *П. Д'Адамо* не упоминает. Кроме того, доктор утверждает, что агглютинация эритроцитов лектинами является причиной увеличения массы тела, не объясняя причин. Значительно чаще при приёме токсических продуктов наблюдаются заболевания, сопровождающиеся потерей массы тела. Поэтому, на наш взгляд, теория доктора *П. Д'Адамо* имеет такое же отношение к науке, как астрология к астрономии. Однако теорию доктора *П. Д'Адамо* пропагандирует большой набор литературы, имеющийся в книжных магазинах (см. например, [12] и тому подобные).

В то же время, даже в научных журналах публикуются обзорные и экспериментальные работы, где рассматриваются лектины, как возможные фармакологически активные вещества лекарственных растений. Рассмотрим наиболее характерные ошибки этих работ.

Ошибка 1. При отсутствии доказательств о наличии лектинов в сырье или вытяжках им приписывается фармакологический эффект, который на самом деле обусловлен совсем другими веществами.

Например, в России на базе корневища и травы лапчатки белой (*Potentilla alba*), звездчатки средней (*Stellaria media*), листьев бадана (*Bergenia crassifolia*) создан препарат «Эндокринол». В работе [5] исследуется противомикробное действие довольно концентрированного (53 мг/мл) экстракта из этого сбора. В работе не проведён анализ веществ, находящихся в экстракте. Заключение о наличии лектинов сделано по имеющейся агглютинации эритроцитов, наблюдаемое в лунках. Выявлено угнетающее действие экстракта на рост гемолитического стафилококка. Это действие приписывается лектинам. Однако, на наш взгляд, антимикробное действие объясняется наличием в экстракте фенольных и дубильных веществ, которые присутствуют в высоких концентрациях в этой вытяжке. Лектины не могут присутствовать в вытяжках с высоким содержанием фенольных соединений (катехинов, фенологликозидов, дубильных веществ), так как они образуют с ними нерастворимые комплексы. Кстати, в учебниках и практикумах по фармакогнозии для студентов для выявления дубильных веществ рекомендуется реакция осаждения белком. Осаждения танином иногда используется для концентрирования белковых веществ при их очистке, хотя и редко, так как явных преимуществ над осаждением сульфатом аммония и спиртом нет. Например, осаждением танином была очищена β -глюкозидаза из семян миндаля [31]. Лектины можно очищать подобным способом. Более того, они осаждаются и могут быть очищены осаждением экстрактом лапчатки, бадана, чая или зверобоя, которые содержат дубильные вещества или катехины. Нами была осуществлена очистка лектина из семян гороха и фасоли обыкновенной посредством осаждения экстрактом лапчатки и экстрактом зверобоя. Принципиальная схема такой очистки лектинов выглядит так: к экстракту гороха, который содержит лектин, добавляют отвар травы зверобоя, содержащий катехины. Образуется осадок комплекса белок-катехин, в котором часть белков составляют лектины. Осадок собирают центрифугированием, промывают водой и далее комплекс разлагают добавлением холодного (-10°C или ниже) ацетона, который растворяет катехины. Осадок белка (лектина), который нерастворим в ацетоне, растворяют в 0,3–1,0 М растворе хлорида натрия, после чего проверяют его агглютинирующие свойства. Далее очистку осуществляют применяя аффинную хроматографию. Необходимым условием успешности такого способа очистки является устойчивость лектина к осаждению ацетоном.

Почему в рецензируемой работе [5] исследователи наблюдали агглютинацию эритроцитов? Потому что реакцию проводили в лунках. В таком исполнении реакция является более чувствительной, чем в микропробирках, но одновременно возрастает опасность ошибиться. В частности, при таком проведении реакции характер оседания эритроцитов на стенках лунок, вызванный дубильными веществами, очень

напоминает результат, вызванный лектинами. *Почему же тогда при применении некоторых углеводов авторы наблюдали угнетение агглютинации?* А в этом виноват человеческий фактор. Эта реакция является полуконтрольной и с субъективной оценкой полученных результатов, где при нечётких результатах их оценка зависит от исследователя.

По этой причине очень большое сомнение вызывают работы по нахождению лектинов в траве зверобоя [10], листьях бадана [6], тем более, что эти работы выполнены на очень низком методическом уровне.

Предположение, что лектины могут содержаться во всех живых организмах, вовсе не означает, что они действительно находятся во всех вытяжках. Например, перед экстракцией лектинов из сырья с высоким содержанием дубильных веществ от них нужно полностью избавляться, но таким образом, чтобы при этом не денатурировать лектины, а эта задача часто является довольно сложной.

Подобная же история со сборами лекарственных трав «ФитоГор», и «ФитоКор», которые разрекламированы как противовирусные средства [4]. Возможно, что указанные препараты и обладают противовирусным действием, но нет никаких доказательств, что оно обусловлено лектинами.

Ошибка 2. Подмена понятий. Оно осуществляется различными методами. Часто из-за недостаточного знакомства с изучаемым предметом.

Например, в обзоре Тимошенко А.В. [13] рассматриваются лектины лекарственных растений с точки зрения их возможной фармакологической значимости для данного сырья. В статье рассматриваются лектины семян дурмана, шалфея, коры бузины чёрной, корневища крапивы и предполагается их определённая роль в фармакологическом эффекте при применении этого сырья. При этом игнорируется, что это сырьё в медицине стран СНГ реально не применяется (вместо семян дурмана применяются листья, вместо коры бузины — цветы, вместо корневища крапивы — листья), а в настоях, отварах настоек при изготовлении лекарственной формы из этих растений лектины денатурируют через термическую обработку сырья. Не является истинным утверждение, что в экстракте алоэ природа действующих веществ не установлена. Это — биогенные стимуляторы (совокупность карбоновых, гуминовых и аминокислот), выдерживающие стерилизацию нагреванием, и они не являются лектинами. Не соответствует действительности утверждение об очень высокой устойчивости к нагреванию лектина фасоли обыкновенной, хотя на это даётся ссылка на иностранную работу. В наших экспериментах уже при +70°C наблюдалась заметная потеря агглютинирующей активности.

Так, в статье Шмалько Н.А. [14] на основании того, что лектин зародышей пшеницы и конканавалин А способен связываться с рецепторами инсулина на цитомембране и стимулировать утилизацию глюкозы

липоцитов в культуре клеток, делается вывод о причастности этих лектинов к ожирению у человека. Этот вывод основывается на ряде ложных данных, в частности, особой устойчивости лектинов к перевариванию в желудке и поступления лектинов в кровь. Кроме того, инсулиномиметическое действие описано в литературе для очень немногих лектинов. Зародыши пшеницы и бобы канавалии мечевидной не являются пищевыми продуктами. Даже при длительном употреблении сырых зародышей пшеницы, в качестве пищевой добавки, где есть лектин, нет достоверных данных о развитии ожирения у пациентов.

Ошибка 3. Результаты, полученные на культуре клеток механически переносятся на весь организм, или действие, обнаруженное на простых по организации организмах (например, насекомых), механически переносится на эволюционно более развитые организмы (например, млекопитающих).

Экспериментально установлено, что в культуре клеток лектины обнаруживают противовирусное, противоопухолевое, митогенное действие. Однако, это совсем не означает, что при воздействии на целостный организм будет наблюдаться такое же действие. Причинами, которые затрудняют подобный эффект являются: низкая концентрация в сырье и гидролиз лектинов пищеварительными ферментами, возможность проявления действия (например, противовирусного) только местно, в полосканиях или ингаляциях, в связи с чем возникает необходимость изготовления лекарственных форм с повышенным содержанием очищенных лектинов и введения их в такую среду, где они могли бы быть сохранены достаточно долго в активном состоянии и т.д.

Другим примером может быть кампания против употребления некоторых генно-инженерных сортов ряда растений.

Трансгенные растения, имеющие экспрессированный ген лектина подснежника (*Galanthus nivalis*) показывали повышенную резистентность в защите риса против сосущих насекомых (*Nilaparvata lugens*) и ряда других полужесткокрылых [27]. Однако, это не означает, что он так же действует на млекопитающих и человека. У жуков пищеварительная система устроена значительно проще, по сравнению с человеком. Кроме того, лектин подснежника является термолабильным. Думаю, что необходимо употреблять термически обработанный рис (мне кажется, что в отличие от жуков сырой рис люди не употребляют) — и это будет гарантия отсутствия вредного влияния лектинов.

Особой критики заслуживает монография «Фитолектины», написанная группой авторов [4]. Почему?

1) В ней лектины рассматриваются как основные биологически активные вещества многих растений, которые эффективны для лечения многих заболеваний человека, однако без достаточной доказательной базы.

2) В этой работе есть вся совокупность ошибок приведённых выше. Кроме того, в монографии очень много орфографических и стилистических ошибок,

начиная с английского резюме, где даже слово «лектин» в английской транскрипции написано неправильно. Считаю очень большой ошибкой распространённую в монографии практику ссылок на обзоры для подтверждения якобы экспериментальных данных. На мой взгляд, значительно более правильно ссылаться на первоисточники, чтобы читатель мог беспристрастно оценить правильность сделанных выводов.

Какое же значение лектинов в жизни человека и фитотерапии? Очевидно, что лектины имеют право рассматриваться как биологически активные вещества живых организмов. Некоторые из них (токсичные лектины) могут вызвать опасные отравления при употреблении сырых натуральных продуктов или соков из них. Но таких лектинов известно совсем немного. Все они являются термолабильными и при кулинарной обработке способны необратимо денатурировать. Лектины, содержащиеся в пыльце некоторых растений, могут играть важную роль в сенсибилизации организма и развитию аллергических заболеваний [35], поэтому их необходимо исследовать на предмет возможного применения как десенсибилизаторов.

При изготовлении традиционных лекарственных форм из растений (настоев, отваров, настоек) лектины или разрушаются вследствие тепловой обработки, или не переходят в раствор через нерастворимость в 50-70% спирте и через взаимодействие с фенольными соединениями, которые очень распространены в растениях. Конечно, возможно изготовление мазей на основе очищенных лектинов, свечей, ингаляционных форм, они могут проявлять местное действие (ранозаживляющее, возможно, противовирусное, антинеопластическое). Например, было проведено исследование влияния лектина *Agaricus bisporus* на рост культуры нормальных человеческих кератиноцитов и трансформированных вирусом папилломы человека. Рост культуры нормальных кератиноцитов был полностью подавлен при концентрации лектина *A. bisporus* 3 мкг/мл, а трансформированных — при концентрации 30 мкг/мл. Эти результаты представляют интерес для лечения псориаза. На 11 пациентах с псориазом была изучена мазь, содержащая 0,1% лектина *A. bisporus*. Её применение сопровождалось выраженным клиническим эффектом [32]. Но это одиночный случай, где применение лектина имеет явное преимущество над другими лекарственными средствами. В большинстве

же случаев возникает вопрос экономической целесообразности, побочного действия и преимуществ лектинов над другими химическими и природными препаратами.

Имеют ли лектины перспективу применения в медицине? Очевидно, что имеют, но её следует искать в тех направлениях, где лектины имеют явное преимущество над другими веществами. Основная естественная функция лектинов — распознавание углеводных рецепторов на макромолекулах и клетках, поэтому логично предположить, что в этом направлении их применения будет наиболее эффективным.

Например, при очистке крови от вирусных частиц или патологически изменённых клеток и гликопротеинов могут быть использованы некоторые иммобилизованные лектины. По такому принципу работает лектин купферовских клеток печени, известный также под названием «асialogликопротеиновый рецептор» [40]. В программе «искусственная печень» лектинам может принадлежать ключевая роль.

Интересны работы работников Aethlon Medical Inc. (San Diego, Calif., USA) по очистке крови человека от вируса гепатита С путём плазмафереза через специальную колонку, заполненную иммобилизованным лектином подснежника. Если верить авторам, после 3-разовых сеансов в неделю через 2 недели такого лечения у пациентов уровень вируса в их крови снижался в среднем на 57% [38, 39]. Как известно, избавиться от вируса гепатита С из крови человека другими методами чрезвычайно трудно.

С помощью лектинов возможна митогенная стимуляция лимфоцитов человека, что повышает их защитную функцию. С помощью лектинов можно в мягких условиях разделять клетки крови. Например, лектин арахиса является уникальным инструментом для разделения человеческих кортикальных (незрелых) и медуллярных (зрелых) тимоцитов [42]. Рассматривается возможность использования лектинов для целевой доставки лекарств, так как они способны связываться с определёнными типами клеток или тканей, создавая в тех местах повышенные концентрации [21].

Хочется верить, что медицина будущего в полном объёме сможет использовать потенциал лектинов в лечении заболеваний человека, однако для этого нужны иные подходы и методы, которые сегодня уже существуют и начинают развиваться.

Литература

1. Антонюк В.О. Лектины та їх сировинні джерела. — Львів: Кварт. 2005, 554 С.
2. Большаков И.Н., Поберий И.А., Линдер Д.П., Зубков Г.А., Панасюк А.В. К механизму действия фитогемагглютинаина как стимулятора заживления ран. Архив патологии 1980, 42, (5): 26-32.
3. Иломес Т. Столетие открытия лектинов в Тартусском университете. — в кн.: Изучение и применение лектинов. Т.1 Общие вопросы. Химия и биохимия лектинов. Ученые записки Тартусского ун-та. -1989 вып.869: 3-18.
4. Корсун В.Ф., Лахтин В.М., Корсун Е.В., Мицконас А. Фитолектины. — Москва: Практическая медицина.2007: 288 С.
5. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Пожалостина Л.В., Кахановская Н.А., Корсун В.Ф. Лечебный и пробиотический потенциал лектиносодержащих фитопрепаратов (Новые подходы на основе фитокомплекса Эндокринола). Практическая Фитотерапия (Москва) 2009, 1: 5 — 12.

6. Литвиненко В.И., Мартынов А.В., Попова Н.В., Кожух И.А. Некоторые технологические и биофармацевтические особенности экстракции лектинов бадана. Фармаком. 2002, 3: 123 – 127.
7. Луцки М.Д. Протипухлинні властивості фітогемаглютинину з омели (*Viscum album* L.). Доповіді АН УРСР 1975, 6: 541-544.
8. Луцки М.Д., Панасюк Е.Н., Луцки А.Д. Лектины. 1981:156 С.
9. Молоденков М.Н., Микаэлян Н.П., Жигулевцева А.П. Влияние фитогемагглютина на регенеративные процессы. Хирургия. 1980, 5: 87-89.
10. Поспелова А.Д. Оцінка біологічної активності лектинів і лектинвмісних рослинних екстрактів. Вісник Полтавського держ.с.-г. інституту. 1998, 1: 41-43.
11. Саркисян Ю.Х., Попов В.И. Применение фитогемагглютина (ФГА) в комплексном лечении лучевых поражений кожи. Медицинская радиология. 1972, 7: 7-10.
12. Смирнова М.А. Лечебное питание. Питание по II группе крови. Рецепты полезных блюд. Москва: Рипол классик. 2013: 64 С.
13. Тимошенко А. В. Лектины лекарственных растений. Весті національної академії наук Беларусі. Серія біологічних наук. 2003, 2: 104 – 113.
14. Шмалько Н.А. Лектины растительного происхождения как регуляторы жирового обмена // http://www.rusnauka.com/25_NNP_2011/Biologia/9_92002.doc.htm
15. Antonjuk L.Ya., Antonjuk V.O. Influence of oinment bases on a release rate of phytohemagglutinin (PHA) from oinments. /Book of abstracts Interlec 11, Eleventh International Lectin Conference, Tartu University, June 4-9. 1989, P.3
16. Antonyuk V.O., Stoika R.S. Hemolytic Lectins from the Higher Mushroom // in book *Mushrooms: Types, Properties, and Nutrition* – Nova Publiciers /Editors: Sophie Andres and Niko Baumann. – 2012. – p. 195 – 214.
17. Astaldi G., Gosta G., Aizo R. Phytohemagglutinin in leukaemia. // Lancet. 1965, 1: 1394.
18. Baintner K, Kiss P, Bardocz S, Pusztai A. Effect of orally administered plant lectins on intestinal liquor accumulation and amylase activity in rats. Acta Physiol Hung. 2004, 91 (1): 73-81.
19. Bardocz S, Grant G, Pusztai A. The effect of phytohaemagglutinin at different dietary concentrations on the growth, body composition and plasma insulin of the rat. Br J Nutr. 1996, 76 (4): 613-626.
20. Beuth.J, Ko H.L., Schneider H., Tawadros S., Kasper H.U., Zimst H., Schierholz J.M. Intratumoral application of standardized mistletoe extracts down regulates tumor weight via decreased cell proliferation, increased apoptosis and necrosis in a murine model. Anticancer Res 2006, 26: 4451-56.
21. Bies C., Lehr C.-M., Woodley J.F. Lectin-mediated drug targeting: history and applications Adv. Drug delivery reviews. 2004, 56 (4): 425–435
22. Cebovic T, Spasic S, Popovic M. Cytotoxic effects of the *Viscum album* L. extract on Ehrlich tumour cells in vivo. Phytotherapy Research. 2008, 22: 1097-1103.
23. Chan W.L, Zheng Y.T, Huang H, Tam S.C. Relationship between trichosanthin cytotoxicity and its intracellular concentration. Toxicology 2002, 177 (2-3): 245-251.
24. Chen X.Y., Link T.M., Schramm V.L. Ricin: kinetics, mechanism, and RNA stem loop inhibitors Biochemistry. 1998, 37 (33):11605-13.
25. D'Adamo P.J., Whitney C. Eat Right 4 Your Type: The Individualized Diet Solution to Staying Healthy, Living Longer & Achieving Your Ideal Weight /London: Century 1997: 375 P.
26. Fodstad O., Olsnes S., Pihl A. Inhibitory effect of abrin and ricin on the growth of transplantable murine tumors and of abrin on human cancers in nude mice. Cancer Res. 1977, 37(12): 4559-67.
27. Foissac X., Loc N.T., Christou P, Gatehouse A.M.R., Gatehouse J.A. Resistance to green leafhopper (*Nephotettix virescens*) and brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in transgenic rice expressing snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA). J Insect Physiol 2000, 46: 573–583.
28. Kordas K., Szalmay G., Bardocz S., Pusztai A., Varga G. Phytohaemagglutinin inhibits gastric acid but not pepsin secretion in conscious rats. J Physiol Paris. 2001, 95 (1-6): 309-314.
29. Law, L. K., Tam, P. P., Yeung, H. W. Effects of α -trichosanthin and -momorcharin on the development of peri-implantation mouse embryos. J. Reprod. Fertil. 1983, 69: 597-604.
30. Lewis M., Humble I., Lee S., Phillips T. The effect of intravenous PHA in patient with a dissiminated malignant melanoma: a clinical and immunological study. Rew. Europ. Etud. Clin. Biol. 1971, 16: 924-927.
31. Manohar B., Divakar S. Enzymatic synthesis of cholecalciferol glycosides using β -glucosidase from sweet almond. J Food Sci Technol. 2010, 47 (5): 469–475.
32. Parslew R, Jones K. T. Rhodes J.M. Sharpe G.R. The antiproliferative effect of lectin from the edible mushroom (*Agaricus bisporus*) on human keratinocytes: preliminary studies on its use in psoriasis. British Journal of Dermatology. 1999, 140 (1): 56-60.
33. Robbers J.E., Speedie M.K., Tyler V.E. Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology 1996. – Baltimore: Williams & Wilkins. 337 P.
34. Ponzzone A., De Sanctis C., Fabris C. Maintenance of the mitogenic effect in vitro in lymphocytes obtained from subjects treated with purified PHA. Minerva Pediatr. 1971, 23: 234-40.
35. Salazar F., Sewell H.F., Shakib F., Ghemmaghami A.M. The role of lectins in allergic sensitization and allergic disease. J of Allergy and Clin. Immunol. 2013, 132(1): 27 -36
36. Thies A., Dautel P., Meyer A., Pfeller U., Schumacher U. Low-dose mistletoe lectin-I reduces melanoma growth and spread in a scid mouse xenograft model. Br J Cancer 2008, 98: 106-112.
37. Tonevitsky A., Agapov I., Chelnokova O., Moiseyevich M., Marx U. Comparison between the mechanisms of action of plant toxins ricin and viscumin on the stage of intracellular dissociation. Arzneimittelforschung. 2002, 52 (6): 500-505.
38. Tullis R H., Duffin R.P., Ichim T.E., Joyce J A., Levin N.W. Modeling Hepatitis C Virus Therapies Combining Drugs and Lectin Affinity Plasmapheresis Blood Purif. 2010, 29: 210-15.
39. Tullis R.H., Duffin R.P., Handley H.H., Sodhi P., Menon J., Joyce J. A., Kher V. Reduction of hepatitis C virus using lectin affinity plasmapheresis in dialysis patients. Blood Purif. 2009, 27 (1): 64-69.
40. Ueno S. Mojic M., Ohashi Y., Higashi N., Hayakawa Y, Irimura T. Asialoglycoprotein Receptor Promotes Cancer Metastasis by Activating the EGFR–ERK Pathway. Cancer Res. 2011, 71 (20): 6419–27.
41. Wimer B.M. Curative potential of foremost mitogen applications. Cancer Biother Radiopharm. 2003, 18 (6): 903-916.
42. Wu W, Harley P.H, Punt J.A, Sharrow S.O, Kears K.P. Identification of CD8 as a peanut agglutinin (PNA) receptor molecule on immature thymocytes. J Exp Med. 1996, 184 (2):759-64.

Правила проведения исследований биоаналоговых лекарственных средств (биоаналогов)

Группа экспертов ведущих российских фармацевтических компаний:

Иванов Роман¹, Секарёва Галина¹, Кравцова Ольга¹, Кудлай Дмитрий², Лукьянов Сергей², Тихонова Ирина³, Дёмин Александр⁴, Максумова Лола⁵, Никитина Ирина⁶, Обухов Александр⁷, Зайцев Дмитрий⁷, Степанов Алексей⁷, Носырева Марина⁷, Самсонов Михаил⁸

¹ — ЗАО «БИОКАД»

² — ЗАО «Генериум»

³ — ЗАО «ФармФирма «Сотекс»

⁴ — ООО «БиоИнтегратор» (группа компаний ЦВТ «ХимРар»)

⁵ — Группа Компаний «ГЕРОФАРМ»

⁶ — ЗАО «Фарм-Холдинг» группы компаний «ГЕРОФАРМ»

⁷ — ОАО «Фармстандарт»

⁸ — ЗАО «Р-Фарм»

Введение

В настоящих Правилах изложены основные принципы нормативного регулирования доклинического и клинического изучения биоаналоговых лекарственных средств (далее — биоаналогов), в отношении которых заявлено, что они аналогичны инновационным биологическим лекарственным препаратам.

Бурное развитие биотехнологий приводит к быстрому совершенствованию подходов к доказательству биоаналогичности. Общая тенденция развития регуляторных систем развитых стран направлена на постепенное уменьшение объёма клинических исследований биоаналогов при условии доказательства биоаналогичности с использованием высокочувствительных методов доклинических исследований. В связи с этим предполагается дальнейшее развитие изложенных в данных Правилах подходов по пути использования последних достижений науки и техники при проведении сравнительных доклинических исследований. При должном обосновании, доказательство отсутствия значимых различий биологических свойств с использованием высокочувствительных методов может позволить сократить объёмы клинических испытаний биоаналогов.

1. Рассматриваемые вопросы

Правила содержат требования, предъявляемые уполномоченными контролирующими организациями, которые необходимо выполнить до выхода биоаналога на рынок, включая сравнительные исследования качества, доклинические и клинические исследова-

ния, а также требования к пострегистрационному мониторингу безопасности биоаналогов.

Правила разработаны для биоаналогов, которые в качестве активного вещества содержат хорошо охарактеризованные белки, получаемые с использованием технологий рекомбинантных ДНК (биотехнологические лекарственные препараты).

В основе доказательства эквивалентности биоаналога инновационному биологическому лекарственному препарату лежит детальное и всеобъемлющее изучение свойств биоаналога в сравнении с инновационным (оригинальным) биологическим лекарственным препаратом в соответствии с действующим российским законодательством и данными Правилами. Программа исследований биоаналога должна включать поэтапное проведение исследований качества и доклинических исследований.

Доказательство высокой степени сходства биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата может стать основанием для сокращения объёма клинических исследований, необходимых для доказательства терапевтической эквивалентности.

Любой лекарственный препарат можно рассматривать как биоаналог, только если его эквивалентность инновационному биологическому лекарственному препарату была доказана в рамках комплекса физико-химических, биологических, доклинических и клинических исследований, соответствующих требованиям действующего российского законодательства и данным Правилам.

Ниже приведены определения терминов, используемых в настоящих Правилах.

Инновационный (оригинальный) биологический лекарственный препарат — лекарственный препарат, содержащий впервые полученную фармацевтическую субстанцию или новую комбинацию фармацевтических субстанций, произведённых или выделенных из биологического источника, эффективность и безопасность которого подтверждена результатами доклинических и клинических исследований.

Биоаналоговый лекарственный препарат (биоаналог) — биологический лекарственный препарат, схожий по параметрам безопасности, качества и эффективности с инновационным биологическим лекарственным препаратом в эквивалентной лекарственной форме.

В данных Правилах рассматриваются общие принципы исследования биоаналогов. Требования, специфичные для отдельных классов биоаналоговых лекарственных препаратов (например, препаратов моноклональных антител, интерферонов бета, инсулинов и т.д.) изложены в соответствующих приложениях.

2. Принципы доказательства биоаналогичности

Доказательство биоаналогичности — это последовательный процесс, включающий проведение обширного набора исследований, которые позволяют продемонстрировать эквивалентность биоаналога инновационному биологическому лекарственному препарату путём сравнения их структурных, физико-химических и биологических характеристик.

До начала разработки биоаналога должен быть составлен целевой профиль качества продукта, основанный на результатах исследований качества инновационного биологического лекарственного препарата. Целевой профиль качества должен быть ориентиром в ходе всех мероприятий по разработке биоаналога. Следует определить критические показатели качества — те биологические и физико-химические характеристики молекулы, которые потенциально могут оказывать влияние на безопасность и эффективность лекарственного препарата.

В ходе разработки биоаналога должно быть доказано, что его показатели качества соответствуют показателям качества инновационного биологического лекарственного препарата, а также то, что процесс производства биоаналога обеспечивает стабильность критических показателей качества.

В ходе масштабирования процесса производства биоаналога значения критических показателей качества могут меняться. Поэтому сравнительные исследования необходимо проводить на сериях биоаналога, произведённых в опытно-промышленном масштабе, с использованием технологии, которая будет использоваться для производства коммерческих серий биоаналога.

Хотя объём исследования для биоаналогов обычно меньше, чем требуемый для одобрения инновацион-

ного биологического лекарственного препарата, объём исследования биоаналога должен быть достаточным для подтверждения того, что он отвечает требованиям, предъявляемым к безопасности, эффективности и качеству лекарственных средств.

Объём доклинических и/или клинических исследований может быть сокращён относительно объёма исследований, необходимого для государственной регистрации инновационного лекарственного препарата, в случае, если эквивалентность биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата будет доказана в ходе сравнительных физико-химических испытаний и исследований биологической активности.

Процесс производства биоаналога может отличаться от процесса производства инновационного лекарственного препарата; особенности производственного процесса могут оказывать существенное влияние на критические показатели качества биологического лекарственного препарата. Поэтому результаты сравнительных исследований должны быть представлены в совокупности с данными, подтверждающими стабильность производственного процесса.

Если физико-химические исследования, доклинические исследования *in vitro* или *in vivo* (у релевантного вида животных) или клинические исследования у человека выявляют какие-либо значимые различия (биологические, клинические и т.п.) с препаратом сравнения, которые неблагоприятно изменяют соотношение польза/риск при применении исследуемого препарата, его нельзя квалифицировать как биоаналог.

В случае сходного механизма действия (например, при использовании одного и того же рецептора) доказательства терапевтической эквивалентности биоаналога по одному показанию могут быть экстраполированы на другие показания к применению инновационного биологического лекарственного препарата.

3. Выбор препарата сравнения

Результаты сравнения биоаналога с коммерчески доступными стандартными образцами, его соответствие фармакопейным статьям или спецификации инновационного биологического лекарственного препарата не является основанием для признания биоаналогичности. Критическое значение для разработки биоаналога имеет сравнение с инновационным биологическим лекарственным препаратом, который должен быть зарегистрирован на основании результатов полной программы доклинических и клинических исследований. Обоснование для выбора препарата сравнения должно быть представлено производителем биоаналога в документах, представляемых для государственной регистрации.

Выбранный препарат сравнения должен использоваться во всех сравнительных испытаниях качества, а также доклинических и клинических исследованиях.

При выборе препарата сравнения необходимо руководствоваться следующими принципами:

- Препарат сравнения должен быть зарегистрирован на основании полной информации о его безопасности, эффективности и качестве, а также являться инновационным биологическим лекарственным препаратом. Таким образом, другой биоаналог не может рассматриваться в качестве возможного препарата сравнения.
- В случае если препарат сравнения не зарегистрирован в Российской Федерации, он должен быть зарегистрирован в США, ЕС или Японии и иметь опыт применения в течение не менее 4 лет. В случае если инновационный биологический лекарственный препарат применяется только для паллиативной терапии и/или необходимость его обращения на территории Российской Федерации обусловлена потребностью национальной системы здравоохранения, наличие четырёхлетнего периода является необязательным требованием.
- В процессе доклинических и клинических исследований биоаналога должен использоваться один и тот же препарат сравнения. Использование различных препаратов сравнения в рамках доклинической и клинической разработки биоаналога недопустимо.
- Способ применения биоаналога и его доза должны быть такими же, как у препарата сравнения (инновационного биологического лекарственного препарата).
- Данные сравнительных испытаний должны подтвердить идентичность первичной структуры действующего вещества биоаналога и препарата сравнения.

Для доклинической и клинической разработки биоаналога может быть выбран инновационный биологический лекарственный препарат, не зарегистрированный на территории Российской Федерации, но зарегистрированный в другой стране на основании полноценного регистрационного досье. Однако данные, полученные в ходе сравнительных доклинических и клинических испытаний биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата, не могут быть использованы в регистрационном досье инновационного биологического лекарственного препарата, подаваемом в уполномоченные органы здравоохранения, и не являются основанием для его регистрации в Российской Федерации.

В отчётах о сравнительных исследованиях должна быть приведена полная информация о сериях инновационного биологического лекарственного препарата, использованного в качестве препарата сравнения (торговое наименование, лекарственная форма,

состав, страна происхождения, номера серий, срок годности).

С целью получения достоверных данных о пределах вариабельности критических показателей качества инновационного биологического лекарственного препарата должны быть проанализированы многочисленные серии препарата сравнения.

Стандартные образцы не могут быть использованы в качестве препарата сравнения, однако их использование играет ключевую роль в процессах квалификации и валидации методов анализа.

4. Производственный процесс

Процесс производства биоаналога должен быть надлежащим образом охарактеризован. Если доступна информация о продуцентах, применяемых для производства инновационного биологического лекарственного препарата, предпочтительно использовать такую же клеточную линию или штамм-продуцент того же происхождения. Однако при разработке биоаналога возможно использование другой клеточной линии или штамма-продуцента, в случае если она была всесторонне охарактеризована и признана пригодной для этих целей. При этом с целью минимизации возможности значительных изменений критических показателей качества биоаналога, способных повлиять на иммуногенность или другие характеристики рекомбинантного белка, необходимо представить соответствующее обоснование выбора продуцента.

Для подтверждения стабильности и безопасности продуцента обязательным условием при производстве биоаналогов является создание и аттестация основного (ОБК, Master Cell Bank, MCB), рабочего (РБК, Working Cell Bank, WCB) и послепроизводственного (ППБК, Post Production Cell Bank, PPCB) банков клеток, которая должна производиться с соблюдением принципов надлежащей лабораторной практики (GLP, Good Laboratory Practice) и в полном соответствии с рекомендациями, изложенными в разделах Q5A, Q5B и Q5D Трёхстороннего соглашения по гармонизации технических требований для регистрации фармацевтических продуктов для применения у человека (ICH Harmonised Tripartite Guideline). Описание производственного процесса (предоставляется в уполномоченные регуляторные органы в составе регистрационного досье) должно включать стратегию создания и поддержания банков клеток, обеспечивающую стабильность продуцента, а также информацию обо всех стадиях технологического процесса: культивирования, выделения и очистки, исследований возможного взаимодействия с первичной упаковкой (если она отличается от упаковки инновационного биологического лекарственного препарата) и т.д., а также оценку его влияния на характеристики биоаналога.

4.1. Разработка и реализация этапов производственного процесса

4.1.1. Получение, отбор и оптимизация клеточных линий-продуцентов биоаналогов

Должна быть представлена информация о способе создания продуцента биоаналога с описанием истории родительской клеточной линии, а также описанием технологии получения, отбора и оптимизации клона-продуцента.

Должна быть представлена информация относительно последовательностей генов, применяемых при получении продуцента. Должны быть объяснены детали посттрансляционных модификаций при их наличии (гликозилирование, окисление, дезамидирование, и т.д.).

4.1.2. Создание, поддержание и контроль хранения банков клеточных линий-продуцентов биоаналогов

Должна быть представлена информация о стратегии создания, поддержании и контроле хранения основного, рабочего и слепопроизводственного банков клеток клона-продуцента биоаналога (ОБК, РБК и ППБК продуцента).

4.1.3. Аттестация банков клеточных линий-продуцентов биоаналогов

Должны быть представлены данные по аттестации основного, рабочего и слепопроизводственного банков продуцента биоаналога.

Перечень тестов для ОБК, РБК и ППБК, проведенных в соответствии с международными рекомендациями (Q5A, Q5B и Q5D, ICH Harmonised Tripartite Guideline) и с соблюдением принципов GLP, должен включать:

- вирусологические исследования, проведенные на чувствительных клеточных культурах, на животных и методом электронной микроскопии, подтверждающие отсутствие контаминации неспецифическими и специфическими вирусами, в том числе ретровирусами;
- микробиологические исследования, подтверждающие отсутствие контаминации бактериями, грибами и микоплазмами, в том числе некультивируемыми микоплазмами;
- исследования по идентификации продуцента, подтверждающие видовую принадлежность линии клеток и отсутствие кросс-контаминации другими клеточными линиями или штаммами, в том числе тестирование, подтверждающее стабильность морфологических и ростовых характеристик, а также подтверждение стабильности величины специфической продуктивности;
- генетические исследования, подтверждающие стабильность экспрессии и количества копий

рекомбинантного гена, в том числе, отсутствие мутаций в последовательности мРНК рекомбинантного гена и стабильность генома продуцента методом цитогенетического анализа или фингерпринтинга.

Если на каком-то этапе технологического процесса предусмотрено использование культуральных сред или добавок с использованием компонентов животного происхождения, то обязательно предоставление документов и сертификатов качества фирмы-производителя, подтверждающих отсутствие контаминации посторонними агентами, в том числе вирусного происхождения.

В случае выявления вирусов при аттестации банков продуцента биоаналога, необходимо провести их идентификацию и показать их полную элиминацию при проведении валидации процесса вирусной очистки на различных стадиях производственного процесса.

4.1.4. Разработка процесса ферментации/культивирования

Должны быть произведены, как минимум, три опытно-промышленные серии биоаналога, и получены воспроизводимые данные по процессу культивирования (объем серии должен обеспечивать получение достаточного количества очищенного продукта, позволяющего провести доклинические испытания).

В процессе культивирования должен производиться мониторинг и контроль основных параметров процесса.

Должны быть приведены подробные данные по процессу культивирования продуцента биоаналога для репрезентативной серии с описанием динамики роста клеток, их жизнеспособности, с представлением данных о физических параметрах (рН, температура, концентрация растворенного кислорода, скорость перемешивания), а также о расходе основных субстратов и накоплении ключевых метаболитов.

Накопление продукта должно быть выражено в единицах специфической (пг/Кл/день) и волюметрической продуктивности (г/литр).

Должны быть представлены данные, подтверждающие, что выход белка на единицу объема культуральной жидкости остается постоянным для всех серий, получаемых в процессе культивирования.

Необходимо продемонстрировать, что продуктивность используемого продуцента является воспроизводимой и поддающейся измерению.

Продуктивность необходимо подтверждать с использованием нескольких методик. В частности, при получении моноклональных антител необходимо определять продуктивность тремя различными способами: иммуноферментным анализом на полноразмерные антитела и методиками определения концентрации антител с помощью ВЭЖХ и на приборе ForteBio Octet (или аналогичном).

4.1.5. Разработка технологического процесса выделения и очистки биоаналога

Описание технологического процесса выделения и очистки биоаналога должно включать:

- Описание этапов выделения и очистки белка, а также количественного выхода продукта на каждой стадии.
- Описание качества получаемого белка, если исходный материал подвергается агрегации, или если белок получают из телец включения; подробное описание процесса ренатурации белка, специфической активности, кривой «доза-ответ», данных по стабильности, подтверждение стабильности и отсутствия агрегации.
- Данные по изменению содержания процесс-ассоциированных примесей (остаточные белки продуцента, остаточная ДНК-продуцента, эндотоксины) на каждой стадии процесса выделения биоаналога.
- В случае использования в процессе выделения иммуноаффинных сорбентов с лигандами белкового происхождения (иммуноглобулины, белок и др.) должны быть предоставлены данные о содержании белковых лигандов в препарате биоаналога.
- В случае биоаналогов, получаемых из клеток млекопитающих, для обеспечения вирусной безопасности, должна проводиться валидация процесса вирусной очистки от эндогенных вирусов, с использованием четырёх различных модельных вирусов, представителей *m<0x0441>e*-мейства *retroviridae*, *Reoviridae*, *Parvoviridae* и *Paramyxoviridae* в соответствии с рекомендациями, изложенными в ICH Q5A guideline: “viral safety Evaluation of Biotechnological Products Derived From Cell Lines of Human or Animal Origin”.
- Данные по воспроизводимости технологического процесса для трёх последовательных опытно-промышленных серий субстанции, получаемых при выделении и очистке белка из трёх независимых циклов культивирования продуцента биоаналога.

Чётко охарактеризованный производственный процесс и сопутствующие ему процедуры производственного контроля, соответствующие Правилам производства и контроля качества лекарственных средств, обеспечивают стабильное производство биоаналога, обладающего физико-химическими и биологическими характеристиками инновационного биологического лекарственного препарата. В регистрационном досье необходимо указывать следующие данные:

- Детальное описание процесса получения активной фармацевтической субстанции и готовой лекарственной формы;

- Критические показатели качества продукта;
- Процедуры контроля производственного процесса;
- Критические параметры производственного процесса;
- Данные по стабильности биоаналога;
- Данные по сериям, используемым для подтверждения стабильности и/или сериям, используемым для валидации процесса (при их наличии).

4.2. Сравнительные исследования показателей качества

4.2.1. Принципы сравнительного исследования качества

Эквивалентность инновационному биологическому лекарственному препарату должна быть доказана в отношении готовой лекарственной формы.

При сравнении качества биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата необходимо использовать самые современные методы физико-химических и биологических исследований, обладающие достаточной чувствительностью для выявления возможных различий. Основные показатели качества, которые должны быть охарактеризованы в рамках сравнительных исследований, приведены в приложении.

В случае невозможности выполнения исследования непосредственно на лекарственном препарате (низкая концентрация действующего вещества, присутствие вспомогательных веществ, затрудняющих проведение исследования и т.п.) материал для исследования может быть приготовлен путём экстракции из лекарственного препарата, концентрирования или другими приемлемыми способами. При этом отсутствие влияния применяемых методов пробоподготовки на результаты сравнительного исследования должно быть надлежащим образом обосновано.

Для каждого критического показателя качества в целевом профиле качества биоаналога должен быть установлен приемлемый предел вариабельности, основанный на статистическом анализе результатов исследований нескольких серий инновационного биологического препарата. Для установления пределов вариабельности допустимо использование данных, полученных при анализе серий инновационного биологического лекарственного препарата, произведённых до и после внесения изменений в производственный процесс, если таковое имело место. Пределы вариабельности, используемые в процессе подтверждения биоаналогичности, уже пределов, указываемых в спецификации на лекарственный препарат.

С учётом вариабельности определяются границы доверительного интервала, при попадании в который медианы значений показателя для биоаналога, инновационный биологический и биоаналогичный препараты считаются эквивалентными по рассматриваемому показателю.

Вывод об эквивалентности критических показателей качества делается на основе сопоставления результатов исследования нескольких серий биоаналога и нескольких серий инновационного биологического препарата. Применяются непараметрические критерии оценки различий между двумя независимыми выборками, позволяющие сравнить их однородность и масштаб. Кроме того, сопоставляется значение медианы показателя биоаналога и доверительный интервал значений показателя, полученных при анализе серий инновационного препарата. Биоаналог и инновационный препарат считаются эквивалентными в случае, если уровень значимости для каждого критерия не меньше 0.05, а медиана показателя качества биоаналога находится в пределах доверительного интервала значений показателя инновационного препарата.

Вариабельность свойств биологических препаратов делает неизбежной возможность отличий показателей качества биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата.

Различия между биоаналогом и инновационным биологическим лекарственным препаратом, которые могут быть выявлены на этапе сравнительных исследований, необходимо оценить с точки зрения их потенциального влияния на безопасность и эффективность биоаналога, при этом могут потребоваться дополнительные исследования качественных характеристик, а также дополнительные доклинические и клинические исследования. Должны быть представлены данные, подтверждающие, что эти различия не будут влиять на безопасность и эффективность при использовании у человека. Особое внимание должно быть уделено влиянию различий на биологическую активность и иммуногенность биоаналогового лекарственного препарата.

Допустимо отличие по примесям, имеющим отношение к процессу производства, однако уровень таких примесей должен быть минимизирован, а отсутствие негативного влияния на безопасность обосновано. Отличия, которые могут обуславливать меньшие риски при применении биоаналога (например, более низкий уровень примесей) не могут быть препятствием для признания биоаналогичности.

Таким образом, вывод о биоаналогичности делается на основании оценки статистической достоверности различий критических показателей качества биоаналога и инновационного препарата с учётом клинической значимости различий, если таковые выявлены.

В случае внесения изменений, которые могут влиять на критические показатели качества биоаналога, после его государственной регистрации, необходимо проводить сравнительные исследования между сериями биоаналога до и после внесения изменений с целью подтверждения отсутствия негативного влияния вносимых изменений на соотношение польза/риск при его медицинском применении. При этом проведения повторных сравнительных исследований биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата не требуется.

4.2.2. Аналитические методы

Выбор аналитических методик для исследования различных свойств биоаналога должен быть сделан с учётом возможности установления эквивалентности критических показателей качества по отношению к инновационному биологическому лекарственному препарату. Некоторые показатели (например, наличие агрегатов) могут потребовать применения нескольких независимых (ортогональных) методов анализа. Используемые аналитические методики должны отвечать современным требованиям и обеспечивать возможность установления даже самых незначительных различий между исследуемыми образцами. Желательно руководствоваться сведениями, содержащимися в международных регламентирующих документах (Европейская Фармакопея и т.п.).

Оценка качественных характеристик исследуемых лекарственных препаратов (как биоаналога, так и инновационного биологического лекарственного препарата) должна осуществляться с использованием воспроизводимых и надёжных методов анализа.

Методики, используемые для характеристики выпускаемой серии (как для исследований стабильности, так и для контроля качества), должны быть валидированы в соответствии с рекомендациями ICH:

- ICH Q2: Validation of analytical procedures: text and methodology.
- ICH Q5C: Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products.
- ICH Q6B: Specifications: Test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products.

В сравнительных исследованиях следует использовать образцы биоаналога, инновационного биологического лекарственного препарата (в качестве препарата сравнения), положительный и отрицательный контроль (при необходимости). Для обеспечения статистической достоверности каждый количественный эксперимент должен быть произведён в трёх повторах. Список необходимых физико-химических и биологических методов оценки свойств различных лекарственных препаратов биологической природы, в том числе рекомбинантных белков, терапевтических ферментов, моноклональных антител и др., представлен в приложении. Следует отметить, что сведения, содержащиеся в приложении, носят рекомендательный характер, а требования для выполнения отдельных методик могут отличаться.

4.2.3. Характеристика лекарственного средства

Исследования характеристик биоаналогов включают оценку физико-химических свойств, структуры,

биологической активности, иммунологических свойств, анализ функциональных свойств, чистоты (примесей, связанных с производственным процессом и с продуктом). Необходимо следовать принципам, описанным в руководстве ICH Q6B, и требованиям ведущих фармакопей.

- i. Структурные и физико-химические свойства: анализ физико-химических характеристик наряду с другими важными физико-химическими свойствами должен включать определение первичной структуры продукта и структур более высокого порядка. Необходимо подтвердить, что биоаналог имеет такую же аминокислотную последовательность, как инновационный биологический лекарственный препарат. В тех случаях, когда имеют место посттрансляционные модификации, они должны быть идентифицированы и количественно охарактеризованы. В случае биоаналогов, полученных из клеток млекопитающих, должны быть предоставлены данные о профиле гликозилирования, полученные с применением как минимум двух различных методов. Профиль гликозилирования биоаналога необходимо сравнить с данными, полученными при исследовании нескольких (не менее чем трёх) серий инновационного биологического лекарственного препарата.

При выявлении каких-либо значимых различий, они должны быть интерпретированы и критически оценены в последующих доклинических и клинических исследованиях.

- ii. Биологическая активность: аналитические методики и, в частности, тест-системы для их выполнения должны быть откалиброваны с использованием международного или национального стандарта. Если такие стандарты недоступны, должен быть разработан рабочий стандарт в соответствии с рекомендациями ICH. В одном эксперименте должно быть не менее 10 повторов с использованием роботизированных методов для получения более достоверных результатов в связи с высокой вариабельностью тестов *in vitro*. В случае биоаналогов моноклональных антител должны быть проведены сравнительные исследования Fc-опосредованных функций (аффинность связывания как минимум с четырьмя Fcγ рецепторами (FcγRI, FcγRII, FcγRIII и FcγRn) и белком комплемента C1q, для антител к мембранным белкам — антитело-зависимая клеточная цитотоксичность, комплемент-зависимая клеточная цитотоксичность и проапоптотическое действие), сравнительные исследования Fab-опосредованных функций (аффинность связывания с антигеном, нейтрализация растворимого лиганда, активация или блокада мембранного рецептора, индукция апоптоза).

Эти исследования должны нести сравнительный характер и оценивать зависимость активности от концентрации лекарственного препарата, а не просто показывать ответ как таковой.

- iii. Перекрёстная реактивность: для препаратов, представляющих собой терапевтические моноклональные антитела, необходимо изучить перекрёстную реактивность по отношению к нецелевым антигенам тканей человека. Оценка перекрёстной реактивности должна быть проведена с помощью иммуногистохимических методов анализа на не менее чем 26 нормальных тканях человека.
- iv. Чистота и примеси: для полноценной характеристики биоаналога требуется оценка следующих параметров с использованием набора аналитических методов:
 - o Структурные варианты (например, изоформы, отличающиеся гликозилированием).
 - o Примеси, связанные с продуктом (например, агрегированный, окисленный или дезамидированный продукт).
 - o Примеси, связанные с клетками-продуцентами (например, белки клеток хозяина, остаточная ДНК продуцента и т. д.).

Необходимо провести сравнительную оценку различий по чистоте и профилю примесей для биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата с целью определения потенциального влияния возможных различий на безопасность и эффективность. Если для биоаналога выявляются дополнительные примеси, они должны быть идентифицированы и охарактеризованы. Проведение доклинических или клинических исследований может подтвердить отсутствие нежелательного влияния этих примесей на безопасность и эффективность биоаналога.

4.2.4. Спецификации

Спецификации устанавливаются для критических показателей качества продукта с целью обеспечения стабильности качества. Аналитические методы, включаемые в спецификации, могут быть такими же, как аналитические методы, используемые для установления сравнимости биоаналога, или могут отличаться от них. Установленные допустимые пределы должны быть обоснованы.

4.2.5. Лекарственная форма

Лекарственная форма биоаналога должна быть создана с учётом современного уровня знаний и технологий, и не обязательно должна быть идентична лекарственной форме оригинального препарата. Однако лекарственная форма биоаналога должна иметь тот же способ введения и применения, что и лекарственная

форма инновационного лекарственного препарата. Выбранная лекарственная форма и вспомогательные вещества, входящие в состав биоаналога, должны обеспечивать сопоставимые фармакокинетические характеристики, фармакологическое действие, а также достижение необходимого клинического эффекта.

Независимо от выбранной лекарственной формы должна быть продемонстрирована её стабильность и совместимость с материалами первичной упаковки. В случае каких-либо отличий от лекарственной формы инновационного биологического лекарственного препарата, должно быть представлено убедительное обоснование отсутствия негативного влияния данных отличий на безопасность и эффективность биоаналога.

4.2.6. Стабильность

Биоаналог должен пройти ряд испытаний для определения срока годности, условий хранения фармацевтической субстанции (только для биоаналога) и готовой лекарственной формы. Исследования стабильности должны проводиться с использованием параметров, репрезентативных для предполагаемых условий хранения и используемых типов упаковки в соответствии с применимыми в данном случае рекомендациями (например, ICH Q5C: Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products; WHO TRS 822 – Надлежащая производственная практика для биологических продуктов: Экспертный комитет ВОЗ по биологической стандартизации, 42 отчёт, Женева, Всемирная организация здравоохранения, 1992, приложение 1 (серия технических отчётов ВОЗ №822)).

Для определения сравнимости биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата и выявления сходных профилей деградации следует проводить сравнительные исследования стабильности в стрессовых условиях. Проведение сравнительных исследований стабильности при рекомендуемых условиях хранения не является обязательным.

5. Требования к доклиническим исследованиям

5.1. Доклинические исследования фармакодинамики и токсичности

Доклинические исследования должны быть проведены до начала любых клинических исследований. Эти испытания должны быть организованы как сравнительные и спланированы таким образом, чтобы обеспечить возможность выявления различий, если таковые будут, между биоаналогом и инновационным биологическим лекарственным препаратом. Дизайн доклинических исследований может различаться в зависимости от клинических параметров, таких как терапевтический индекс и спектр терапевтических показаний для применения препарата. Выбранный дизайн должен быть чётко обоснован с использованием

данных о доклинических испытаниях инновационного биологического лекарственного препарата.

Доклинические исследования должны быть проведены с применением готовой лекарственной формы биоаналога, которую планируется использовать в клинической практике, это же касается и используемого в качестве сравнения инновационного биологического лекарственного препарата. Отклонения от этого правила должны быть обоснованы. Лекарственная форма, дозировка и путь введения биоаналога должны быть эквивалентными инновационному биологическому лекарственному препарату. В случае несоответствия какого-либо из параметров, отчёт о доклиническом исследовании должен содержать исчерпывающее обоснование.

Программа доклинического изучения биоаналогов включает в себя следующие типы испытаний:

5.1.1. Фармакодинамические исследования

- I. Исследования *in vitro*: эквивалентность тестируемого и референтного биологического препарата может быть установлена на чувствительных клеточных культурах (например, исследование пролиферативной активности или оценка связывания со специфическим рецептором). В случае биоаналогов моноклональных антител необходима демонстрация сходного профиля реактивности биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата в отношении различных тканей человека.
- II. Исследования *in vivo*: оценка биологической/фармакодинамической активности *in vivo* является необязательной, если имеются достаточные данные исследований, проведённых *in vitro*. Исследования *in vivo* проводятся лишь в том случае, когда исследования, проведённые *in vitro*, не позволили выявить фармакодинамических эффектов.

Проведение дополнительных исследований *in vivo* является целесообразным, если в ходе предшествующих физико-химических и др. испытаний не было получено убедительных данных об идентичности качественных характеристик биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата (например, выявлена новая посттрансляционная модификация структуры биоаналога).

В случае если эквивалентность эффектов биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата установлены *in vitro* и не обнаружено каких-либо статистически значимых количественных различий, доклинические фармакодинамические исследования *in vivo* не проводятся.

5.1.2. Фармакокинетические исследования

Необходимость и объём проведения сравнительных исследований фармакокинетики определяются природой биоаналога и доступностью релевантных видов

животных. Выбранная модель должна обеспечивать возможность количественного сравнения фармакокинетических показателей биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата.

Сравнительные фармакокинетические исследования биоаналога выполняются на одном виде животных с использованием одной дозы, вводимой однократно, и предусматривают определение концентрации только в крови (сыворотке, плазме). Доза исследуемого препарата и препарата сравнения должна быть выбрана исходя из возможности нахождения минимальных различий в фармакокинетике обоих лекарственных средств.

Оцениваемыми показателями в фармакокинетических исследованиях являются:

- Площадь под кривой «концентрация-время» от момента времени 0 до бесконечности $AUC_{0-\infty}$
- Максимальная концентрация вещества C_{max}
- Период полувыведения $t_{1/2}$
- Объём распределения Vd
- Клиренс Cl

Статистический анализ результатов доклинического исследования фармакокинетики проводится с использованием методов описательной статистики.

Применение метода доверительных интервалов, используемого в исследованиях биоэквивалентности, не является обязательным.

5.1.3. Токсикологические исследования

При исследовании токсикологических свойств лекарственных препаратов необходимо провести исследование токсичности при многократном введении лекарственного препарата на релевантном виде животных (при его наличии).

Длительность исследования токсичности при многократном введении обычно составляет не менее 28 дней, а период восстановления — 14 дней. Однако длительность исследований может варьировать в зависимости от различных параметров и требует индивидуальной оценки. Случаи возможного отступления от вышеупомянутого правила в отношении определённых классов биоаналогов изложены в соответствующих приложениях.

При выборе дизайна исследования заявитель обязан исходить из доступных литературных сведений об инновационном биологическом лекарственном препарате. В отчёте о доклиническом исследовании должно быть представлено подробное научное обоснование выбранного дизайна исследования. При наличии подходящего вида животных, исследования можно проводить на животных одного пола с использованием одной дозы. Однако, если релевантные виды животных недоступны, исследования по токсичности должны быть проведены на двух видах животных: на грызунах и на животных, не относящихся к грызунам.

В исследовании токсичности целесообразно применить способ введения, соответствующий выбранному

для применения у человека. При невозможности этого может быть использован альтернативный способ введения, имеющий должное обоснование. При наличии нескольких одобренных путей введения, одобренных для применения у человека, для доклинических исследований целесообразно выбрать путь введения, обеспечивающий наибольшую биодоступность.

Дозу исследуемого препарата следует рассчитывать на основании терапевтической дозы инновационного биологического лекарственного препарата (предпочтительно использование метода межвидового переноса дозы). При необходимости до начала токсикологических исследований может быть проведено пилотное исследование по определению взаимосвязи дозы и ответа. Обычно в токсикологических исследованиях у животных следует использовать не менее двух-трёх уровней дозы биоаналога (например, низкая, средняя и высокая дозы, соответствующие однократной, двукратной и пятикратной дозе, эквивалентной человеческой). Референтный препарат может применяться только в максимальной дозе.

Любые различия в уровнях доз должны быть обоснованы и утверждены до начала исследований. В зависимости от режима назначения за основу могут быть взяты терапевтические схемы.

В рамках исследования токсичности при многократном введении должно быть оценено местно-раздражающее действие лекарственного препарата.

В протоколах и в отчётах по исследованию должна быть представлена полная информация по различным этапам исследования токсичности, соответствующая требованиям ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (GLP).

В случае проведения гистологических исследований заявители должны учитывать следующее:

- Любое наблюдение, расценённое как отклонение от описанной нормальной гистологической картины, должно быть документально зафиксировано, кроме того должна быть проанализирована частота подобных явлений во всех исследуемых группах.
- Значимость подобного изменения (как со статистической, так и с клинической точки зрения) должна быть проанализирована.

Некоторые биологические лекарственные препараты способны оказывать иммуномодулирующее действие. Эти препараты требуют более глубоких исследований влияния на иммунную систему.

Другие токсикологические исследования, включая оценку репродуктивной токсичности, мутагенности и канцерогенности, не входят в перечень обязательных доклинических испытаний биоаналогов за исключением случаев, когда необходимость подобных исследований установлена в рамках испытаний токсичности при многократном введении или обусловлена механизмом действия препарата.

5.1.4. Доклиническое исследование иммуногенности

Исследование иммуногенности биоаналога следует производить в сравнении с инновационным биологическим лекарственным препаратом у релевантного вида животных. Исследования иммуногенности могут проводиться в рамках исследования токсичности при многократном введении (которые также обычно могут быть совмещены с оценкой местно-раздражающего действия).

Помимо оценки способности исследуемых лекарственных препаратов вызывать выработку связывающих и нейтрализующих антител, в рамках исследования иммуногенности может быть исследован уровень иммунных комплексов в тканях-мишенях и т.п.

Тем не менее, данные по иммуногенности, полученные в ходе доклинических испытаний у животных, не могут быть напрямую экстраполированы на оценку безопасности биоаналога при клиническом использовании, то есть не являются предикторами иммуногенности биоаналогового лекарственного средства у человека (Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies (CHMP/BMWP/403543/2010); Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006).

Возможность отказа от проведения доклинических исследований иммуногенности в отношении определённых классов биоаналогов обсуждается в соответствующих приложениях.

5.1.5. Формирование отчётов и заключений о доклинических исследованиях

По завершении доклинических испытаний, данные о них (включая сведения о физико-химических свойствах, стабильности производственного процесса и самого биоаналога, эквивалентности инновационному биологическому лекарственному препарату и т.д.) оформляются в виде итоговых отчётов, и предоставляются в составе регистрационного досье для оценки уполномоченным регуляторным органом.

Полученные сведения необходимы для принятия решения о возможности дальнейшей клинической разработки (начала клинических испытаний у человека).

6. Требования к данным клинических исследований

Целью клинического исследования биоаналога является доказательство эквивалентности показателей фармакокинетики, фармакодинамики (при наличии соответствующих маркеров), безопасности, эффективности и иммуногенности биоаналогового и инновационного биологического лекарственных препаратов.

В отношении биоаналогов, как правило, проводятся исследования терапевтической эквивалентности

инновационному биологическому лекарственному препарату. Данные исследования должны предусматривать оценку сопоставимости показателей фармакокинетики, фармакодинамики, эффективности, безопасности и иммуногенности биоаналогового и инновационного биологического лекарственных препаратов. В случае если у инновационного биологического лекарственного препарата имеется более одного показания к применению, установленная идентичность механизма действия и доказательство терапевтической эквивалентности биоаналога по одному показанию могут быть экстраполированы на другие показания к применению инновационного биологического лекарственного препарата (см. раздел 7.5.).

6.1. Исследования фармакокинетики

Сравнительные исследования фармакокинетики (ФК) должны проводиться у здоровых добровольцев или у пациентов с целью демонстрации эквивалентности фармакокинетических характеристик биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата.

В тех случаях, когда введение исследуемых лекарственных средств здоровым добровольцам возможно, исследованию безопасности, эффективности и иммуногенности терапевтического применения у больных должно предшествовать исследование фармакокинетики, фармакодинамики и безопасности на здоровых добровольцах.

и тех случаях, когда введение инновационного биологического лекарственного препарата / биоаналога здоровым добровольцам невозможно с точки зрения безопасности и этичности (например, препараты для лечения онкологических заболеваний), допустимо получение всех необходимых данных в рамках одного исследования у больных с промежуточным анализом данных о безопасности. Кроме того, исследования фармакокинетики инновационного биологического лекарственного препарата / биоаналога у здоровых добровольцев не проводятся в случае, когда известно, что на фармакокинетику препарата влияют факторы, связанные с заболеванием (примером этого служит наличие мишень-опосредованного клиренса). В этих случаях оценка фармакокинетики допустима в рамках сравнительного исследования эффективности и безопасности биоаналога на целевой популяции пациентов (Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies (CHMP/BMWP/403543/2010)).

При разработке дизайна сравнительного фармакокинетического исследования необходимо учитывать следующие факторы:

- Период полувыведения
- Линейность фармакокинетических параметров
- Эндогенные уровни активного компонента, его возможные суточные колебания и вероятное

влияние на уровень биоаналога во время исследования (если применимо)

- Способ (способы) применения
- Показания к применению

Исследование фармакокинетики биоаналога может предусматривать как однократное, так и многократное введение исследуемого препарата и препарата сравнения. Выбор исследования должен быть обоснован исходя из данных о фармакокинетике и других характеристиках инновационного биологического лекарственного препарата. Допустимо использование следующих исследовательских моделей:

- сравнительное исследование фармакокинетики после однократного введения, в параллельных группах или перекрёстное (предпочтительно);
- сравнительное исследование фармакокинетики в параллельных группах после многократного введения.

6.1.1. Сравнительное исследование фармакокинетики после однократного введения

Доза для сравнительного фармакокинетического исследования биоаналога должна находиться в пределах известного дозового диапазона инновационного биологического лекарственного препарата. Протокол исследования должен содержать подробное обоснование выбора дозы. Следует использовать способ введения препарата, обеспечивающий наибольшую чувствительность для выявления возможных различий.

Протокол клинического исследования должен содержать статистическое обоснование выборки. Пределы фармакокинетической эквивалентности определяются заранее (до начала исследования) и должны быть в достаточной мере обоснованы (исходя из имеющихся научных данных о фармакокинетике инновационного биологического лекарственного препарата, а в их отсутствии — исходя из сведений об аналогичных лекарственных препаратах). В большинстве случаев фармакокинетика инновационного биологического лекарственного препарата и биоаналога считается эквивалентной, если границы оценённых 90% доверительных интервалов для отношений средних значений $AUC_{(0-t)}$ или $AUC_{(0-\infty)}$ (а также C_{max} , если этот показатель является дополнительной первичной конечной точкой) испытуемого препарата и препарата сравнения находятся в пределах 80 — 125%. Расширение границ доверительных интервалов для C_{max} (до 75-133%) допустимо в случае установленной высокой вариабельности фармакокинетики инновационного биологического лекарственного препарата.

Используемые аналитические методики должны быть воспроизводимы, валидированы и характеризоваться удовлетворительной специфичностью и чувствительностью. Используемая тест-система(ы) должна обеспечивать выявление действующего вещества

биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата (исходной молекулы и/или продуктов её деградации).

Основным оцениваемым показателем (первичной конечной точкой) в исследовании фармакокинетики после однократного введения служит площадь под кривой «концентрация-время» (AUC) до определённого момента времени (AUC_{0-t}) или до бесконечности ($AUC_{0-\infty}$). Обязательной вторичной конечной точкой является максимальная концентрация (C_{max}), дополнительными — период полувыведения ($T_{1/2}$), — время до достижения максимальной концентрации (T_{max}), объём распределения (V_d) и общий клиренс. В случае использования подкожного пути введения C_{max} следует отнести к первичным конечным точкам. Следует проводить полноценную оценку различий в кинетике элиминации биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата.

Эквивалентность абсорбции/биодоступности не может быть единственным оцениваемым показателем.

Дизайн, предусматривающий проведение исследования в параллельных группах, в большей степени применим для биологических лекарственных средств, характеризующихся длительным периодом полувыведения или препаратов, при использовании которых высока вероятность образования антител, а также в случаях, когда субъектом фармакокинетического исследования являются больные. В случае короткого периода полувыведения предпочтительно проведение исследования с использованием перекрёстного дизайна.

6.1.2. Сравнительные исследования фармакокинетики после многократного введения

Сравнительные фармакокинетические исследования в параллельных группах, предусматривающие многократное введение исследуемых препаратов, целесообразны для биоаналогов, требующих многократного (длительного) назначения. Подобный дизайн позволяет определить возможные различия фармакокинетики исследуемых лекарственных препаратов после достижения равновесной концентрации, что не представляется возможным в случае однократного введения (не позволяет исключить зависимость фармакокинетических параметров от времени и дозы).

Основным оцениваемым показателем в исследовании фармакокинетики после многократного введения служит площадь под кривой «концентрация-время» от момента 0 и до времени забора последнего образца (AUC_{0-t}), а также площадь под кривой «концентрация-время» при достижении равновесного состояния (AUC_{τ}). Вторичными конечными точками в таком виде исследования являются: максимальная концентрация (C_{max}) и равновесная концентрация (C_{trough}). В тех случаях, когда используемый режим введения препарата не позволяет достичь равновесной концентрации,

в исследованиях фармакокинетики при многократном применении в качестве первичной конечной точки допустимо использовать AUC_{0-t} , вторичной конечной точки — максимальную концентрацию (C_{max}).

Сравнительные фармакокинетические исследования, предусматривающие многократное введение исследуемых препаратов, целесообразно проводить в рамках исследований терапевтической эквивалентности.

В случае если сравнительные фармакокинетические исследования с многократным введением не проводятся, заявитель обязан предоставить подробное обоснование.

6.2. Фармакодинамические исследования

Как и фармакокинетические исследования, фармакодинамические (ФД) исследования биоаналога также должны носить сравнительный характер.

Сравнительные, в параллельных группах или перекрёстные ФД исследования на релевантной популяции (у здоровых добровольцев или больных) позволяют наиболее точно определить наличие или отсутствие различий между биоаналогом и инновационным биологическим лекарственным препаратом. Исследование фармакодинамики у добровольцев могут быть проведены при соблюдении 2 условий: возможность оценки маркера(ов) фармакодинамики и безопасность использования исследуемых препаратов.

Проведение сравнительных фармакодинамических исследований рекомендуется, если фармакодинамические свойства инновационного биологического лекарственного препарата хорошо охарактеризованы, и известен, по меньшей мере, один маркер, идентифицирующий эффективность молекулы. Взаимосвязь между дозой и экспозицией, фармакодинамическим маркером (маркерами), фармакодинамическим ответом и эффективностью должны быть хорошо изучены для инновационного биологического лекарственного препарата и быть использованы в обосновании дизайна исследования.

Диапазоны фармакодинамической эквивалентности должны быть заранее определены на основании данных о клинически значимых различиях (Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies (CHMP/BMWP/403543/2010)) и соответствующим образом обоснованы.

В рамках клинических фармакодинамических исследований следует оценивать клинически значимые параметры, а используемые суррогатные маркеры должны быть клинически валидированы. Фармакодинамические исследования можно комбинировать с фармакокинетическими исследованиями; в этом случае необходимо охарактеризовать взаимоотношения ФК и ФД показателей. В определённых случаях фармакодинамическое исследование может быть также частью клинических исследований III фазы.

6.3. Подтверждающие исследования по безопасности и эффективности

Неоспоримым правилом изучения любого биоаналога является сравнительная оценка безопасности и эффективности его применения у целевой популяции пациентов.

Основной целью клинических исследований биоаналогов является демонстрация сходных показателей эффективности и безопасности в сравнении с инновационным биологическим лекарственным препаратом, а не демонстрация эффективности (пользы для пациента) как таковой, которая уже была доказана для инновационного биологического лекарственного препарата. В связи с этим в исследованиях эффективности целесообразно использование суррогатных конечных точек (например, частота ответа или безрецидивная выживаемость вместо общей выживаемости).

За некоторыми исключениями сравнительные клинические исследования имеют критически важное значение для демонстрации сходства профилей безопасности и эффективности биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата.

Важное значение имеет дизайн исследований и предельные значения допустимых различий эффективности, в рамках которых исследуемые препараты будут считаться эквивалентными по эффективности. Вопрос о выборе этих границ должен быть обоснован с научной и клинической точки зрения. В соответствии с принципом выявления сходства препаратов предпочтение следует отдавать исследованиям терапевтической эквивалентности (что требует использования более узких диапазонов для выявления идентичности лекарственных препаратов). Если проводятся исследования не меньшей эффективности, их выбор должен быть чётко обоснован. Объем выборки должен быть определён на основании общепринятых статистических расчётов; диапазон различий (так называемая клинически незначимая разница) должен быть определён и обоснован до начала исследования.

Клиническое исследование биоаналога должно предполагать оценку его безопасности в сравнении с инновационным биологическим лекарственным препаратом по таким параметрам, как частота и тяжесть нежелательных реакций, а также их природа.

Сравнение должно проводиться у пациентов, которые получали лечение исследуемыми препаратами в течение приемлемого промежутка времени.

Необходимо произвести, как минимум, одно рандомизированное клиническое исследование безопасности и эффективности, характеризующееся достаточной мощностью и основанное на данных о сравнимости лекарственных препаратов, полученных в процессе доклинических исследований и исследований ФК/ФД (предпочтителен слепой дизайн). Проведение более одного клинического исследования эффективности и безопасности биоаналога, проведение исследований

по подбору оптимальных дозировок лекарственного препарата и курса лечения (исследований II фазы) и изучение биоаналога как «нового» лекарственного препарата (в т.ч. проведение клинических исследований у особых групп пациентов) требуется только в том случае если в ходе доклинических испытаний или предшествующих ФК/ФД исследованиях его идентичность инновационному биологическому лекарственному препарату не была подтверждена.

Проведение клинических исследований эффективности и безопасности биоаналога не требуется в том случае, если соблюдаются все три нижеперечисленные условия:

- Структурное и функциональное сходство биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата с высокой степенью достоверности охарактеризовано в рамках сравнительных физико-химических испытаний и фармакодинамических исследований *in vitro*.
- Эквивалентность биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата продемонстрирована в сравнительном исследовании ФК/ФД, которое в обязательном порядке включает оценку показателей, характеризующих безопасность (включая иммуногенность) и эффективность, и которое проведено в течение достаточного промежутка времени.
- Заявителем представлен подробный план управления рисками на постмаркетинговом этапе, что позволяет получить дополнительные данные по безопасности, при этом особое внимание должно быть уделено сбору данных по иммуногенности.

Подтверждающее клиническое исследование безопасности и эффективности должно быть обязательно проведено при отсутствии надёжного и валидированного фармакодинамического маркера.

6.4. Данные по безопасности и иммуногенности

Сравнительные данные по безопасности, основанные на результатах регистрационного исследования, в совокупности с опубликованными данными об инновационном биологическом лекарственном препарате, должны подтверждать отсутствие каких-либо непредвиденных рисков, связанных с безопасностью. В дальнейшем, в пострегистрационном периоде, первоначальные сведения о безопасности биоаналога следует рассматривать в совокупности с данными пострегистрационного мониторинга, что составляет основу для формирования исчерпывающих выводов о безопасности биоаналога.

Вне зависимости от оценки безопасности, проведённой перед государственной регистрацией, для всех биоаналогов необходимо получение пострегистрационных данных по безопасности, включая информацию по иммуногенности. Требования к пострегистрационным исследованиям безопасности представлены в разделе 8.3.

Исследования, направленные на оценку иммуногенности биоаналога, следует проводить как до государственной регистрации, так и после неё.

Иммуногенность биоаналогов следует оценивать в рамках адекватно спланированных исследований и при условии применения наиболее современных и информативных аналитических методик, учитывая потенциальное влияние этого показателя как на безопасность, так и на эффективность. Наибольшую насторожённость следует проявлять в отношении антител, обладающих потенциальным влиянием на безопасность и эффективность терапии (нейтрализующие антитела и антитела, характеризующиеся перекрёстной реактивностью).

Производитель биоаналога обязан предоставить подробное обоснование стратегии исследования иммуногенности. Необходимо проведение скринингового исследования на антитела, связывающие действующее вещество, с последующим проведением подтверждающего анализа.

Допускается использование только валидированных аналитических методов, позволяющих в полной мере охарактеризовать содержание антител (концентрацию или титр), а также тип образующихся антител. При разработке аналитической методики для исследования иммуногенности необходимо учитывать четыре основных принципа.

Во-первых, аналитические методики должны обладать достаточной чувствительностью. На уровне скринингового анализа допускается и даже приветствуется небольшой уровень ложноположительных результатов для максимально вероятного выявления «положительных», т.е. содержащих связывающие антитела, образцов.

Во-вторых, разработанная тест-система должна быть способна детектировать антитела разных изотипов (иммуноглобулины типа М и изотипы IgG), т.к. изотипический состав связывающих антител к препарату у одного и того же пациента изменяется с течением времени, а система детекции должна отличаться достаточной универсальностью.

В-третьих, учитывая тот факт, что антитела, которые вырабатываются у пациентов, могут отличаться авидностью, производитель биоаналога должен внимательно оценить авидность положительного контроля, используемого в аналитической методике. Таким образом, при разработке аналитической методики отдельное место занимает разработка положительного контроля, от которого в значительной степени зависит общая характеристика тест-системы и, соответственно, адекватность полученных результатов.

В-четвертых, на стадии разработки методики и её валидации, необходимо определить интерференцию биологического матрикса (например, компонентов сыворотки/плазмы пациентов с данным заболеванием), а также концентрацию препарата в сыворотке на данной точке исследования. Эти данные необходимо рассматривать в совокупности с фармакокинетическими данными, т.к. препарат, присутствующий в сыворотке

крови в достаточно большом количестве, может маскировать наличие связывающих антител.

При разработке подтверждающего анализа обычно используют метод конкуренции/иммунного истощения, а именно инкубацию сыворотки пациента с избытком препарата и оценку изменения сигнала. Значимое падение сигнала свидетельствует о наличии связывающих антител в сыворотке пациента.

В случае выявления и подтверждения наличия связывающих антител, необходимо определение их нейтрализующего потенциала. Для определения наличия нейтрализующей активности у связывающих антител могут использоваться как клеточные биологические методики, так и не клеточные конкурентные методы, основанные на связывании лиганда.

Клеточные методы являются предпочтительными в связи с тем, что они в большей степени отражают эффекты наличия нейтрализующих антител *in vivo*.

При выявлении нейтрализующих антител в клинических исследованиях (как в регистрационных, так и пострегистрационных) необходимо провести тщательный анализ влияния антител на фармакокинетические/фармакодинамические параметры биоаналога при наличии соответствующих данных. Более того, следует провести оценку влияния нейтрализующих антител и антител с перекрёстной реактивностью (при наличии таковых) на общую безопасность и эффективность биоаналога.

6.5. Экстраполяция данных по эффективности и безопасности на другие показания к применению

Экстраполяция данных по безопасности и эффективности, полученных для определённого показания к применению биоаналога (для которого были проведены клинические исследования), в отношении других показаний к применению возможна при соблюдении следующих условий:

- Эквивалентность инновационному биологическому лекарственному препарату подтверждается данными всех проведённых исследований (как доклинических, так и клинических).
- Подтверждены клиническая эффективность и безопасность применения биоаналога по одному из известных для инновационного биологического лекарственного препарата показаний, при этом эффективность и безопасность биоаналога и инновационного биологического лекарственного препарата эквивалентны.
- Терапевтический эффект биоаналога при использовании по другим показаниям обусловлен тем же механизмом действия, что и эффект по исследованному показанию.
- Действие при применении по другим клиническим показаниям осуществляется через один и тот же рецептор (рецепторы).

Одобрение применения биоаналога по показанию, не зарегистрированному для инновационного биологического лекарственного препарата, возможно в случае предоставления данных доклинических и клинических исследований, подтверждающих безопасность и эффективность его применения по этому показанию. Регистрация по новому показанию осуществляется на основании тех же принципов, что и регистрация инновационного биологического лекарственного средства. Регистрируемый препарат может иметь форму выпуска, отличную от формы выпуска инновационного биологического лекарственного препарата. Нормативные документы и инструкции по медицинскому применению препаратов, одобренных для применения по зарегистрированным и не зарегистрированным для инновационного препарата показаниям, должны представлять собой отдельные документы. При этом в случае биоаналогичности, доказанной ранее в рамках сравнительных доклинических испытаний и клинических исследований по зарегистрированному(-ым) показанию(-ям), проведение дополнительных доклинических исследований, не позволяющих охарактеризовать новый путь введения, не требуется. При наличии результатов клинических исследований инновационного биологического лекарственного препарата по незарегистрированному показанию к применению, соответствующих уровням доказательности А или В, для одобрения биоаналога по этому показанию (в случае доказанной биоаналогичности инновационному биологическому лекарственному препарату с учётом результатов сравнительных клинических исследований по зарегистрированным показаниям) достаточно проведения клинического исследования III фазы по новому показанию в сравнении со стандартом терапии.

7. Пострегистрационный мониторинг безопасности

Поскольку биоаналоги не являются новыми биологическими лекарственными средствами, риски, связанные с их применением, эквивалентны известным рискам при использовании инновационных биологических лекарственных препаратов. Решение о государственной регистрации биоаналогов по показаниям, одобренным для инновационного биологического лекарственного препарата принимается на основании сокращённого пакета доклинических и клинических данных, однако производитель биоаналога обязан представить в регуляторные органы план управления рисками с целью мониторингования и выявления известных проблем, связанных с безопасностью, и потенциальных неизвестных угроз для здоровья пациентов, ассоциированных с применением биоаналогов.

План управления рисками должен включать следующее:

7.1. План фармаконадзора

Клинические исследования, проводимые с целью государственной регистрации биоаналога, выполняются в ограниченном объёме (по сравнению с исследованием инновационного лекарственного препарата), поэтому выявление редких нежелательных реакций на данном этапе маловероятно. В связи с этим производитель должен подготовить и предоставить в регуляторные органы подробный план фармаконадзора с целью пострегистрационной оценки безопасности применения биоаналога по всем одобренным показаниям. План фармаконадзора должен включать подготовку периодически обновляемых отчётов по безопасности лекарственного средства (ПОБЛП).

Сроки подготовки ПОБЛП по биоаналогам не отличаются от установленных сроков для лекарственных средств иных групп.

7.2. Сообщения о серьёзных нежелательных реакциях (СНР)

Правила осуществления мониторинга серьёзных нежелательных реакций, возникающих на фоне применения биоаналога, не отличаются от принципов мониторинга СНР при использовании любых иных лекарственных препаратов. Сроки и процедуры извещения уполномоченных органов здравоохранения о случаях развития СНР описаны в соответствующих рекомендациях Министерства здравоохранения России.

7.3. Пострегистрационные исследования

Поскольку регистрационные клинические исследования биоаналога выполняются в ограниченном объёме (по сравнению с клинической разработкой инновационного биологического лекарственного препарата), целесообразным является дальнейшее изучение клинических свойств биоаналога в пострегистрационном

периоде. Планируемые пострегистрационные исследования должны быть описаны в плане фармаконадзора, а обновлённые данные по исследованиям должны направляться в уполномоченные органы здравоохранения.

Ввиду необходимости дальнейшего изучения безопасности и иммуногенности биоаналога, в пострегистрационном периоде следует провести, минимум, одно не сравнительное пострегистрационное клиническое исследование, методология которого позволит получить недостающие сведения. Пострегистрационное клиническое исследование должно быть спланировано таким образом, чтобы подтвердить, что применение биоаналога не характеризуется повышенной иммуногенностью. Если оценка иммуногенности была проведена в регистрационном клиническом исследовании, на пострегистрационном этапе проводить дополнительные не сравнительные исследования иммуногенности необязательно.

8. Архивирование данных

Заявитель обязан хранить все данные, касающиеся клинических исследований, в течение, минимум, 5 лет по окончании процедуры государственной регистрации. Место хранения данных должно быть указано в протоколах исследований и отчётах. Должны быть описаны материалы, которые будут сохранены. Эти материалы могут включать исследуемый препарат, препарат сравнения, плазму/сыворотку крови, ткани, парафиновые блоки, гистологические препараты, документы, электронные файлы и т. д. Длительность их хранения может варьировать (например, исследуемый препарат и препарат сравнения хранятся до истечения срока годности). При необходимости уполномоченная организация, ответственная за архивирование, должна предоставить описанные материалы для проверки. Эта организация должна быть указана заявителем в отчёте по исследованию.

Приложение

Основные показатели качества препаратов на основе рекомбинантных белков

Физико-химические свойства	Биологические свойства
- Молекулярная масса (методом МС-спектрометрии) - Аминокислотная последовательность (методом МС-фингерпринта) - Характеризация первичной структуры белков методом пептидного картирования N- и C-концевые последовательности - Профиль гликозилирования* - Вторичная структура (путём измерения спектра кругового дихроизма в дальней УФ области) - Третичная структура (путём измерения спектров флуоресценции) - Свободные сульфгидрильные группы и дисульфидные связи - Гомогенность и чистота по данным ВЭЖХ (RP, SEC, IEX)* - Гомогенность и чистота по данным электрофореза в геле (IEF, SDS PAGE, Вестерн блот) - Содержание деамидированных форм* - Аффинность к рецепторам и/или антигенам* - Содержание эндотоксинов - Содержание общего белка	Биологическая активность в отношении клеток-мишеней (по всем механизмам действия, актуальным для терапевтического действия препарата)*

* — Свойства препарата (показатели качества), считающиеся критическими, если не приведено убедительное обоснование иного.

В процессе разработки данного документа были проанализированы следующие иностранные источники:

ЕМА

1. EMA. Guideline on Similar Biological Medicinal Products. The European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use; EMA: London, UK, 2005; EMEA/CHMP/437/04.
2. EMA. Revision of the Guideline on Similar Biological Medicinal Product; EMA: London, UK, 2013; CHMP/437/04 Rev 1.
3. EMA. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: quality issues (revision 1); EMA: London, UK, 2014; EMA/CHMP/BWP/247713/2012.
4. EMA. Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-Derived Proteins as Active Substance: Non-Clinical and Clinical Issues; EMA: London, UK, 2006; EMEA/CHMP/BMWP/42832.
5. EMA. Revision of the Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-Derived Proteins as Active Substance: Non-Clinical and Clinical Issues (Draft); EMA: London, UK, 2013; EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005 Rev. 1.
6. EMA. Guideline on Non-Clinical and Clinical Development of Similar Biological Medicinal Products Containing Low-Molecular-Weight-Heparins; EMA: London, UK, 2009; EMEA/CHMP/BMWP/118264/07.
7. Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant erythropoietin's (Revision); EMA: London, UK, 2010; EMEA/CHMP/BMWP/301636/2008 Corr.
8. EMA. Non-Clinical and Clinical Development of Similar Medicinal Products Containing Recombinant Interferon Alfa; EMA: London, UK, 2009; EMEA/CHMP/BMWP/102046/06.
9. EMA. Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Interferon Beta; EMA: London, UK, 2013; EMA/CHMP/BMWP/652000/2010.
10. EMA. Guideline on similar biological medicinal products containing monoclonal antibodies (CHMP/BMWP/403543/2010).
11. EMA. Concept Paper On Similar Biological Medicinal Products Containing Recombinant Follicle Stimulation Hormone; EMA: London, UK, 2010; EMA/CHMP/BMWP/94899/2010.
13. Guideline on development, production, characterization and specifications for monoclonal antibodies and related substances (EMEA/CHMP/BWP/157653/07).
14. Guideline on bioanalytical method validation (EMEA/CHMP/EWP/192217/2009).
15. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins (CHMP/BMWP/14327).
16. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins (CHMP/EWP/89249/2004).
17. Guideline on the investigation of bioequivalence (CHMP/EWP/QWP/1401/98).
18. Guideline on the evaluation of anticancer medicinal products in man (CHMP/EWP/205/95).
19. Guideline on the choice of a non-inferiority margin (EMEA/CPMP/EWP/2158/99).
20. Guideline on Immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use (EMA/CHMP/BMWP/86289/2010).

FDA

21. FDA. Quality Considerations in Demonstrating Biosimilarity to a Reference Protein Product; FDA: Silver Spring, USA, 2012.
22. FDA. Scientific Considerations in Demonstrating Biosimilarity to a Reference Product; FDA: Silver Spring, USA, 2012.
23. FDA. Biosimilars: Questions and Answers Regarding Implementation of the Biologics Price Competition and Innovation Act of 2009; FDA: Silver Spring, USA, 2012. Pharmaceuticals 2012, 5 368.
24. FDA. Clinical Pharmacology Data to Support a Demonstration of Biosimilarity to a Reference Product; FDA: Silver Spring, USA, 2014.

ICH

25. ICH guideline S 6 (R1) Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals (EMA/CHMP/ICH/731268/1998).
26. ICH E2E Note for guidance on Planning Pharmacovigilance Activities (CPMP/ICH/5716/03).
27. ICH E2A Clinical Safety Data Management: Definitions and Standards for Expedited Reporting (CPMP/ICH/377/95).
28. ICH E10 Choice of Control Group in Clinical Trials (CPMP/ICH/364/96).
29. ICH Q2: Validation of analytical procedures: text and methodology.
30. ICH Q5C: Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products.
31. ICH Q5E: Comparability of Biotechnological/Biological Products.
32. ICH Q6B: Specifications: Test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products.
33. ICH Q8: Pharmaceutical. Development.

ВОЗ

34. WHO. Guidelines on Evaluation of Similar Biotherapeutic Products (SBPs); WHO: Geneva, Switzerland, 2009.

Другие страны

35. Authority of the Minister of Health. Guidance for Sponsors: Information and Submission Requirements for Subsequent Entry Biologics (SEBs); Health Canada: Ottawa, Canada, 2010.
36. MHLW. Guidelines for the Quality, Safety and Efficacy Assurance of Follow-On Biologics; MHLW: Tokyo, Japan, 2009.
37. KFDA. Korean Guidelines on the Evaluation of Similar Biotherapeutic Products (SBPs); KFDA: Chungcheongbuk-do, Korea, 2009.
38. Guidelines on Similar Biologics: Regulatory Requirements for Marketing Authorization in India; Department of Biotechnology, Ministry of Science & Technology; Central Drugs Standard Control Organization, Directorate General of Health Services, Ministry of Health and Family Welfare, New Delhi, 2012.

Проблемы проведения биоаналитической части исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в России

*Хохлов А.Л., Лилеева Е.Г., Синицина О.А.,
Спешилова С.А., Демарина С.М., Шитов Л.Н.*

Кафедра клинической фармакологии Ярославской государственной медицинской академии
ГБУЗ ЯО «Ярославская областная клиническая наркологическая больница», г. Ярославль

Резюме. В обзоре рассмотрены основные проблемы проведения биоаналитической части исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в России. Проведен анализ основных причин неудач при выполнении исследований по биоэквивалентности и фармакокинетике.

Ключевые слова: дженерики, биоэквивалентность, биоаналитика.

The problems of undertaking bioanalytical part of bioequivalence studies of medicines in Russia

Khokhlov A.L., Lileeva E.G., Sinitsina O.A., Speshilova S.A., Demarina S.M., Shitov L.N.

The Department of clinical pharmacology of the Yaroslavl state medical Academy

The GBUZ YO «Yaroslavl regional clinical narcological hospital»

Summary. In the review of the main problems holding bioanalytical part of bioequivalence studies of medicines in Russia. The analysis of the major causes of failure when performing studies of bioequivalence and pharmacokinetics.

Keywords: generic drugs, bioequivalence, bioanalytica.

Автор, ответственный за переписку:

Лилеева Елена Георгиевна — к.м.н., e-mail: elileeva2006@yandex.ru

Перспективы европейского рынка воспроизведения лекарственных средств в настоящее время многообещающи, во-первых, на дженерики ориентируются государственные и страховые системы возмещения, самые крупные и влиятельные плательщики на фармацевтических рынках Европы, во-вторых, в ближайшие 2 года истекает срок патентной защиты и эксклюзивности для ряда оригинальных препаратов [10, 12]. Так в 2014 году закончится срок патентной монополии 93 молекул. Это означает открытие новых ниш для воспроизведённых лекарственных средств и общий рост сегмента дженериков.

Оценка биоэквивалентности (или фармакокинетической эквивалентности) лекарственных средств (ЛС) в настоящее время считается одним из основных видов медико-биологического контроля качества дженериков — ЛС, содержащих одно и то же лекарственное вещество в одинаковой дозе и в той же лекарственной форме, что и оригинальное ЛС. В России до 80% лекарственных препаратов относится к категории генерических. В идеале дженерик должен обладать доказательной терапевтической взаимозаменяемостью с оригинальным [6, 7]. Несмотря на то, что в основе обоих лежит одно и то же действующее вещество, в настоящее время существуют проблемы выбора между оригинальным препаратом и дженериком. Решить эту

проблему однозначно нельзя, можно лишь приблизиться и этому способствует проведение исследований по биоэквивалентности [1, 2].

В нашей стране актуальность исследований биоэквивалентности генерических лекарственных средств обусловлена как экономическими (генерики значительно дешевле оригинальных лекарственных средств), так и медицинскими аспектами (объективное исследование эквивалентности генерических и оригинальных лекарственных средств с позиции доказательной медицины) [5, 8]. В России ежегодно проводится более 80 исследований биоэквивалентности. Федеральный закон Российской Федерации №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» также предусматривает необходимость проведения исследований биоэквивалентности воспроизведённых лекарственных средств [6]. Вне зависимости от производителя к дженерикам, точно так же, как и к оригинальным препаратам, предъявляются следующие требования: качество, эффективность и безопасность. Исследование биоэквивалентности позволяет «уровнять в правах» оригинальный фармацевтический продукт и более дешёвый генерический препарат [2, 12].

В исследование должны быть включены испытуемые в количестве достаточном для обеспечения статистической значимости исследования. При этом мощность статисти-

ческого теста для проверки биоэквивалентности должна поддерживаться на уровне не меньше 80% для выявления 20% различий между показателями сравнения. ЛС считаются биоэквивалентными, если полученные результаты не выходят за рамки доверительного интервала — $AUC_{\text{тест}}/AUC_{\text{референс}} = 80-125\%$, $C_{\text{max(тест)}}/C_{\text{max(референс)}} = 75-133\%$. А если находятся на уровне верхней границы доверительного интервала, то нельзя исключить, что при курсовой терапии возможно нарастание равновесной концентрации, и ЛС (антидиабетические ЛС, α - и β -стимуляторы, иммуносупрессоры и т.д.), имеющие чёткую взаимосвязь между показателями фармакокинетики и фармакодинамики, могут вызвать нежелательные лекарственные реакции [3].

В исследованиях биоэквивалентности наиболее часто применяется перекрёстный дизайн, который не позволяет разделить внутрисубъектную и межсубъектную вариабельность.

- Разница между исследуемыми ЛС обычно планируется на уровне 5% (при отсутствии информации о предыдущих исследованиях или пилотных исследованиях). Нельзя устанавливать 0% (размер выборки не может быть установлен E9-CPMP/ICH/363/96).
- Ожидаемое отклонение не рекомендуется устанавливать более 20% (максимально допустимая разница).
- Ожидается, что в исследованиях биоэквивалентности обнаружатся межиндивидуальные различия между субъектами с точки зрения обмена веществ (например, медленные метаболизаторы и неблагоприятные события, связанные с крайне высокими уровнями лекарств в плазме).
- Перекрёстные исследования построены таким образом, что каждый субъект выступает в роли представителя основной группы и группы сравнения.

При исследованиях биоэквивалентности допускается отклонение основных показателей дженерика на 15-20% от показателей оригинального препарата. Если разрешить использовать в качестве препаратов сравнения дженерики, то с каждой последующей копией разница будет возрастать [3]. В связи с этим исследования биоэквивалентности имеют большое экономическое и клиническое значение.

Исследования по биоэквивалентности и фармакокинетики на кафедре клинической фармакологии ЯГМА проводятся с 2011 года в соответствии со ст.21 Конституции Российской Федерации (РФ), Федеральным законом «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ, Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика», Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинки, 1964 г. с дополнениями), внесены изменения и дополнения в соответствии с последним изданием Руководства по исследованию биоэквивалентности в странах Европейского Союза.

В процессе проведения исследований по биоэквивалентности и фармакокинетики мы столкнулись со

следующими биоаналитическими проблемами проведения исследований.

1. Некорректный дизайн фармакокинетического исследования

1.1. Недостаточная статистическая мощность исследования

Одной из проблем, возникающих при планировании исследований биоэквивалентности, является оценка размера выборки, необходимого для обеспечения достаточной статистической мощности исследования. В соответствии с действующими методическими рекомендациями МЗ РФ, мощность статистического теста для проверки биоэквивалентности должна поддерживаться на уровне не меньше 80%. Как правило, спонсоры стремятся проводить исследования на минимальном числе добровольцев с целью сокращения финансовых затрат. При этом следует иметь в виду, что занижение размера выборки может привести к драматическим последствиям: если статистическая мощность исследования будет недостаточной, то может быть ошибочно отвергнута гипотеза о том, что сравниваемые препараты являются биоэквивалентными. Иными словами, если препарат характеризуется выраженной внутрииндивидуальной вариабельностью фармакокинетических параметров, то гипотеза о биоэквивалентности может быть отвергнута именно в силу изменчивости фармакокинетики, а не из-за объективных различий в биодоступности действующего вещества из лекарственной формы. При этом увеличение объёма выборки будет способствовать нивелированию рассматриваемой вариабельности, и биоэквивалентность будет подтверждаться. В соответствии с методическими рекомендациями МЗ РФ [7], оценка необходимого числа испытуемых (n) проводится по следующей формуле:

$$n = 2 \cdot \frac{CV^2 \cdot (t(f, \alpha) + t(f, \beta))^2}{\Omega^2}$$

где CV — коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности фармакокинетических параметров действующего вещества исследуемых препаратов;

t — значение критерия Стьюдента;

$f = n - 1$ — для случая, когда доверительные интервалы вычисляются на основе парного критерия Стьюдента (данные показатели определяются по результатам итерационной процедуры с первоначальной оценкой значения t для бесконечного числа степеней свободы);

Ω — величина, равная отношению ϵ и μ (ϵ — величина допустимых различий между средними значениями; μ — генеральное среднее показателя сравнения), согласно действующим рекомендациям не должна превышать 0,2 или 20%).

Наиболее важным показателем, входящим в приведённую выше формулу, является коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности основных фармакокинетических параметров лекарственного вещества (CV). Источником информации о величине данного коэффициента могут быть результаты ранее выполненных аналогичных исследований, либо результаты пилотного исследования. Рекомендуется критически подходить к данным литературы о величине CV; желательно не ограничиваться результатами какого-то одного из аналогичных исследований, целесообразно сопоставить величины CV полученные разными авторами.

Однако даже при адекватном размере выборки могут возникнуть неточности, связанные с ситуационной изменчивостью фармакокинетических параметров. Влияние лекарственных и наркотических средств обсуждалось ранее. Другим важным фактором ситуационной изменчивости фармакокинетики, прежде всего, абсорбции действующего вещества из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), является приём пищи. Как правило, протоколы исследований биоэквивалентности требуют воздерживаться от приёма пищи в течение 10 часов до приёма препарата, а завтрак добровольцы получают через 4 часа после приёма препарата. Однако строгий контроль за соблюдением добровольцами указанных требований не всегда возможен. При этом выраженность влияния приёма пищи не одинакова для разных препаратов и определяется их физико-химическими свойствами; основными предикторами скорости и полноты всасывания в данной ситуации выступают кислотность среды в ЖКТ, зависящая от

приёма пищи, а со стороны молекулы лекарственного вещества — наличие ионогенных функциональных групп, ионизирующихся в зависимости от pH среды. В особой степени это касается веществ амфотерного характера, молекулы которых одновременно содержат функциональные группы как кислотного, так и основного характера (например, фторхинолоны, пипемидовая кислота, цетиризин, ПАСК и др.). На рис. 1 приведён график logD для пипемидовой кислоты. Данный физико-химический показатель характеризует зависимость способности вещества переходить из водной в органическую фазу (коэффициент распределения) от pH среды и позволяет сделать ориентировочную оценку скорости и полноты всасывания вещества в ЖКТ в зависимости от кислотности среды. В случае пипемидовой кислоты видно, что значения logD меняются на всём диапазоне pH, характеризуясь наличием максимума в нейтральной области и снижением — в кислой и щелочной областях. Для сравнения приведён преднизолон — практически неионогенная молекула, для которой значения logD не меняются на протяжении всего физиологического диапазона pH, снижаясь только в сильнощелочной области.

Проблема, касающаяся взаимодействия лекарственных веществ с компонентами пищи, широко известна и изложена в литературе [1].

Определённой спецификой характеризуется работа с лекарственными веществами, молекулы которых являются нестабильными. Прежде всего, это касается молекул, содержащих сложноэфирную группу, быстро подвергающуюся гидролизу при воздействии ферментов — эстераз. Примерами таких препаратов могут слу-

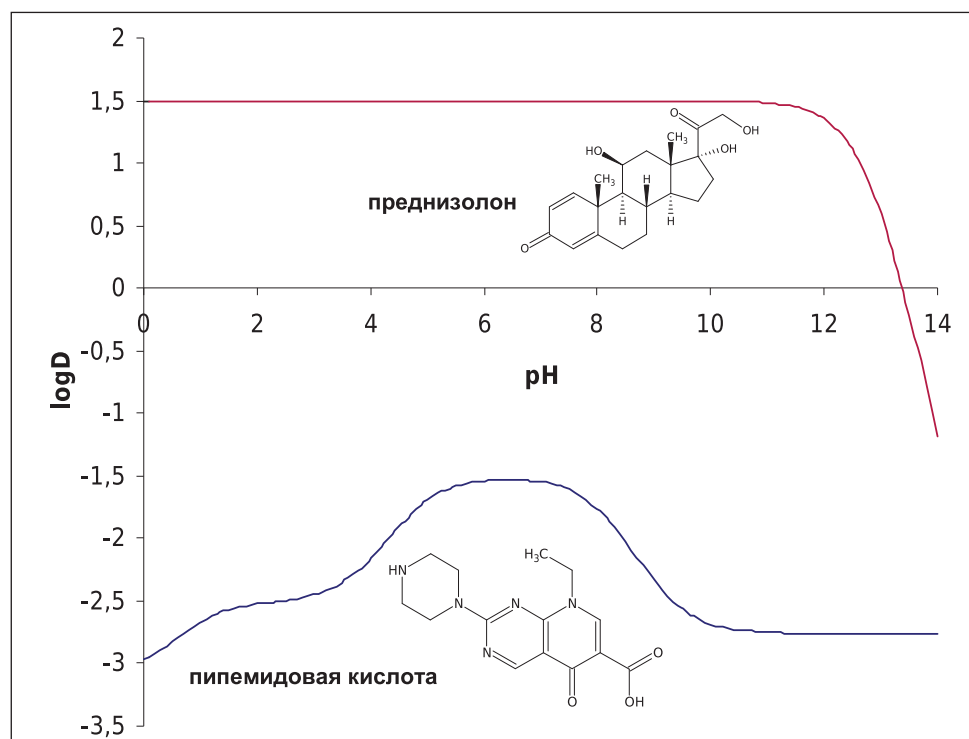


Рис. 1. Кинетические кривые, полученные при исследовании биоэквивалентности преднизолона и пипемидовой кислоты

жить ацетилсалициловая кислота, клопидогрел, осельтамивир и др. Подобные вещества быстро подвергаются метаболизму; для веществ, являющихся пролекарствами, целесообразна оценка биоэквивалентности по стабильным фармакологически активными метаболитам. Более сложными являются ситуации, когда фармакологической активностью обладает нативная молекула нестабильного вещества: в этом случае исследователь должен обеспечить сохранность вещества при хранении проб плазмы (сыворотки) до момента проведения анализа (использование центрифуги с охлаждением при отделении плазмы, немедленная глубокая заморозка, добавление консервантов — ингибиторов эстераз), либо анализ должен проводиться незамедлительно после отбора пробы, что, как правило, затруднительно ограничением техническим и организационным планом.

1.2. Недостаточная частота отбора проб во временном диапазоне, соответствующем моменту достижения максимальной концентрации (C_{max})

При планировании моментов времени отбора проб крови необходимо учитывать не только среднее значение времени достижения максимальной концентрации ($T_{C_{max}}$), но и диапазон вариации данного параметра. Недостаточная частота отбора проб в области максимума может быть причиной пропуска момента времени достижения максимальной концентрации и, как следствие, получения ошибочных результатов, указывающих на отсутствие биоэквивалентности. В особой степени рассматриваемая проблема касается следующих случаев:

- лекарственные препараты, содержащие действующие вещества с быстрым всасыванием и/или быстрым выведением;

- лекарственные формы быстрого и пролонгированного действия.

В качестве примера ниже приведены кинетические кривые, полученные при исследовании биоэквивалентности препаратов ибупрофена с ускоренным всасыванием. При этом можно отметить выраженные отличия между тестируемым (Т) и референтным (R) препаратами по параметрам C_{max} и $T_{C_{max}}$. Одной из причин такого расхождения между фармакокинетическими параметрами препаратов может быть слишком большой временной интервал между отборами крови в области максимума. Введение дополнительной точки (1,5 часа) позволило бы выполнить более объективное сравнение препаратов по уровням C_{max} . Учитывая более медленное всасывание действующего вещества из препарата Т, можно предположить, что при его приеме максимальная концентрация достигалась в течение промежутка времени с 1 до 2 ч (см. рис. 2).

Следует отметить, что в действующих методических рекомендациях по оценке биоэквивалентности лекарственных препаратов параметр $T_{C_{max}}$ не входит в число основных критериев биоэквивалентности. Целесообразно рассмотреть возможность включения $T_{C_{max}}$ в число показателей, характеризующих биоэквивалентность лекарственных препаратов с ускоренным или пролонгированным высвобождением действующего вещества.

1.3. Энтерогепатическая циркуляция действующих веществ

Дизайн исследования фармакокинетики препаратов, содержащих действующие вещества, подвергающиеся выраженной энтерогепатической циркуляции, должен учитывать возможный дополнительный при-

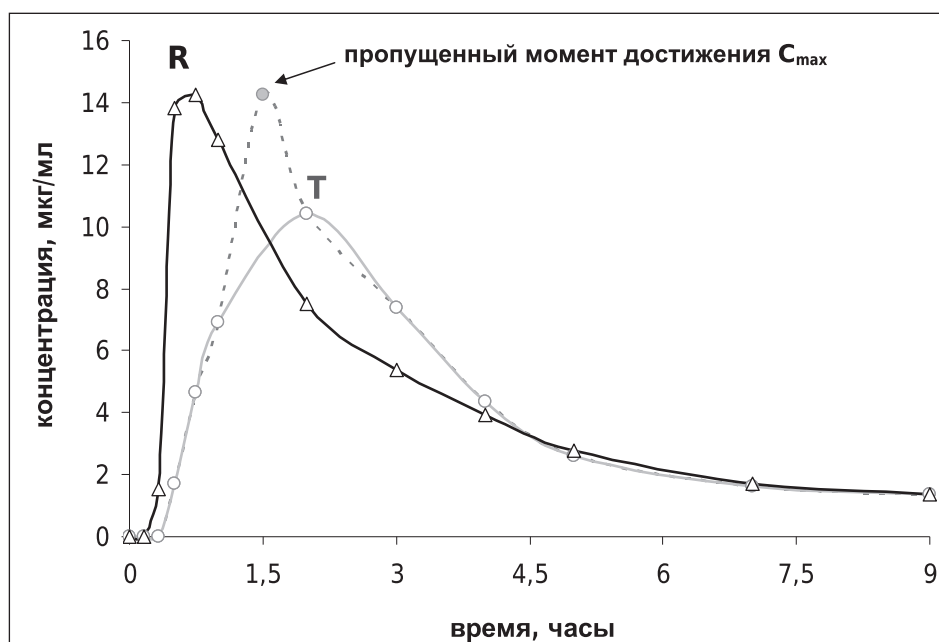


Рис. 2. Кинетические кривые, полученные при исследовании биоэквивалентности экспресс-форм ибупрофена (пояснения см. в тексте)

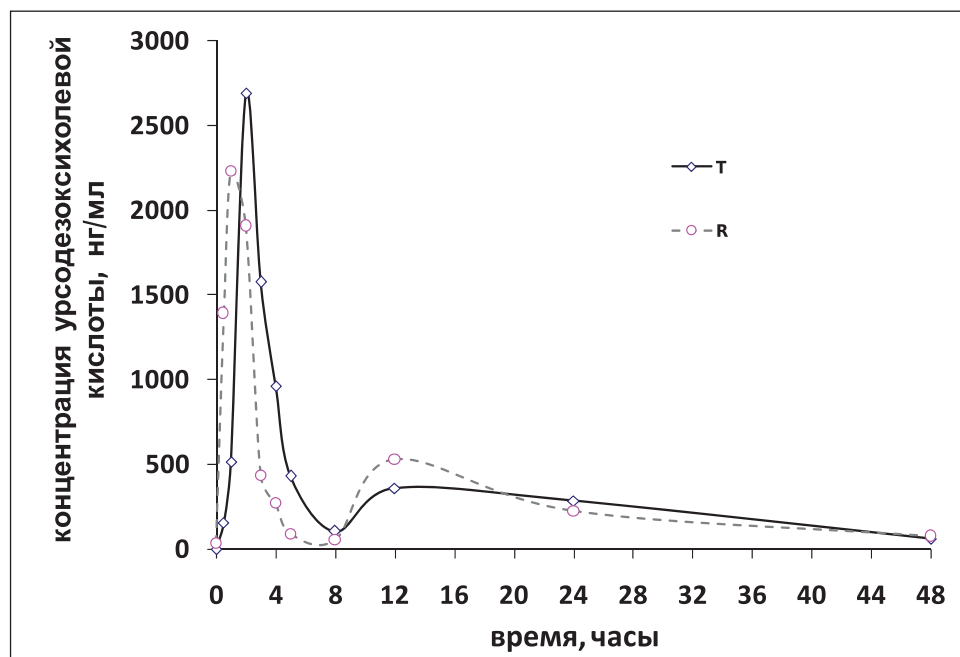


Рис. 3. Кинетические кривые урсodeзоксиколовой кислоты — вещества, подвергающегося энтерогепатической циркуляции

рост концентрации в терминальной части фармакокинетической кривой. В частности, указанное нарастание концентрации может повлиять на расчёт таких фармакокинетических параметров, как k_{el} и $AUC_{0-\infty}$.

Примером вещества, имеющего значимую энтерогепатическую циркуляцию, является урсodeзоксиколовая кислота — эндогенное соединение, составляющее часть общего пула желчных кислот организма млекопитающих. Нами было выполнено исследование биоэквивалентности препаратов, содержащих урсodeзоксиколовую кислоту; при этом у всех добровольцев отмечено наличие нарастания концентрации действующего вещества в поздние сроки. Пример кинетических кривых приведён на рис. 3.

Как уже было отмечено, дополнительный прирост концентрации в поздние сроки фазы элиминации, а также отсутствие снижения концентрации до нуля (поскольку урсodeзоксиколовая кислота является эндогенным веществом) затрудняет оценку параметров k_{el} и $AUC_{0-\infty}$. Рассматриваемая задача решалась нами в соответствии с принципами, изложенными ниже. При расчёте значений $AUC_{0-\infty}$ ($AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/k_{el}$) использовался участок кривой, линеаризуемый в полулогарифмических координатах, для временных промежутков, более ранних, чем момент проявления кишечно-печёночной циркуляции (т.е. прирост концентраций в поздние моменты времени при расчёте $AUC_{0-\infty}$ не учитывался). При таком подходе расчётное значение концентрации в последней отобранной пробе ($C_{48ч}$), вычисляемое по формуле $C_{48ч} = C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t}$ ($t = 48$ ч; C_0 и k_{el} — условное значение концентрации для нулевого момента времени и константа скорости элиминации, получаемые из уравнения регрессии линеаризуемого участка фармакокинетической кривой в

полулогарифмических координатах), во всех случаях было равным нулю, что отражает полную элиминацию экзогенной урсodeзоксиколовой кислоты, первоначально поступившей в системный кровоток при абсорбции из капсул тестируемого и референтного препаратов. Соотношение $AUC_{0-t} / AUC_{0-\infty}$, вычисленное с использованием описанного способа расчёта, во всех случаях давало результат, равный 100%.

1.4. Препараты с длительным периодом выведения

Особенностью исследования биоэквивалентности препаратов, содержащих действующие вещества с длительным периодом элиминации, является необходимость отбора проб крови в течение продолжительного периода времени. Это усложняет исследование с организационной и экономической точек зрения, в силу чего разработчики протоколов, как правило, стремятся максимально сократить число повторных визитов добровольцев. При этом возможны неточности в оценке параметра AUC в случаях, когда снижение концентрации до нуля достигается раньше момента отбора последней пробы при недостаточной частоте отбора проб в терминальную фазу элиминации. Примером может служить исследование препаратов стронция ранелата, в котором, в соответствии с протоколом, интервал времени между отбором двух последних проб составляет 2 недели. В данной ситуации возможно завышение значений AUC при расчёте традиционного параметра AUC_{0-t} , для ситуаций, когда достижение нулевой концентрации наступило, например, на неделю раньше отбора последней пробы. Указанная возможность проиллюстрирована на рис. 4.

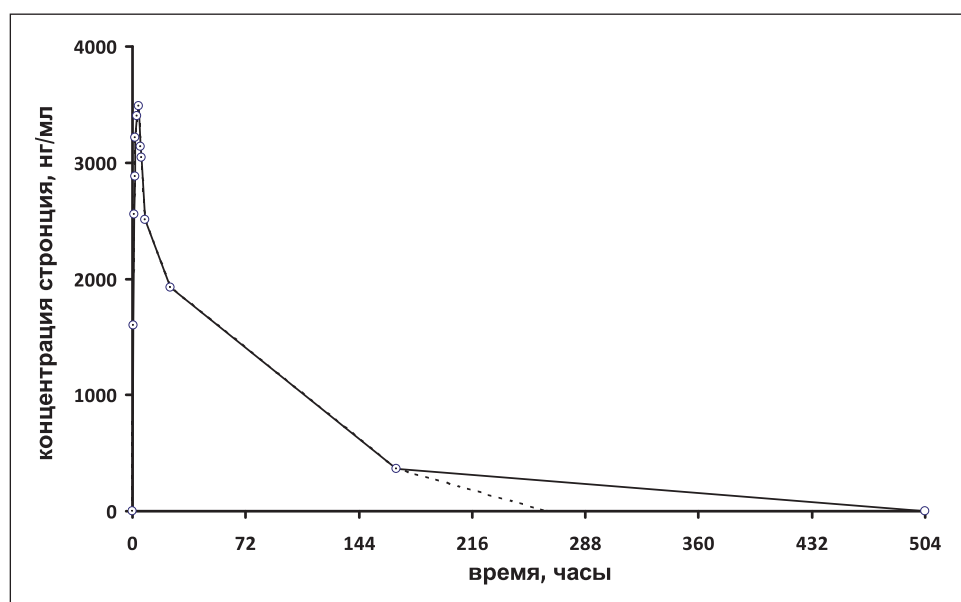


Рис. 4. Кинетическая кривая стронция — вещества с длительным периодом элиминации (пояснения см. в тексте)

В данной ситуации более объективным подходом является расчёт площади под фармакокинетической кривой в интервале времени от 0 до измерения последней ненулевой концентрации (AUC_{last}), что предусмотрено рекомендациями ряда стран [13], но отсутствует в рекомендациях, принятых в Российской Федерации [7].

2. Тестирование добровольцев на предмет употребления наркотических, психотропных и лекарственных веществ

Одним из факторов, способных оказать существенное влияние на фармакокинетику исследуемого лекарственного средства, является приём добровольцем наркотических, психотропных и/или лекарственных веществ. Общеизвестным фактом является способность одних лекарственных веществ влиять на фармакокинетику других; применительно к рассматриваемой проблеме, наибольшее значение имеет ускорение элиминации действующих веществ исследуемых препаратов в результате индукции метаболизирующих их ферментов в результате воздействия таких соединений, как барбитураты, димедрол, фенотиазины, наркотические средства и другие [1].

Вместе с тем, на данный момент отсутствует единый объективный подход к выявлению употребления добровольцем наркотических, психотропных и лекарственных веществ. В табл. 1 приведены перечни групп веществ, на предмет которых осуществляется тестирование мочи добровольцев на этапе скрининга.

Можно констатировать, что между протоколами различных исследований имеются существенные различия по перечню определяемых групп веществ. В ряде протоколов тест на употребление наркотиков предусмотрен, но перечень детектируемых веществ не указан.

Важным моментом, который следует учитывать при планировании клинических исследований фармакокинетики и биоэквивалентности, является наличие широкого спектра соединений, не детектируемых предварительными иммунохимическими тестами. В число таких веществ входит значительное число лекарственных средств, способных оказать существенное влияние на фармакокинетику исследуемых препаратов (например, карбамазепин, парацетамол, димедрол, салицилаты, фенотиазины и многие другие), а также значительное число современных наркотических средств [9]. Следует отметить, что в приведённых выше перечнях определяемых групп веществ присутствует такая позиция, как «опиоиды»; при этом необходимо учитывать, что широко применяемый тест на опиаты (морфин/героин, кодеин) не позволяет выявить такие значимые вещества рассматриваемой группы, как метадон, налбуфин, буторфанол, трамадол и производные фентанила.

Серьёзной проблемой использования предварительных иммунохимических тестов при скрининге добровольцев являются ложноположительные и ложноотрицательные результаты.

Ложноположительные результаты возможны в результате перекрёстного реагирования в отношении некоторых компонентов пищи, т.е. могут возникнуть даже у лиц, не принимавших каких-либо препаратов, что приведёт к необоснованному исключению добровольцев из исследования. Ложноотрицательные результаты могут иметь место из-за недостаточной чувствительности используемых тест-систем; при этом большое значение имеет выявление даже следовых концентраций веществ целевых групп, например, барбитуратов, вызывающих индукцию печёночных ферментов, которая может сохраняться в течение 7-10 дней после приёма [1].

Таблица 1

Группы веществ, на предмет которых осуществляется тестирование мочи добровольцев (на этапе скрининга) на употребление наркотических, психотропных и лекарственных веществ

Действующие вещества	Скрининг на предмет наркотических, психотропных и лекарственных веществ
Аминосалициловая кислота	группы веществ не указаны
Валсартан	амфетамины, барбитураты, бензодиазепины, каннабис, кокаин, опиаты, фенциклидин
Вориконазол	группы веществ не указаны
Гранисетрон	группы веществ не указаны
Моксонидин	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды
Оланзапин	амфетамины, барбитураты, бензодиазепины, каннабис, кокаин, опиаты, фенциклидин
Оланзапин	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды
Пипемидовая кислота	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды
Пирацетам + циннаризин	морфин/героин, марихуана, амфетамин
Прамипексол	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды
Розувастатин	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды
Стронция ранелат	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды
Такролимус	группы веществ не указаны
Урсодезоксихолевая кислота	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды
Эрлотиниб	кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты, опиоиды

Как правило, клинические центры не располагают возможностями для контроля качества закупаемых тест-систем.

В силу вышеизложенного, целесообразным является выполнение скрининга на предмет употребления добровольцами наркотических, психотропных и лекарственных веществ в специализированных химико-токсикологических лабораториях, располагающих возможностью выявления всего спектра актуальных

соединений с использованием объективных подтверждающих методов. В связи с этим, исследования биоэквивалентности имеют большое фармацевтическое, экономическое и клиническое значение. Пути решения проблемы в необходимости обоснования количества добровольцев в исследованиях биоэквивалентности и строгом контроле за качеством исследований биоэквивалентности как на клиническом, так и лабораторном этапах.

Литература

1. Белоусов, Ю.Б., Гуревич К.Г. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств: Спец. выпуск серии «Рациональная фармакотерапия». — М.: Литерра, 2005. 288с.
2. Белоусов Ю.Б., Зырянов С.К. Проблема эквивалентности оригинальных и воспроизведенных ЛС с позиции клинического фармаколога / Ю.Б. Белоусов // Ведомости НЦ ЭСМП. 2007. — №1. — С. 12-17.
3. Белоусов Ю.Б. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации. — М.: ООО «Издательство ОКИ», 2005 г.
4. Гуськова Т.А. Этическая экспертиза безопасности клинических исследований воспроизведенных лекарственных средств (короткое сообщение). // Разработка и регистрация лекарственных средств. № 3, 2013 г.
5. Давыдова К.С., Раменская Г.В., Кулес В.Г. Установление взаимозаменяемости воспроизведенных лекарственных средств. // Ремедиум. 2010. — №7. — С. 16-38.
6. Национальный стандарт РФ «Надлежащая клиническая практика» (ГОСТ Р 52379-2005);
7. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств. Методические рекомендации. — М.: 2008, с.32.
8. Петров В.И., Недогода С.В., Сабанов А.В. Воспроизведенные лекарственные препараты: проблемы оценки и выбора. // Ведомости НЦ ЭСМП. — 2007. №1. — С. 32-36.
9. Шитов Л.Н., Волков А.В., Пеньков И.П., Джурко Ю.А., Сухоручкин Н.В., Ершов М.Б., Ионова Е.Б., Шмелёв А.Г. Немедицинское использование опиоидного анальгетика налбуфина в контексте изменения структуры потребления наркотических средств и психотропных веществ. // Наркология. — 2012. — №8. — С. 76-80.
10. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
11. Individual Product Bioequivalence Recommendations, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, May 2007.
12. Mirsha V., Gupta U., Jain NK. Biowaiver: an alternative to in vivo pharmacokinetic bioequivalence studies. // Pharmazie. 2010. -N.65 (3). — P. 155-161.
13. Oishi M., Chiba K., Fukushima T., Tomono Y., Suwa T. Different truncation methods of AUC between Japan and the EU for bioequivalence assessment: influence on the regulatory judgment. // Drug Metab Pharmacokinet. 2012;27(6):658-62.

Роль 3-оксиметаболита феназепама и леваны в реализации их нейротропного действия

Воронина Т.А.¹, Ларионов В.Б.², Головенко Н.Я.²,

Неробкова Л.Н.¹, Гайдуков И.О.¹

¹ — ФБГУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАН», г. Москва

² — Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, г. Одесса

Резюме. Работа посвящена сравнительному анализу фармакологического действия и интегральных показателей фармакокинетики производных 1,4-бенздиазепина — феназепама и леваны, а также их общего активного 3-оксиметаболита, образующегося различными механизмами. Показано, что левана в тестах антагонизма с коразолом и тиосемикарбазидом уступает по противосудорожной активности феназепаму, но превосходит феназепам по активности в тесте максимального электрошока и имеет меньшую выраженность миорелаксантного действия. Сопоставление эффектов феназепама и леваны с эффектами 3-оксиметаболита свидетельствует о большем сходстве эффектов метаболита с феназепамом. С использованием радиоактивно меченых соединений установлено изменение соотношения площадей под концентрационными кривыми 3-оксиметаболита в мозгу и крови при введении феназепама ($AUC_{\text{мозг}}/AUC_{\text{кровь}} = 0,96 \pm 0,27$) или леваны ($AUC_{\text{мозг}}/AUC_{\text{кровь}} = 1,4 \pm 0,1$). Данный факт связан с различными путями биотрансформации: окислительное гидроксирование феназепама Р450 и гидролиз неспецифическими карбоксилэстеразами леваны, что и обуславливает отличие в фармакологическом действии исследуемых соединений.

Ключевые слова: феназепам, левана, карбоксилэстеразы, гематоэнцефалический барьер, метаболизм.

Role of the 3-oximetabolite phenazepam and levan in realize their neurotropic efficacy

Voronina T.A.¹, Larionov V.B.², Golovenko N.Y.², Nerobkova L.N.¹, Gaidukov I.O.¹

¹ — FGBI «Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusov» RAS, Moscow

² — Physical-Chemical Institute named after A.V. Bogatsky NAS of Ukraine, Odessa

Summary. Work is devoted to a comparative analysis of the pharmacological action and integral indicators pharmacokinetics of 1,4-benzodiazepine — phenazepam and levan, as well as their total active 3-oximetabolite formed by different mechanisms. It is shown that in the tests levan antagonism corazolum and thiosemicarbazide inferior phenazepam anticonvulsant activity, but surpasses phenazepam on activity in the maximal electroshock test and has a lower severity miorelaxation action. Comparison effects of phenazepam and levan with effects of 3-oximetabolite indicate greater similarity effects than metabolite with phenazepam. With the use of radiolabeled compounds were established change in the ratio of the areas under the concentration curve 3-oximetabolite in the brain and blood when administered phenazepam ($AUC_{\text{brain}}/AUC_{\text{blood}} = 0,96 \pm 0,27$) or levan ($AUC_{\text{brain}}/AUC_{\text{blood}} = 1,4 \pm 0,1$). This fact is associated with different ways of biotransformation: oxidative hydroxylation of phenazepam CYP450 and nonspecific carboxylesterase hydrolysis of levan, which explains the difference in the pharmacological effect of the test compounds.

Keywords: phenazepam, levan, carboxyl, blood-brain barrier, metabolism.

Автор, ответственный за переписку:

Воронина Татьяна Александровна — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией психофармакологии ФБГУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАН», г. Москва; адрес: 125315, Москва, ул. Балтийская, 8; тел.: +7 (495) 601-24-14; e-mail: tavoronina@mtu-net.ru

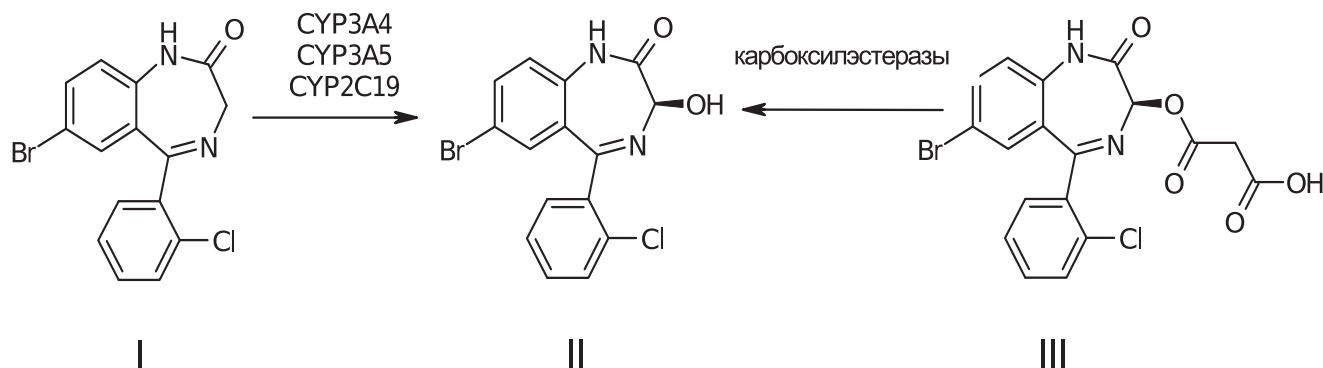
Введение

Бензодиазепиновые анксиолитики широко применяются в лечебной практике уже более 50-ти лет [2, 3, 17, 20]. В течение всего периода изучения этих веществ особое внимание уделяется их 3-замещённым производным [11, 18, 21, 25]. Объясняется это следующими причинами: во-первых, наличием заместителей в положении 3 гетерокольца у таких препаратов как лоразепам, оксазепам, хлоразепат, темазепам, мепродон. Во-вторых, большинство из существующих препара-

тов в процессе метаболизма (гидроксирования или гидролиза) образуют соответствующий 3-оксиметаболит (3-ОМ). В литературе [8, 11, 26] обсуждается роль 3-ОМ в проявлении нейротропного действия исходных соединений в эксперименте на животных и при лечении пациентов. В одних случаях препараты проявляли свойства пролекарств, в других оказывали совместное действие с метаболитом.

Феназепам (I) и левана (II) обладают широким спектром фармакологического действия, проявляя анксиолитический, седативный, снотворный, противосудо-

рожный, противогипоксический, миорелаксанта́ный эффекты [5, 6]. В медицинской практике феназепам используется в основном как анксиолитическое средство, а левана (циназепам) как снотворное [1, 2, 5, 6].



В процессе метаболизма препаратов образуется один и тот же метаболит III — 3-ОМ. Однако, феназепам превращается в метаболит в процессе гидроксилирования, катализируемого некоторыми изоформами цитохрома Р450 (СYP), а левана в результате гидролиза сложной эфирной связи карбоксилэстеразой.

Цель исследования

Цель работы — это проведение сравнительного анализа фармакологического действия и интегральных показателей фармакокинетики феназепама, леваны и их активного метаболита (3-ОМ), образующегося в организме экспериментальных животных различными биохимическими механизмами.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы белые беспородные мыши-самцы (20–23 г), содержащиеся в стандартных условиях вивария. Содержание животных в виварии осуществлялось в соответствии с правилами лабораторной практики и Приказу Минздравсоцразвития РФ №708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Работа осуществлялась согласно этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами («Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123» от 18 марта 1986 г. Страсбург, 1986; «Об утверждении правил лабораторной практики: приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации» № 267 от 19 июня 2003 г.

В работе использованы субстанции феназепама, леваны и 3-ОМ, и их ^{14}C -радиоактивные аналоги (0,28 мкКю/моль), меченные по положению «2» гетерокольца, синтезированные по методу [9]. Соединения вводились перорально или внутрибрюшинно в твиновой эмульсии в эквимольных дозах (10 мкмоль/кг).

Методы изучения фармакологических эффектов

Противосудорожное действие оценивали по антагонизму с судорожными агентами — коразолом (в дозе 110 мг/кг подкожно за 10 мин до развития макси-

мального эффекта исследуемого соединения), тио-семикарбазидом (24 мг/кг внутрибрюшинно через 15 мин после введения соединений и оценкой выживания животных в течение 90 мин), а также по способности предупреждать тонико-экстензорный припадок у мышей при пропускании переменного тока (50 Гц, 50 мА, длительность 0,2 с) через корнеальные электроды [7]. Влияние веществ на координацию движений оценивали в тесте «вращающегося стержня» [7, 22], а снотворное действие — в тесте потенцирования гексеналового сна [4]. Гексенал вводили в дозах 30–60 мг/кг внутрибрюшинно, через 15 мин после введения исследуемых препаратов и в дальнейшем регистрировали время наступления сна у животных по критерию утраты рефлекса переворачивания и длительность сна по восстановлению рефлекса переворачивания. Результаты обрабатывали с помощью статистического пакета программы MS Excel и представляли в виде ЭД_{50} (эффективная доза, вызывающая эффект у 50% животных) и доверительных границ ЭД_{50} с использованием фактора $t\text{ЭД}_{50}$ по методу Lithfield, Wilcoxon. Достоверность различий определяли при $P < 0,05$.

Методы изучения фармакокинетики соединений

Через определённые промежутки времени после введения радиоактивных соединений животных подвергали хлороформному наркозу, декапитировали и собирали кровь в предварительно гепаринизированные центрифужные пробирки. Извлеченный и взвешенный головной мозг гомогенизировали в изотоническом растворе (NaCl, 0,9%, 1:4 масса:объём). Для определения содержания общего радиоактивного материала в крови и гомогенате мозга отбирали их аликвоты, которые переносили во флаконы для жидкостной сцинтилляционной фотометрии, добавляли 1 см³ смеси Тритон X-100:ксилол (1:1) и обрабатывали, как указано ниже. Установление качественного и количественного состава метаболитов проводили методом тонкослойной препаративной радиохроматографии, по описанной ранее методике [8]. Содержания радио-

активного материала определяли на приборе Canberra Packard TRI CARB 2700 и выражали в нмоль/г (для головного мозга) или нмоль/см³ (для крови). Методом статистических моментов рассчитывали площадь под фармакокинетической кривой ($AUC_{0-\infty}$), среднее время удержания (MRT), константу элиминации (k_{el}), объём распределения (V_{dss}) и общий клиренс (Cl_{total}) препаратов [12, 13].

Результаты исследования и их обсуждение

Противосудорожное действие производных 1,4-бенздиазепина реализуется не только за счёт внутренней активности соединения, но и в результате увеличения аффинитета рецепторного комплекса к медиатору (ГАМК) и генерализованного торможения ЦНС благодаря гиперполяризации ГАМК-чувствительных нейронов [23]. Оценка этих процессов возможна на моделях введения антагонистов/обратных агонистов бенздиазепиновых рецепторов (коразол, бикукуллин, пикротоксин) и ингибиторов синтеза эндогенной ГАМК (тиосемикарбазид), а также по способности веществ блокировать вовлечение структур мозга в общий процесс возбуждения на модели максимального электрошока.

Установлено, что левана по антагонизму с коразолом обладает в 3,2 раза меньшей активностью, чем феназепам и в 9 раз уступает по активности своему метаболиту. По антагонизму с тиосемикарбазидом феназепам также в 3,6 раза более активен в сравнении с левадой, тогда как активность 3-ОМ выше всего в 2,3 раза (табл. 1). Таким образом, левана проявляет выраженную противосудорожную активность по антагонизму с ГАМК-ергическими антагонистами, демонстрируя как аффинитет к бенздиазепиновым рецепторам (антагонизм с коразолом), так и наличие внутренней активности (антагонизм с тиосемикарбазидом).

Полученные данные подтверждают результаты исследования специфического связывания этих соединений с ГАМК-рк синапсом мозга животных [15]. Величины связывания (K_i) составляют для веществ I-III, соответственно, $2,1 \pm 0,1$; $1,8 \pm 0,1$ и 81 ± 1 нмоль. Представленные результаты свидетельствуют о более существенном вкладе активного метаболита 3-ОМ в реализацию ГАМК-миметического действия веществ.

Вместе с тем, противосудорожное действие леваны в тесте антагонизма с максимальным электрошоком проявляется в дозах, на порядок превышающих её эффект в тесте антагонизма с коразолом (в ~30 раз). Феназепам и 3-ОМ в данном тесте проявляют меньшую активность (табл. 1). В тесте потенцирования гексеналового сна феназепам и левана показывают одинаковую активность.

По проявлениям миорелаксантного действия, которое рассматривается как побочный эффект бенздиазепинов, левана имеет меньшую активность (статистически достоверно при $p \leq 0,05$) в сравнении с феназепамом (в 5,4 раза, $t_{расч.} = 3,85$) и 3-ОМ (в 2,5 раза, $t_{расч.} = 2,79$).

О высокой избирательности противосудорожного действия леваны свидетельствуют также значительные величины терапевтических индексов, вычисляемые соотношением ED_{50} миорелаксантного действия (неврологический дефицит) и ED_{50} противосудорожных эффектов: по антагонизму с коразолом этот показатель составляет $23,8 \pm 8,3$, а по антагонизму с тиосемикарбазидом $26,2 \pm 6,1$. Для феназепама показатели терапевтического индекса по этим тестам составляют, соответственно, $14,1 \pm 2,6$ и $17,5 \pm 3,3$, а для 3-ОМ — $83,3 \pm 16,1$ и $23,1 \pm 4,7$, соответственно, и, следовательно, по величинам терапевтических индексов левана превосходит феназепам.

Таким образом, в тестах по предупреждению судорог, вызванных коразолом и тиосемикарбазидом, левана значительно уступает по своей активности феназепаму, однако по антагонизму с максимальным электрошоком левана превосходит феназепам. Нарушение координации движения у животных при введении препаратов в эквимолярных дозах было более выражено у феназепама. Сопоставление эффектов феназепама и леваны с эффектами 3-ОМ свидетельствует о большем сходстве 3-ОМ с феназепамом.

Полученные данные не позволяют однозначно утверждать о конкретном вкладе 3-ОМ в реализацию фармакологического действия феназепама или леваны. Не исключена возможность, что объяснение этому могут дать исследования фармакокинетики соединений, которые включают анализ их всасывания (желудочно-кишечный тракт → кровь), нейродоступности (кровь → головной мозг) и метаболизма (возможно, стереоселективного).

Нейротропная активность (ED_{50} мкмоль/кг) феназепама, леваны и 3-ОМ

Таблица 1

Соединение	Фармакологический тест				
	Потенцирование гексеналового сна	Антагонизм с коразолом	Антагонизм с тиосемикарбазидом	Антагонизм с максимальным электрошоком	Нарушение координации движения «вращающийся стержень»
Феназепам	0,14 (0,125 ÷ 0,156)	0,099 (0,066 ÷ 0,148)	0,08 (0,05 ÷ 0,11)	40,8 (29,14 ÷ 57,1)	1,4 (1,03 ÷ 1,89)
Левана	0,15 (0,135 ÷ 0,165)	0,32 (0,246 ÷ 0,416)	0,29 (0,24 ÷ 0,34)	9,0 (7,5 ÷ 10,8)	7,6 (6,08 ÷ 9,5)
3-ОМ	0,23 (0,201 ÷ 262)	0,036 (0,027 ÷ 0,046)	0,13 (0,11 ÷ 0,15)	55,5 (41,1 ÷ 74,9)	3,0 (2,34 ÷ 3,84)

Фармакокинетические исследования (табл. 2 и 3) показали существенные различия в распределении соединений между головным мозгом и кровью. Так, липофильное соединение I ($\log P=3,29$) в большем количестве регистрируются в головном мозге, тогда как в крови его концентрация существенно меньше (для феназепама AUC в мозге 309 ± 74 нмоль/см³*ч, в крови — 106 ± 17 нмоль/см³*ч). В то же время, для распределения вещества II отмечается обратная зависимость и его концентрация в крови статистически недостоверно выше, чем в головном мозге. Для указанных соединений характерно высокое значение V_{dss} — для феназепама 1007 ± 304 см³/кг (по данным содержания в крови) и 938 ± 492 г/кг (по данным в головном мозге), тогда как для 3-ОМ составляет 1658 ± 106 см³/кг (по данным содержания в крови) и 730 ± 167 г/кг (по данным в головном мозге).

Среднее время удержания 3-ОМ в крови также существенно различается в зависимости от того, вводится ли он индивидуально ($14,1 \pm 0,7$ ч), либо образуется после введения феназепама ($12,9 \pm 2,1$ ч) или леваны ($5,7 \pm 0,4$ ч). В то же время, аналогичные показатели MRT для 3-ОМ по данным в головном мозге не носят статистически достоверных отличий.

К основным путями метаболизма производных 1,4-бенздиазепина относятся окислительные реакции, катализируемые различными изоформами цитохрома P450 (CYP450). Они включают процессы N¹-деалкилирования (при наличии соответствующего заместителя), C³-гидроксигирования и окисления ароматических ядер, протекающие преимущественно в печени [2, 25]. Наличие сложной эфирной связи в молекуле леваны делает это соединение субстратом карбоксилэстераз, локализующихся в печени, крови и мозге [24]. В обоих случаях с кровью соединения I, II и их метаболит (3-ОМ) проникают через гематоэнцефалический барьер в головной мозг (биофазу действия). Поскольку этот процесс осуществляется механизмом простой диффузии, то его скорость и конечный результат (соотношение концентраций « $C_{\text{мозг}}/C_{\text{кровь}}$ ») зависят от физико-химических свойств этих веществ. В молекуле леваны карбоксильная группа способна к обратимой ионизации, за счёт чего устанавливается равновесие между ионизированной и неионизированной формами. Ионизированная форма хорошо растворима в биологических жидкостях (кровь, межклеточная жидкость), неионизированная (липофильная) более быстро диффундирует через гидрофобные участки биологических мембран. Благодаря этому левана легко проникает через гематоэнцефалический барьер и уже в тканях мозга подвергается гидролизу неспецифическими карбоксилэстеразами.

Проявление нейроактивных компонентов фармакологического спектра соединений в организме обусловлено как аффинностью к рецепторам, так и их концентрацией в биофазе действия. Поэтому предложенный механизм поступления леваны в головной мозг, гидролиз и последующее локальное увеличение концентрации 3-ОМ может объяснить особенность психофармакологической активности этого препарата.

Благодаря наличию сложноэфирной группы в молекуле леваны возможен её гидролиз и высвобождение активного 3-ОМ, увеличение концентрации которого в головном мозге может быть причиной изменения соотношения компонентов фармакологического спектра леваны по сравнению с феназепамом.

Рассматриваемые препараты близки по интегральным показателям распределения (V_{dss}) и элиминации (k_{el} и $Cl_{\text{общ}}$), что обусловлено их высокой липофильностью (табл. 2 и 3). Преимущественное накопление в липофильной ткани (головной мозг) также приводит к тому, что среднее время удержания феназепама в головном мозге в 2,7 раза выше, чем в крови. Наоборот, для леваны, как более гидрофильного соединения, подвергающегося гидролизу, среднее время удержания значительно меньше и составляет $4,7 \pm 0,5$ ч как в головном мозге, так и в крови. Вследствие этого для леваны отмечается более высокое значение общего клиренса (в 1,5 раза выше для мозга и в 4,5 раза выше для крови по сравнению с феназепамом).

Образующийся 3-ОМ, в дальнейшем подвергается конъюгации с образованием неактивных водорастворимых метаболитов и элиминации из организма [10]. Благодаря этому его общий клиренс в крови в 2,2 раза выше, чем в мозге ($117,6 \pm 4,5$ нмоль/см³*ч) выше, чем в головном мозге ($53,1 \pm 10,4$ нмоль/г*ч) — транспорт 3-ОМ с кровью в печень увеличивает эффективность образования глюкуроновых и сульфатных конъюгатов.

Одним из показателей эффективности поступления веществ в головной мозг является соотношение концентраций « $C_{\text{мозг}}/C_{\text{кровь}}$ ». Для 3-ОМ это соотношение составляет $0,86 \pm 0,09$ и обусловлено его физико-химическими свойствами и способностью проникать через гематоэнцефалический барьер. После введения леваны соотношение « $C_{\text{мозг}}/C_{\text{кровь}}$ » для 3-ОМ гораздо выше и составляет $2,6 \pm 0,2$. Такое существенное различие может быть объяснено сочетанием нескольких факторов: 1) повышенной способностью леваны проникать через гематоэнцефалический барьер и 2) гидролитическим расщеплением леваны в тканях мозга и высвобождением 3-ОМ. Аналогичный показатель для 3-оксифеназепама, образующегося при метаболизме феназепама, составляет $0,96 \pm 0,27$ и близок к величине распределения между кровью и мозгом самого 3-ОМ. Как было указано, метаболизм феназепама протекает преимущественно в печени и поступление в головной мозг исходного соединения и 3-ОМ осуществляется путём простой диффузии через гематоэнцефалический барьер. Ещё одной причиной, обуславливающей особенности фармакологического спектра леваны, может быть стереоселективность гидролиза препарата. Отметим, что в результате гидроксилирования феназепама и гидролиза леваны возможно образование R и S энантиомеров 3-ОМ. Однако, для них характерен очень быстрый процесс рацемизации, поэтому определить вклад каждого из них в определённый вид активности не представляется возможным. Что касается структуры леваны, то она изначально имеет в 3-м положении молекулы асимметрический атом и существует в виде

Таблица 2

Фармакокинетические параметры феназепама, леваны и 3-ОМ, после их перорального введения
(по данным концентрации веществ в головном мозге)

Феназепам		
Показатель	I	II
Площадь под фармакокинетической кривой, AUC, нмоль/г*ч	130 ± 21	136 ± 19
Среднее время удержания, MRT, ч	10,4 ± 4,8	13,6 ± 3,9
Константа элиминации, k_{el} , ч ⁻¹	0,097 ± 0,045	0,073 ± 0,009
Общий клиренс, $Cl_{общ}$, нмоль/г*ч	90,5 ± 21,7	53,1 ± 10,4
Объём распределения, V_{dss} , г/кг	938 ± 492	730 ± 167
Левана		
Площадь под фармакокинетической кривой, AUC, нмоль/г*ч	25,9 ± 2,4	131 ± 5
Среднее время удержания, MRT, ч	4,7 ± 0,5	9,6 ± 0,5
Константа элиминации, k_{el} , ч ⁻¹	0,22 ± 0,02	0,104 ± 0,005
Общий клиренс, $Cl_{общ}$, нмоль/г*ч	406 ± 38	83,6 ± 3,2
Объём распределения, V_{dss} , г/кг	1892 ± 264	806 ± 51
3-ОМ		
Площадь под фармакокинетической кривой, AUC, нмоль/г*ч	80,3 ± 7,5	–
Среднее время удержания, MRT, ч	13,6 ± 3,9	–
Константа элиминации, k_{el} , ч ⁻¹	0,073 ± 0,009	–
Общий клиренс, $Cl_{общ}$, нмоль/г*ч	53,1 ± 10,4	–
Объём распределения, V_{dss} , г/кг	730 ± 167	–

Таблица 3

Фармакокинетические параметры феназепама, леваны и 3-ОМ, после их перорального введения
(по данным концентрации веществ в крови)

Феназепам		
Показатели	I	II
Площадь под фармакокинетической кривой, AUC, нмоль/см ³ *ч	106 ± 17	141 ± 34
Среднее время удержания, MRT, ч	3,8 ± 1,4	12,9 ± 2,1
Константа элиминации, k_{el} , ч ⁻¹	0,26 ± 0,07	0,020 ± 0,001
Общий клиренс, $Cl_{общ}$, нмоль/г(см ³)*ч	264,5 ± 42	198 ± 42
Объём распределения, V_{dss} , см ³ /кг	1007 ± 304	1005 ± 219
Левана		
Площадь под фармакокинетической кривой, AUC, нмоль/см ³ *ч	50,1 ± 3,2	93,4 ± 3,2
Среднее время удержания, MRT, ч	4,7 ± 0,5	5,7 ± 0,4
Константа элиминации, k_{el} , ч ⁻¹	0,21 ± 0,02	0,18 ± 0,01
Общий клиренс, $Cl_{общ}$, нмоль/см ³ *ч	406 ± 38	219 ± 14
Объём распределения, V_{dss} , см ³ /кг	1892 ± 264	1237 ± 118
3-ОМ		
Площадь под фармакокинетической кривой, AUC, нмоль/см ³ *ч	93 ± 4	
Среднее время удержания, MRT, ч	14,1 ± 0,7	
Константа элиминации, k_{el} , ч ⁻¹	0,071 ± 0,004	
Общий клиренс, $Cl_{общ}$, нмоль/см ³ *ч	117,6 ± 4,5	
Объём распределения, V_{dss} , см ³ /кг	1658 ± 106	

S и R энантиомеров. Не исключена возможность, что определённая изоформа карбоксилэстеразы гидролизует лишь один из энантиомеров, не затрагивая другой. Такой вариант гидролиза был продемонстрирован [14] при энантиоселективном гидролизе микросомальной фракцией печени 3-ацетокси-7-бром-1-метил-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она, вещества близкого по строению леване. Авторами выделен S-энантиомер рацемического субстрата, что свидетельствует о большей специфичности карбоксилэстеразы к R-энантиомеру. Не исключена возможность, что этот энантиомер обладает большим сродством к ГАМК-рк, чем рацемат леваны, как это происходит в случае близкого по структуре соединения — гемисукцината оксазепамы, изомер которого обладает ярко выраженным действием на ЦНС [16]. Изначально, образование разного количества энантиомеров влияет на характер их распределения, изменяя степень связывания с транспортными белками крови [19], отсюда и изменение фармакологической активности изначально рацемической смеси исходного препарата леваны.

Соотношение площадей препарата в головном мозге

и крови является количественной оценкой способности проникать через ГЭБ. Однако для леваны это соотношение составляет $0,52 \pm 0,06$ вследствие гидролиза в тканях мозга. Благодаря этому соотношение AUC в мозге и крови для 3-ОМ (после введения леваны) составляет $1,4 \pm 0,1$, аналогичный показатель для 3-ОМ, образующегося при введении феназепама, составляет $0,96 \pm 0,27$, а при введении индивидуального 3-ОМ — $0,86 \pm 0,09$, что также подтверждает предложенную ранее схему поступления и гидролиза леваны в головном мозге.

Заключение

Учитывая вышеизложенное можно предположить, что оригинальный фармакологический спектр леваны в значительной степени обусловлен особенностями её фармакокинетики (способность проникать через гистогематические барьеры), а также комбинацией стереоселективности гидролиза и накоплением в тканях головного мозга активного метаболита 3-ОМ.

Литература

1. Андронати С.А., Макан С.Ю., Бойко И.А., Смольский С.П. Влияние циназепама на аффинитет к рецепторам нейромедиаторных систем головного мозга крыс. // Химико-фармацевтический журнал. 2007. № 5. С. 18–21.
2. Богатский А.В., Андронати С.А., Головенко Н.Я. Транквилизаторы (1,4-бенздиазепины и родственные структуры). Киев. Изд. Наукова думка. 1980. 281 С.
3. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Перспективы поиска новых анксиолитиков. // Экспер. и клин фармакология. 2002. Т.65, №5. С.4–17.
4. Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. Методические указания по изучению снотворной активности фармакологических веществ. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, издание 2-е (ред. Р.У. Хабриев). Москва. 2005. С. 263–276.
5. Воронина Т.А. Экспериментальная фармакология феназепама. // Феназепам: 25 лет в медицинской практике. Москва. Наука. (Середенин С.Б., Воронина Т.А., Незнамов Г.Г., Жердев В.П.). Глава 1. 2007. С. 9–132.
6. Воронина Т.А. Спектр фармакологической активности циназепама. // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. 2010. №2 (18). С. 13–24.
7. Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. Методические рекомендации по доклиническому изучению противосудорожной активности лекарственных средств. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Издание ФГБУ «НЦЭМСП». Глава 14. Москва 2012. С. 235–250.
8. Головенко Н. Я., Зиньковский В.Г. Определение транквилизаторов 1,4-бенздиазепинового ряда и их метаболитов в биологических средах. // Химико-фармацевтический Журнал. 1978. Т.12, № 1. С.3–14.
9. Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г., Якубовская Л. Н. Синтез меченых радиоактивными изотопами производных 1,4-бенздиазепина и установление структуры их метаболитов. // Украинский химический Журн. Т. 65, № 9. С. 34–44.
10. Головенко Н.Я. Физико-химическая фармакология. // изд «Астропринт» Одесса. 2004. 720 С.
11. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. Фармакокинетика и метаболизм феназепама. // Феназепам: 25 лет в медицинской практике. Москва. Наука. (Середенин С.Б., Воронина Т.А., Незнамов Г.Г., Жердев В.П.). 2007. Глава 2. С. 133–202.
12. Пиотровский В.К. Метод статистических моментов и интегральные модельно-независимые параметры фармакокинетики. // Фармакол. токсикол. 1986. Т. 5. С.118–127.
13. Соловьев В.Н., Фирсов А.А., Филов В.А. Фармакокинетика. // Москва. Наука. 1980. С. 24–29.
14. Шестеренко Е. А., Романовская И. И., Севастьянов О. В., Андронати С.А. Карбоксилэстеразы в энантиоселективном синтезе органических соединений. // Biotechnologia Acta. 2013. Т.6, № 1. С. 9–21.
15. Andronati S. A., Sava V.M., Voronina T.A., Yakubovskaya L.N., Yavorskii A. S., Andronati K. S. Affinity of 3-oxyphenazepam esters for benzodiazepine receptors. // Neurofiziologiya/Neurophysiology. 1994. Т. 26, № 4. С. 262–265.
16. Angelis L., Predominanto M., Verlua R. Stereostructure-activity relationships for oxazepam hemisuccinate. Effects on central nervous system. // Arzneimittelforschung. 1972. VOL. 22, № 8. P.1328–1333.
17. Baldwin, D. S., Ajel, K. I. & Garner, M. Pharmacological treatment of generalized anxiety disorder. // Curr. Top. Behav. Neurosci. 2010. Vol. 2. P. 453–467.
18. Comi V., Fossati A., Gervasi G.B. Specific metabolic pathway *in vitro* of pinazepam and diazepam by liver microsomal enzymes of different animal species. // Farmaco Sci. 1977. Vol. 32, № 4. P. 278–285.
19. Fitos I., Visy J., Simonyi M., Hermansson J. Stereoselective allosteric binding interaction on human serum albumin between ibuprofen and lorazepam acetate. // Chirality. 1999. Vol. 11, № 2. P. 115–1120.
20. Griebel G., Holmes A. 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery. // Nature reviews. Drug discovery. 2013. Vol. 12. P. 667–687.
21. Janbroers J.M. Pinazepam: review of pharmacological properties and therapeutic efficacy. // Clin Ther. 1984. Vol.6, № 4. P. 434–450.
22. Jones B.J., Roberts D.J. The quantitative measurement of motor incoordination in naive mice using an accelerating rotarod. // J Pharm Pharmacol. 1968. Vol. 20, № 4. P.302–304.
23. Kumar M.S., Kupast I.J. A review on gamma-aminobutyric acid (GABA) and its receptors. // Int j pharm biosci, 2012, Vol. 3, № 3. P. 60–69.
24. Masakiyo Hosokawa Structure and catalytic properties of carboxylesterase isozymes involved in metabolic activation of prodrugs. // Molecules. 2008. Vol. 13. P. 412–431.
25. Ono S., Hatanaka T., Miyazawa S., Aoyama T., Gonzalez F.J., Satoh T. Human liver microsomal diazepam metabolism using cDNA-expressed cytochrome P450s: role of CYP2B6, 2C19 and the 3A subfamily. // Xenobiotica. 1996. Vol. 26., № 11. P. 1155–1166.
26. Yang S.K., Lu X.L. N,N-dimethylcarbamyl derivatives of oxazepam. // Chirality. 1991. Vol. 3, № 3. P. 212–219.

Экскреция лекарственного вещества глутарон — нового производного глутаминовой кислоты

Смирнова Л.А.¹, Сучков Е.А.¹, Рябуха А.Ф.¹, Кузнецов К.А.¹,
Тюренков И.Н.², Перфилова В.Н.³

¹ — Лаборатория фармакологической кинетики Волгоградского медицинского университета, г. Волгоград

² — Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ Волгоградского медицинского университета, г. Волгоград

³ — Лаборатория фармакологии сердечно-сосудистых средств Волгоградского медицинского университета, г. Волгоград

Резюме. При изучении экскреции препарата было выявлено, что глутарон определяется в моче в течение не менее 72 часов исследования. Почечный клиренс составляет 123 мл/час, внепочечный — 34,84 мл/час при внутривенном пути введения. Превосходство почечного клиренса над внепочечным коррелирует с полученными ранее данными о характере распределения глутарона в органы и ткани. Препарат определялся в органах, отвечающих за элиминацию (печень, почки, легкие) в высоких концентрациях.

Ключевые слова: производные глутаминовой кислоты, экскреция.

Excretion of the drug glutaron — a new derivative of glutamic acid

Smirnova L.A.¹, Suchkov E.A.¹, Ryabukha A.F.¹, Kuznetsov K.A.¹, Tyurenkov I.N.², Perfilova V.N.³

¹ — Laboratory of pharmacological kinetics Volgograd Medical University, Volgograd

² — Department of Pharmacology and Biopharmaceutics Faculty of Postgraduate Medical Volgograd Medical University, Volgograd

³ — Laboratory of Pharmacology the cardiovascular drugs Volgograd Medical University, Volgograd

Summary. In the study of excretion of the drug was found that glutaron determined in urine for at least 72 hours of the study. Renal clearance is 123 ml/hour, extrarenal — 34.84 ml/hour by intravenous route of administration. Superiority over extrarenal and renal clearance correlates with earlier data on the distribution of glutaron in organs and tissues. The drug was determined in the organs responsible for elimination (liver, kidneys and lungs) at high concentrations.

Keywords: derivatives of glutamic acid, excretion.

Автор, ответственный за переписку:

Сучков Евгений Александрович — м.н.с., Волгоградский медицинский университет, лаборатория фармакологической кинетики НИИ фармакологии; 400059, г. Волгоград, ул. 64-Армии д. 6, кв. 36; +7 (909) 382-44-15; e-mail: ewgenik@gmail.com

Введение

На процессы изменения концентраций лекарственных препаратов, их взаимодействие и метаболизм, т.е. освобождение организма от любых ксенобиотиков, огромное значение оказывают процессы биотрансформации и экскреции. Иначе говоря, эффективность и безопасность любого лекарственного средства во многом обусловлена процессами биотрансформации и выведения, которое осуществляется различными путями. Соответственно, изучение процессов экскреции является важным и обязательным этапом исследования любого биологически активного вещества, предлагаемого к использованию в качестве лекарственного средства [1, 2].

Цель исследования

Целью данного исследования явилось изучение выведения нового структурного аналога глутаминовой кислоты — глутарона, обладающего антидепрессант-

ными, анксиолитическими и нейропротекторными свойствами [4-6].

Методы исследования

Эксперименты по изучению фармакокинетики глутарона были выполнены на 100 крысах-самцах массой 180-220 грамм с соблюдением всех правил и Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.).

Для количественного определения соединений нами был разработан метод ВЭЖХ. Использовался жидкостной хроматограф Shimadzu (Япония) с флуоресцентным детектором и колонка SUPELCOSIL LC-18 (5мкм; 150 мм x 4,6мм). Детектирование проводилось при длине волны экстинкции 215 нм и длине волны эмиссии 285 нм. Мобильная фаза включала в себя ацетонитрил (УФ 210) (Россия) и буферную систему из 50 мМ р-ра однозамещённого калия фосфа-

та (рН 2,1) с добавлением 0,06% гептансульфоновой кислоты. Соотношение ацетонитрил: буфер 10%:90% v/v [7, 8].

Глутарон вводили крысам внутривенно и перорально в высшей терапевтической дозе 26 мг/кг. Сбор проб мочи и кала осуществлялся в течение 3 суток каждые 24 часа. Сбор проб в контрольной группе животных проводился в течение 24 часов [6].

Мочу разводили дистиллированной водой, с добавлением 10% ТХУ. Из кала готовили 20% водный гомогенат. Из органов готовили 25% гомогенаты в дистиллированной воде с добавлением 5% ТХУ.

Расчёты проводили внемоделным методом, статистическую обработку осуществляли в программе MS Excel [3].

Результаты исследования

В результате проведённых исследований установлено, что содержание глутарона в лёгких высокое.

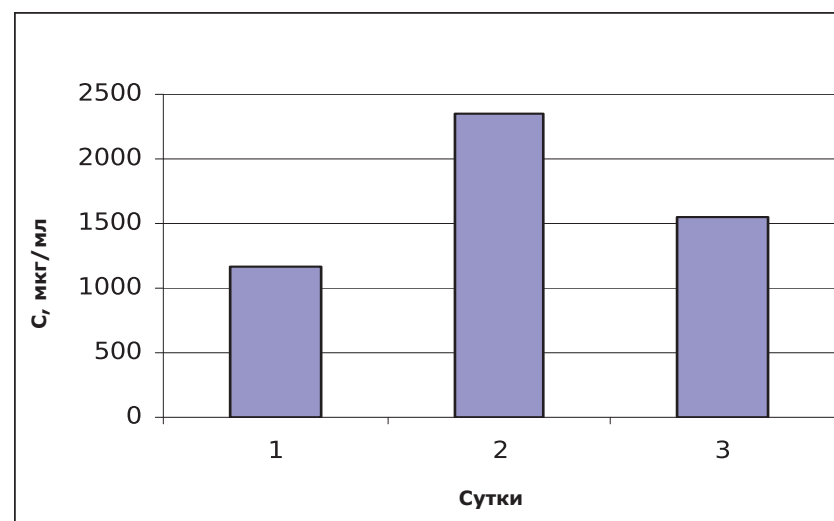


Рис. 1. Содержание препарата глутарон в моче крыс при введении в дозе 26 мг/кг. Обозначения: по оси абсцисс — время (сутки), по оси ординат — количество вещества (мкг).

При внутривенном введении максимум наблюдается через 10 минут (62,86 мкг/г), затем концентрация резко снижается до 1-2 часов и более медленно до 12 часов. Тканевая доступность составила 2,95.

В почках содержание вещества высокое, максимум концентрации составляет 145,57 мкг/г через 5 минут после введения, повторный максимум наблюдается через 40 минут после введения (67,6 мкг/г). Тканевая доступность составила 4,81 при внутривенном введении.

Содержание глутарона в печени также достаточно велико. Максимальная концентрация (32,97 мкг/г) наблюдается на 5 минуте, остаётся достаточно высокой до 1 часа и затем постепенно уменьшается к 12 часам. Тканевая доступность составила 1,2 при внутривенном введении.

При изучении экскреции препарата было выявлено, что глутарон определяется в моче в течение не менее 72 часов исследования. При этом максимум выведения приходится на 2 сутки после введения. Почечный клиренс составляет 123 мл/час, внепочечный — 34,84 мл/час. Таким образом, основная часть неизменённой субстанции выводится через почки.

Выводы

Установленное в результате проведённых исследований значительное превосходство почечного клиренса над внепочечным коррелирует с полученными ранее данными о характере распределения соединения глутарон в органы и ткани. Лекарственное вещество глутарон определялся в почках, печени и легких в высоких концентрациях при внутривенном введении. Тканевая доступность составила 4,81; 2,95 и 1,2 соответственно.

Таблица 1

Тканевая биодоступность биологически активного вещества глутарон в органах, отвечающих за элиминацию

Орган	Тканевая биодоступность	AUC
Лёгкие	2,95	121,53
Почки	4,81	197,89
Печень	1,2	49,47

Таблица 2

Фармакокинетические параметры, характеризующие выведение изучаемого соединения глутарон

	Cl тоталь- ный	Cl почечный	Cl внепочеч- ный	Кумуля- тивная экскреция
Внутривенное введение	631,4	123	34,84	157,84

Литература

1. Белоусов Ю.Б. Клиническая фармакокинетика, Литтерра, Москва, 2005.
2. Каркищенко Н.Н., Хоронько В.В., Сергеева С.А., Каркищенко В.Н. Фармакокинетика, Феникс, Ростов-на-Дону, 2001.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, Р.У. Хабриева (ред.) Москва, 2005.
4. Тюренков И.Н., Багметова В.В., Чернышева Ю.В. // Вестник Волг. гос. мед. универ. — 2012. — № 3 (43). — С. 21-24.5.
5. Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Смирнова Л.А. и др. // Хим-фарм. журнал. -2010.- Т.44, №12.- С.68-70.
6. Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Смирнова Л.А. и др. //Хим-фарм. журнал. -2013.-Т.47, №3.-С.55-56.

Координационное соединение кобальт бис(цитрато)станнат — результат поиска новых противогриппозных лекарственных средств

Матюшкина М.В.¹, Годован В.В.¹, Сейфуллина И.И.², Гридина Т.Л.³

¹ — Кафедра общей и клинической фармакологии Одесского национального медицинского университета, г. Одесса, Украина

² — Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, г. Одесса, Украина

³ — НИИ «Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И.И. Мечникова» МЗ Украины

Резюме. Изучены фармакологические свойства нового координационного соединения — биологически активного вещества — кобальт бис(цитрато)станната. В результате проведённых исследований установлено, что соединение проявляло выраженную противовирусную активность в отношении вируса гриппа человека штаммов А/Гонконг/1/68 (H3N2), А/PR/8/34 (H1N1) М и вируса гриппа птиц H5N3 на культуре ткани хорион-алантоисных оболочек (ХАО) 11-12 суточных куриных эмбрионов и монослойной культуре клеток MDCK. Соединение относится к малотоксичным (при внутрибрюшинном введении крысам LD₅₀ = 206,63 мг/кг; пероральном — LD₅₀ = 1836,76), что дает перспективу для дальнейшего его доклинического исследования как противовирусного средства.

Ключевые слова: координационное соединение, олово, кобальт, лимонная кислота, вирус гриппа.

Coordination compounds cobalt bis(citrate)stannate — are results of searching new antiinfluenza drugs

Matyushkina M.V.¹, Godovan V.V.¹, Seyfullina I.I.², Grydina T.L.³

¹ — Odessa State Medical University

² — I.I. Mechnikov National University

³ — RI «Ukrainian Research Institute antiplague I.I. Mechnikov» Ministry of Health of Ukraine

Summary. The pharmacological properties of new coordination compound — the biologically active substance — cobalt bis(citrate)stannate was studied. The result of researching are: the compound has antiviral activity against human influenza virus strains A/Hongkong/1/68 (H3N2), A/PR/8/34 (H1N1), and influenza virus H5N3 in tissue culture chorio-allantoic membranes (CAM) of chick embryos 11-12 daily and monolayer culture of MDCK cells used. Compound has a low toxicity (by intraperitoneal injection LD₅₀ = 206,63 mg/kg; orally — LD₅₀ = 1836,76), that gives perspective to further his preclinical studies as an antiviral agent.

Keywords: coordination compound, tin, cobalt, citric acid, virus of influenza.

Автор, ответственный за переписку:

Матюшкина Марина Владимировна — аспирант, кафедра общей и клинической фармакологии Одесского национального медицинского университета, г. Одесса, Украина; тел. (+38)050-416-64-62; e-mail: shemonayeva_56@mail.ru

Введение

По данным ВОЗ, грипп занимает первое место по частоте и количеству случаев в мире, что предопределяет социальное и экономическое значение данной проблемы. По статистике гриппом ежегодно в мире заболевает до 500 млн. человек [1]. Смертность вследствие постгриппозных осложнений составляет 7,5-23 на 100 тыс. населения, причём большая часть этих смертей приходится на детей до 5 лет и людей старше 65 лет. Ежегодные эпидемии гриппа приводят к развитию или обострению имеющихся в анамнезе хронических заболеваний [2]. Естественно, что огромным является и экономический ущерб от эпидемий гриппа. Проблема заболеваемости гриппом усугу-

бляется еще и тем, что вспышки и эпидемии гриппа прогнозируются с трудом; вирусы гриппа А и В отличаются чрезвычайной антигенной изменчивостью, а наблюдающаяся реассортация между штаммами вируса гриппа А человека, млекопитающих и птиц увеличивает риск возникновения новых пандемических штаммов [3]. Кроме того, в течение 10-15 последних лет вирусы гриппа птиц в результате мутаций изменили свои биологические свойства, приобрели возможность инфицировать людей и вызывать очень тяжёлые клинические формы заболевания, значительный процент которых заканчивается летально [4]. Это сказывается на эффективности вакцинации, рекомендованной ВОЗ в качестве основного средства борьбы против гриппа.

Другим способом профилактики и лечения гриппа является фармакотерапевтическое воздействие, включающее средства этиотропной, иммунокорригирующей и симптоматической терапии. Среди приоритетной группы этиотропных препаратов ведущее место на сегодня занимают те, которые оказывают прямое противовирусное действие. Однако арсенал противовирусных средств на современном фармацевтическом рынке невелик и представлен фактически двумя группами: ингибиторы нейраминидазы (осельтамивир, занамивир) и блокаторы M_2 -каналов (амантадин, ремантадин). К сожалению, эти препараты не идеальны: имеют достаточно широкий спектр противопоказаний и нежелательных эффектов, ограничения применения (возраст, беременность, лактация), быстрое возникновение фармакорезистентности, достаточно высокая стоимость и другие [5, 6]. Можно выделить и третью группу противовирусных препаратов, которые одновременно обладают противовирусной и иммуномодулирующей активностью (умифеновир, инозин пранобекс, алтабор, интерфероны и другие) [7], но они также не лишены недостатков [8]. В связи с вышеизложенным сегодня продолжается интенсивный поиск эффективных и безопасных противовирусных средств.

В этом плане внимание исследователей привлекают металлокомплексы, ряд которых обладает достаточно широким спектром антибактериальной и противовирусной активности [7, 9, 10]. В частности, установлено, что металлокомплексы могут действовать на вирус различными путями: инактивировать вирус, заняв на его поверхности активные центры; проникать через липидную оболочку вируса; препятствовать его размножению в клетке; разрушать вирус вне клетки [11, 12].

Цель исследования

Цель данного исследования — это изучение противовирусной активности нового биологически активного вещества (БАВ) — кобальт бис(цитрато)станната.

Материалы и методы

БАВ — кобальт бис (цитрат) станната формулы $[Co(H_2O)_6][Sn(HCitr)_2] \cdot 4H_2O$ ($M = 735,7$ г/моль) синтезировано на кафедре общей химии и биополимеров Одесского национального университета имени И.И. Мечникова под руководством заслуженного деятеля науки и техники Украины, проф. И.И. Сейфуллиной. По данным рентгеноструктурного анализа (РСА), соединение построено с центросимметрических октаэдрических катионов $[Co(H_2O)_6]^{2+}$, анионов $[Sn(HCitr)_2]^{2-}$ и кристаллизационных молекул воды. В кристаллах комплексные катионы и анионы объединены непосредственно между собой и через кристаллизационные молекулы воды водородными связями в трёхмерный каркас [13]. Структурная формула нового соединения представлена на рис. 1.

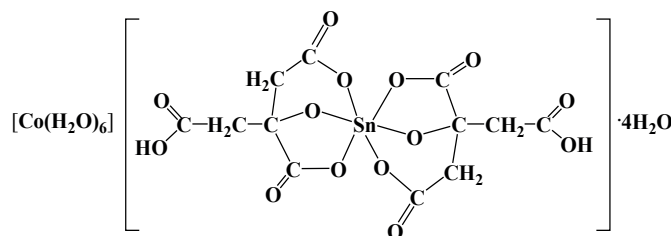


Рис. 1. Структурная формула кобальт бис(цитрато)станната

Изучение безвредности нового БАВ *in vivo* показало, что соединение относится к малотоксичным веществам (IV класс) [14] — LD_{50} при внутривенном введении крысам составило 206,63 мг/кг; пероральном — 1836,76.

Однако перед изучением специфического действия против вирусов гриппа человека и птиц нового БАВ первоначально определяли степень цитотоксичности соединения на трех клеточных моделях.

По первой модели методика проведения исследования заключалась в создании контакта водных растворов исследуемого вещества в различных концентрациях с тест-клетками — инфузориями *Colpoda steinii* (ООО «Возрождение М», Одесса, Украина) [15]. Это позволило определить максимально переносимую концентрацию (МПК) соединения по показателям их жизнеспособности через 3 ч после начала контакта и тем самым установить степень цитотоксичности БАВ. Вторая модель определения степени цитотоксичности нового БАВ проведена стандартно на культуре ткани хорион-аллантоисных оболочек (ХАО) 11-14-суточных куриных эмбрионов [16]. Третьей моделью с использованием культуры клеток MDCK (культура клеток почки собаки) определялась МПК исследуемого БАВ, которую рассчитывали, исходя из наибольшей концентрации соединения, не вызывавшей дегенерацию клеток [17].

Противогриппозную активность БАВ изучали в отношении штаммов вируса гриппа А/Гонконг/1/68 (H3N2) и А/PR/8/34 (H1N1), а также вируса гриппа птиц H5N3, с использованием культуры ткани ХАО 11-12 суточных куриных эмбрионов [16]. Эта культура считается наиболее приближенной к уровню целого организма, которым является куриный эмбрион. Кроме того, использование культуры ткани ХАО является более экономичным методом по сравнению с использованием куриных эмбрионов для определения противовирусного действия веществ [16].

Расчёт Ig ТИД₅₀ (дозы, которая вызывает инфицирования 50% и более фрагментов ткани ХАО) в экспериментах *in vitro* проводили по методу Кербера Б.А. в модификации Ашмарина И.П. [18].

Оценку противовирусной активности соединения с использованием метода торможения развития вирус-индуцированного цитопатического эффекта проводили на монослойной культуре клеток MDCK, согласно общепринятой методики [17].

В качестве референс-препарата использовали Тамифлю (осельтамивир), порошок для приготовления

суспензии для приема внутрь по 12 мг в 1 мл во фл. по 30 мл фирмы Хоффманн-Ля Рош (Швейцария) в концентрации 410 мкг/мл, что соответствует 1×10^{-3} Моль.

Статистическую значимость антивирусной активности БАВ ($p > 0,05$) определяли по непараметрическому критерию знаков для связанных выборок (р по критерию знаков — К.З.) [19].

Результаты и обсуждения

В результате проведенных исследований выявлено, что МПК кобальта бис(цитрато)станната на культуре инфузорий *Colpoda steinii*, тканевой культуре ХАО и культуре клеток MDCK составила 7000, 7000 и 368 мкг/мл, соответственно. Вследствие полученных данных по цитотоксичности нового БАВ, для определения его противовирусной активности в отношении штамма вируса гриппа А/Гонконг/1/68 (H3N2) на тканевой культуре ХАО были отобраны следующие дозы: 7000, 3500 и 735 мкг/мл, что соответствует $1,0 \times 10^{-2}$, $0,5 \times 10^{-3}$ и $1,0 \times 10^{-3}$ Моль. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Установлено, что новое соединение в концентрации 7000 мкг/мл полностью подавляло репродукцию штамма вируса гриппа А/Гонконг/1/68 (H3N2) на тканевой культуре ХАО по сравнению с контролем (без применения БАВ), несколько даже превышая эффективность референс-препарата Тамифлю, который в концентрации 410 мкг/мл подавлял репродукцию вируса на $4,17 \lg \text{ТИД}_{50}$.

В концентрациях 3500 и 735 мкг/мл кобальт бис(цитрато)станнат статистически достоверно относительно контроля подавлял репродукцию вируса гриппа (на $2,50$ и $1,75 \lg \text{ТИД}_{50}$ соответственно), однако уступал по активности препарату сравнения.

Учитывая полученные в отношении штамма вируса гриппа А/Гонконг/1/68 (H3N2) результаты, для определения антивирусной активности нового БАВ относительно штамма вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) были выбраны концентрации 1750 и 184 мкг/мл. Приведенные в табл. 2 результаты свидетельствуют о том, что новое соединение в концентрациях 1750 и 184 мкг/мл в значительной степени подавляло репродукцию вируса А/PR/8/34 (H1N1) — на $3,08$ и $3,33 \lg \text{ТИД}_{50}$, соответственно, по сравнению с контролем ($p < 0,05$), однако несколько уступая по эффективности Тамифлю (410 мкг/мл), который полностью подавлял репродукцию данного вируса — на $4,17 \lg \text{ТИД}_{50}$ ($p < 0,05$).

В отношении штамма птичьего гриппа H5N3 установлено, что новое соединение в концентрациях 1750 и 368 мкг/мл полностью ингибировало его репродукцию на тканевой культуре ХАО — на $4,25$ и $4,08 \lg \text{ТИД}_{50}$, соответственно ($p > 0,05$), превышая действие Тамифлю (410 мкг/мл) — $3,75 \lg \text{ТИД}_{50}$ (табл. 3).

Противовирусная активность нового соединения и препарата сравнения на модели клеточной культуры MDCK представлена в табл. 4.

Поскольку МПК кобальт бис(цитрато)станната на этой модели ниже (368 мкг/мл), противовирусное действие вещества изучали именно в этой концентрации.

Результаты исследований показали, что репродукция вируса гриппа человека штаммов А/Гонконг/1/68 (H3N2) подавлялась изучаемым соединением достоверно относительно контроля на $2,2 \lg \text{ТИД}_{50}$, однако БАВ практически в 2 раза уступало по активности референс-препарату ($4,33 \lg \text{ТИД}_{50}$). В отношении штамма А/PR/8/34 (H1N1) ингибирование репродукции было несколько ниже при использовании и нового БАВ, и Тамифлю ($1,6$ и $3,33 \lg \text{ТИД}_{50}$, соответственно). Но в обоих случаях торможение репродукции было статистически достоверным ($p > 0,05$ по К.З.) по отношению к контролю.

Результаты

1. Кобальт бис(цитрато)станнат в концентрации 7000 мкг/мл полностью подавлял репродукцию штамма вируса гриппа А/Гонконг/1/68 (H3N2). В концентрациях 1750 и 184 мкг/мл в значительной степени подавлял репродукцию вируса А/PR/8/34 (H1N1), а в концентрациях 1750 и 368 мкг/мл полностью подавлял репродукцию штамма вируса гриппа птиц H5N3 на тканевой культуре ХАО.

2. Во всех трех вышеперечисленных сериях экспериментов новое соединение по противовирусной активности было сопоставимо с препаратом сравнения тамифлю, статистически недостоверное несколько уступая или превышая его действие.

3. На тканевой культуре MDCK кобальт бис(цитрато)станнат в концентрации 368 мкг/мл проявлял статистически значимое относительно контроля тормозящее действие на репродукцию вируса гриппа человека штаммов А/Гонконг/1/68 (H3N2) и А/PR/8/34 (H1N1), однако уступало по эффективности референс-препарату.

Основные выводы

Новое биологически активное вещество — кобальт бис(цитрато)станнат оказывает отчетливое дозозависимое противовирусное действие в отношении вируса гриппа человека штаммов А/Гонконг/1/68 (H3N2) и А/PR/8/34 (H1N1), а также вируса гриппа птиц H5N3 на обоих применяемых моделях.

Выявленная противовирусная активность кобальт бис(цитрат)станната, наряду с его низкой токсичностью, раскрывает перспективу дальнейшего доклинического исследования данного БАВ.

Таблица 1

Влияние кобальт бис(цитрато)станната на репродукцию штамма вируса гриппа А/Гонконг/1/68 (H3N2) на тканевой культуре ХАО

Вещества	Молярная масса, г/моль	Концентрация, мкг/мл (соответственно в Моль)	Подавление репродукции вируса, Ig ТИД ₅₀
Кобальт бис(цитрато)станнат	735	7000 (1×10^{-2})	4,33*
		3500 ($0,5 \times 10^{-2}$)	2,50*#
		735 (1×10^{-3})	1,75*#
Тамифлю	410	410 (1×10^{-3})	4,17*

Примечание: * — достоверность различий по отношению к контролю ($p < 0,05$)
— достоверность различий по отношению к референс-препарату ($p < 0,05$)

Таблица 2

Влияние кобальт бис(цитрат)станната на репродукцию штамма вируса гриппа А/PR/8/34 (H1N1) на тканевой культуре ХАО

Вещества	Молярная масса, г/моль	Концентрация, мкг/мл (соответственно в Моль)	Подавление репродукции вируса, Ig ТИД ₅₀
Кобальт бис(цитрато)станнат	735	1750 ($0,25 \times 10^{-2}$)	3,08*
		184 ($0,75 \times 10^{-3}$)	3,33*
Тамифлю	410	410 (1×10^{-3})	4,17*

Примечание: * — достоверность различий по отношению к контролю ($p < 0,05$)

Таблица 3

Влияние кобальт бис(цитрат)станната на репродукцию штамма вируса птичьего гриппа H5N3 на тканевой культуре ХАО

Вещества	Молярная масса, г/моль	Концентрация, мкг/мл (соответственно в Моль)	Подавление репродукции вируса, Ig ТИД ₅₀
Кобальт бис(цитрато)станнат	735	1750 ($0,25 \times 10^{-2}$)	4,25*
		368 ($0,5 \times 10^{-3}$)	4,08*
Тамифлю	410	410 (1×10^{-3})	3,75*

Примечание: * — достоверность различий по отношению к контролю ($p < 0,05$)

Таблица 4

Влияние кобальт бис(цитрато)станната на репродукцию штаммов вируса гриппа человека штаммов А/Гонконг/1/68 (H3N2) и А/PR/8/34 (H1N1) на тканевой культуре MDCK

Вещества	Молярная масса, г/моль	МПК, мкг/мл (соответственно в Моль)	Концентрация, мкг/мл (соответственно в Моль)	Подавление репродукции вируса H3N2, Ig ТИД ₅₀	Подавление репродукции вируса H1N1, Ig ТИД ₅₀
Кобальт бис(цитрато)станнат	735	368 мкг/мл ($0,5 \times 10^{-3}$ М)	368 мкг/мл ($0,5 \times 10^{-3}$ М)	2,20*#	1,60*#
Тамифлю	410	410 мкг/мл ($1,0 \times 10^{-3}$ М)	205 мкг/мл ($0,5 \times 10^{-3}$ М)	4,33*	3,33*

Примечание: * — достоверность различий по отношению к контролю ($p < 0,05$)
— достоверность различий по отношению к референс-препарату ($p < 0,05$)

Литература

1. Петров Р.В. Вакцинация против гриппа: проблемы и успехи. // Лечащий врач. — 2007. — №9. — С. 93–96.
2. Viboud C., Bolle P.Y., Cauchemez S., et al. Risk factors of influenza transmission in households. // Br. J. Gen. Prac. — 2004. — № 54 (506). — P. 684–689.
3. Осидак Л.В. Дринецкий В.П., Ерофеева М.К. Грипп как проблема XXI века. // Детские инфекции. — 2009. — Т. 8. №3. — С. 3–9.
4. Sturm-Ramirez K.M., Ellis T., Bousfield B., et al. Re-emerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. // J. Virol. — 2004. — №78. — P. 4892–4901.
5. Whitley R. J., Hayden F.G., Reisinger K.S. Oral oseltamivir treatment in children. // Ped. Inf. Dis. — 2001. — N 2. — P. 127–133.
6. Bright R.A., Shay D., Shu B., et al. Adamantane resistance among influenza A viruses isolated early during the 2005–2006 influenza season in the United States. // Journal of the American Medical Association. — 2006. — vol.295 (doi:10.1001/jama.295.8.joc60020).
7. Добра Е.А. Противовирусные лекарственные средства в фармакотерапии гриппа и ОРВИ. // Провизор. — 2011. — № 2. — С. 33–36.
8. Еришов Ф.И., Романцов М.Г. Лекарственные средства, применяемые при вирусных заболеваниях. — М.: «Гэотар-Медиа», 2007. 320 с.
9. Бурачева С.А., Прискарь И.И., Ципилов В.И. Синтез и противомикробная активность координационных соединений меди с тиосемикарбазами замещенных салицилового альдегида. Бурачева. // Химико-фармацевтический журнал, 2005. — Т. 6. — №39. — С. 30–33.
10. Леглер Е.В., Казаченко А.С., Казбанов В.И. Синтез и антимикробная активность комплексных соединений серебра с аргинином и глутаминовой кислотой. // Хим-фарм.журнал. — 2001. — Т.35. — №9 — С.35–36.
11. Eds. M. Gielen, E. R. T. Tiekink. Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine. Weinheim: Wiley-VCH, 2005. 598 p
12. Зинченко А. И., Паруль Д.А. Основы молекулярной биологии вирусов и антивирусной терапии. — Мн.: Выш. шк., 2005. 214 с.
13. Марцинко Е.Э., Миначева Л.Х., Чебаненко Е.А., Сейфуллина И.И. и др. Условия образования гетерометаллических комплексов в системах GeCl_4 (SnCl_4) — лимонная кислота — $\text{M}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ — H_2O . Кристаллическая и молекулярная структура $[\text{M}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Ge}(\text{HCit})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($\text{M} = \text{Mg}, \text{Mn}, \text{Co}, \text{Cu}, \text{Zn}$) и $[\text{M}(\text{H}_2\text{O})_6][\text{Sn}(\text{HCit})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($\text{M} = \text{Mg}, \text{Co}, \text{Ni}$) // Журн. неорганической химии. — 2013. — Т. 58, № 5. — С.588–595.
14. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. Рекомендации / под. ред. чл.-кор. АМН Украины А.В. Стефанова — К. Авіцена. 2002. 567 с.
15. Пат. 15629 А Україна, МПК G01N 33/15, C12Q 1/18. Спосіб оцінки ступеня цитотоксичності біологічно активних сполук та фармакологічних препаратів. Лозицький В.П., Григорашева І.М., Федчук А.С. [та ін.]; заявник-патентотримувач Український наук.-досл. Протичумний ін.-т, ТОВ „Відродження М”. — №u2005 12542; заявл. 26.12.05; опубл. 17.07.06, Бюл. №7.
16. Ильенко В.И. Методы испытания и оценки противовирусной активности химических соединений в отношении вируса гриппа: методические рекомендации. Всесоюзный НИИ гриппа МЗ СССР. — Ленинград, 1977. 36 с.
17. Kaverin N.V., Webster R.G. Impairment of multicycle influenza virus growth in Ver (WHO) cells by loss of trypsin activity. J Virol, 1995; 69: 4: 2700–2703.
18. Ашмарин И.П. Вычисление ED_{50} при малом числе подопытных животных. // Ж. микробиол. — 1959. — №2. — С.102–108.
19. Гублер Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В.Гублер, А.А.Генкин. — Л.: Медицина, 1973. — 142с.

Межлекарственные взаимодействия у новых противоэпилептических препаратов: фокус на перампанел и зонисамид

Белоусов Ю.Б.

Кафедра клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, г. Москва

Резюме. В последние 25 лет наблюдается широкое внедрение новых противоэпилептических препаратов (ПЭП) в клиническую практику. Поскольку часто лечение эпилепсии проводится на протяжении всей жизни, а части пациентам назначается политерапия с другими ПЭП, их межлекарственные взаимодействия являются важным фактором в лечении эпилепсии, что может быть основной терапевтической проблемой. Для новых ПЭП способность к взаимодействию особенно важна, поскольку они чаще всего могут быть назначены только в качестве вспомогательной политерапии, по крайней мере, при первом назначении. Основное фармакокинетическое взаимодействие ПЭП связано с индукцией или торможением печёночных ферментов, в то время как фармакодинамические взаимодействия главным образом могут повлечь синергизм в отношении неблагоприятного воздействия, хотя также существуют примеры противосудорожного синергизма. Настоящая статья подробно описывает фармакокинетические и фармакодинамические взаимодействия новых ПЭП (зонисамид и перампанел) с другими ПЭП.

Ключевые слова: перампанел, зонисамид, фармакокинетика, фармакодинамика, межлекарственное взаимодействие.

Drug-drug interactions in the new antiepileptic drugs: focus to perampanel and zonisamide

Belousov Y.B.

Department of Clinical Pharmacology of the Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov Russian Ministry of Health, Moscow

Summary. In the past 25 years, there has been an exponential introduction of new antiepileptic drugs (AEDs) in clinical practice. As is often the treatment of epilepsy carried throughout of life, as part of the patient assigned to polytherapy with other AEDs, their drug-drug interactions are an important factor in the treatment of epilepsy, which can be a major therapeutic challenge. For new AEDs interaction particularly important because they often can only be assigned to an add-on polytherapy, at least the first prescribing. Main pharmacokinetics interaction associated with the induction or inhibition of hepatic enzymes, while mainly pharmacodynamics interaction may result in synergy against adverse effects, although there are also examples of anticonvulsant synergism. This article describes in detail the pharmacokinetics and pharmacodynamics interaction of new AEDs (zonisamide and perampanel) with other AEDs.

Keywords: perampanel, zonisamide, pharmacokinetics, pharmacodynamics, drug-drug interaction.

Автор, ответственный за переписку:

Белоусов Юрий Борисович — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой клинической фармакологии Российского национального медицинского исследовательского университета им. Н.И. Пирогова, г. Москва; адрес: 105066, г. Москва, ул. Новая Басманная, д. 26 тел.: +7(499) 261-65-10 (раб.); e-mail: belouspharma@mail.ru

Введение

Противоэпилептические препараты (ПЭП) являются основой лечения эпилепсии, при этом эффективность монотерапии ПЭП в лечении эпилепсии является достоверно доказанной и обычно достигает результата примерно у 60-70% вновь диагностированных пациентов, позволяя эффективно контролировать приступы [11, 21]. Переход на альтернативную монотерапию ПЭП приведёт к эффективному контролю приступов у 50% из оставшихся 30-40% пациентов; остальным пациентам неизбежно назначают политерапию ПЭП, в попытке более эффективно контролировать приступы. Однако, политерапия ПЭП может привести к межлекарственному взаимодействию [17].

ПЭП, как терапевтический класс препаратов, связаны с большим числом лекарственных взаимодействий.

Многие взаимодействия приводят к неблагоприятным клиническим последствиям, вследствие либо их частоты и/или их степени. Было опубликовано множество обзоров взаимодействий с участием ПЭП [5, 8, 17, 18, 20]. Тем не менее, следует отметить, что по сравнению с ПЭП первого поколения (карбамазепин, фенobarбитал, фенитоин, примидон и вальпроат), новые ПЭП второго и третьего поколения менее склонны к взаимодействию и это можно объяснить тем, что они не обладают выраженной способностью к индукции или торможению печёночных ферментов [8, 16]. Кроме того, многие из новых ПЭП не подвергаются метаболизму в печени, но вместо этого выводятся почками в неизменном виде, и это также приводит к меньшей склонности к участию в метаболических взаимодействиях.

Когда все новые ПЭП проходят первичную регистрацию в качестве вспомогательного метода лечения, пред-

принимаются значительные усилия для определения их склонности к взаимодействию с другими уже зарегистрированными ПЭП и прочими не-ПЭП. Это достигается несколькими способами:

- у добровольцев или пациентов изучают конкретные комбинации препаратов, как правило, с использованием дизайна открытого исследования;
- путём использования популяционных фармакокинетических данных, полученных из клинических исследований препарата фазы II и фазы III;
- для тех ПЭП, которые подвергаются метаболизму в печени, идентифицируют ответственные изоферменты с тем, чтобы обеспечить прогноз взаимодействий.

На сегодняшний день большинство клинически значимых взаимодействий ПЭП представляет собой индукцию или торможение печёночного метаболизма препаратов [9]. Иногда также вовлекаются другие механизмы (например, желудочно-кишечное всасывание; вытеснение из связывания с белками, в первую очередь, из связывания с альбумином плазмы и выведение, обычно почками). Также иногда наблюдаются фармакодинамические взаимодействия.

Целью данной статьи является описание фармакокинетических и фармакодинамических взаимодействий, выявленных для новых ПЭП, зарегистрированных в РФ в 2013 г. — перампанел и зонисамид. Для этих 2 новых ПЭП будут описаны их фармакокинетические и фармакодинамические взаимодействия с другими одновременно применяемыми ПЭП.

Представленные в данной статье фармакокинетические взаимодействия описаны с точки зрения изменения клиренса, периода полувыведения и площади под кривой концентрация-время (AUC). Тем не менее, по мере возможности, взаимодействия также описаны с

точки зрения изменения концентрации ПЭП в плазме крови (также известной как концентрация в крови), т.е. изменения их концентраций являются отражением фармакокинетических характеристик препарата и профилей эффективности и безопасности.

В табл. 1 представлены сводные данные по фармакокинетическим взаимодействиям, которые могут возникнуть между новыми ПЭП (перампанел и зонисамид) и совместно назначаемыми ПЭП с точки зрения изменения концентрации в плазме крови, и является ли увеличение или снижение стойким и клинически значимым или, как правило, является нестойким, и не имеет большого клинического значения.

В табл. 2 приведён краткий обзор двух новых ПЭП (перампанел и зонисамид) с точки зрения их метаболизма, склонности к взаимодействию с другими ПЭП и количества возможных фармакокинетических и фармакодинамических взаимодействий.

1. Перампанел (Файкомпа) был зарегистрирован для клинического применения в России в 2013 году. Дженериков нет. В клинических условиях перампанел применяют в качестве вспомогательной терапии парциальных эпилептических приступов с вторичной генерализацией или без неё у пациентов старше 12 лет. Перампанел является селективным неконкурентным антагонистом α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA)-типа рецепторов глутамата и снижает возбудимость нейронов [6].

1.1. Фармакокинетические характеристики

Перампанел быстро всасывается после приёма внутрь ($T_{max} = 0,25-2,0$ ч) с биодоступностью около 100%. Его объём распределения составляет 1,1 л/кг и связывание с белками плазмы равно 95%. Перампанел подвергается значительному метаболизму (>98%) в печени, в первую очередь окислению, с последующим

Предполагаемые изменения концентрации в плазме, если противоэпилептический препарат (ПЭП) добавляется к уже существующему ПЭП режиму: взаимодействия с участием новых ПЭП

Таблица 1

Добавленный ПЭП	Ранее принимаемый ПЭП				
Перампанел	Карбамазепин ↓	Клобазам ↓	Ламотриджин ↓	Окскарбазепин ↓	Вальпроевая кислота ↓
Зонисамид	карбамазепин-10,11-эпоксид (активный метаболит карбамазепина) ↑	-	-	-	-

Примечания: ↓ — обычно небольшое (или нестабильное) снижение концентрации в плазме крови;
↑ — обычно небольшое (или нестабильное) повышение концентрации в плазме крови.

Метаболические характеристики противоэпилептических препаратов (ПЭП), их склонности к метаболическому взаимодействию, и количество фармакокинетических и фармакодинамических взаимодействий, отнесённых к каждому ПЭП до настоящего времени [16]

Таблица 2

ПЭП	Метаболизм (печёночный)	Способность к метаболическому взаимодействию с другими ПЭП		Число описанных взаимодействий (ПЭП с ПЭП)	
		Влияет на другие ПЭП	На него влияют другие ПЭП	Фармакокинетические взаимодействия	Фармакодинамические взаимодействия
Перампанел	Существенный (>98%)	Минимально	Умеренно	10	0
Зонисамид	Умеренный (65%)	Минимально	Минимально	4	0

глюкуронированием. Основными метаболитами являются гидроксилированный перампанел и различные глюкуронидные конъюгаты. Считается, что изофермент CYP3A4 несёт основную ответственность за гидроксилирование перампанела, хотя также может принимать участие CYP3A52. Приблизительно 2% от введённой дозы перампанела выводится с мочой в неизменённом виде. Значения периода полувыведения перампанела из плазмы крови у взрослых здоровых добровольцев составляют 52-129 часов (в среднем 105 часов) после однократной дозы и 66-90 часов после приёма многократных доз [19, 22].

1.2. Воздействие на изоферменты

В терапевтических концентрациях перампанел *in vitro* не оказывает тормозящего воздействия на активность основных CYP или UGT изоферментов, но обладает тормозящим воздействием на CYP2C8 и UGT1A9. Аналогичным образом, перампанел оказывает лишь слабое индуцирующее воздействие на активность CYP2B6 и CYP3A4/5, но не имеет какого-либо индуцирующего воздействия на другие основные CYP или UGT изоферменты [19].

1.3. Потенциал взаимодействия перампанела

Перампанел подвергается экстенсивному метаболизму путём окисления CYP3A4, изоферментом, который подвержен как тормозящим, так и индуцирующим воздействиям. Перампанел слабо влияет на активность некоторых CYP и UGT изоферментов. Таким образом, можно ожидать, что перампанел будет связан с различными фармакокинетическими взаимодействиями. На сегодняшний день были описаны, в общей сложности, 12 фармакокинетических взаимодействий с участием перампанела, но в данной статье будут описаны только те, которые связаны с сопутствующей ПЭП.

1.4. Фармакокинетические взаимодействия с участием перампанела и других ПЭП

1.4.1. Воздействие на перампанел

1.4.1.1. ПЭП, индуцирующие ферменты (карбамазепин, фенитоин). Как подчёркивается в различных кратких резюме отчётов, метаболизм перампанела индуцируется ПЭП, которые являются мощными индукторами CYP3A4 [4, 7, 12]. Сведения основаны на популяционных фармакокинетических данных, полученных из объединённого анализа результатов трёх плацебо-контролируемых исследований перампанела фазы III (до 12 мг/сутки) у 1491 пациентов с парциальными эпилептическими приступами; 770 пациентов были включены в популяционный фармакокинетический анализ. Было выявлено, что фенитоин может увеличить средний клиренс перампанела примерно в два раза, в результате чего средние значения AUC перампанела снижаются на 50%. Аналогично, карбамазепин может увеличить средний клиренс перампанела приблизительно в три раза и снизить средние значения C_{max} и AUC перампанела на 26 и 67%, соответственно; средние показатели периода полувыведения уменьшаются до 25 часов. Кроме того, в исследовании с участием здоровых добровольцев было

показано, что карбамазепин уменьшал концентрацию перампанела в плазме на две трети; другой информации предоставлено не было [19].

1.4.1.2. Окскарбазепин. Популяционные фармакокинетические данные, полученные из совокупного анализа трёх исследований перампанела фазы III (до 12 мг/сутки) и представленные в кратких резюме отчётов показывают, что окскарбазепин может увеличить средний клиренс перампанела примерно в два раза и уменьшить средние значения AUC перампанела на 50% [4, 7, 12, 19].

1.4.1.3. Топирамат. Такие же популяционные фармакокинетические данные показывают, что топирамат может увеличить средние значения клиренса препарата перампанел на 20% и уменьшить средние значения AUC перампанела на 20% [4, 7, 12, 19].

1.4.2. Воздействие перампанела

1.4.2.1. Карбамазепин. Согласно наблюдениям популяционного фармакокинетического анализа исследований фазы III перампанел может уменьшать средние концентрации карбамазепина в плазме на 10% [4, 7, 12, 19].

1.4.2.2. Клобазам. При совместном назначении перампанела у пациентов средние концентрации клобазам в плазме уменьшались на 10%. Эти данные получены из популяционного фармакокинетического анализа исследований фазы III [4, 7, 12, 19].

1.4.2.3. Ламотриджин. При совместном назначении перампанела у пациентов средние концентрации ламотриджина в плазме снижались на 10%. Эти данные получены из популяционного фармакокинетического анализа исследований фазы III [4, 7, 12, 19].

1.4.2.4. Мидазолам. У здоровых добровольцев было исследовано воздействие перампанела в дозе 6 мг один раз в сутки (на протяжении 20 дней) на фармакокинетику мидазолама; никакой другой информации не предоставлено [19]. Средние значения AUC мидазолама в плазме снижались на 13%.

1.4.2.5. Окскарбазепин. Согласно наблюдениям популяционного фармакокинетического анализа исследований фазы III перампанел может уменьшать средний клиренс окскарбазепина на 26% и увеличивать средние концентрации окскарбазепина в плазме на 35% [4, 7, 12, 19]. Однако, поскольку не был проведён анализ концентраций в плазме 10-гидроокскарбазепина, фармакологически активного метаболита окскарбазепина, потенциальное клиническое значение данного взаимодействия нуждается в дальнейшей оценке.

1.4.2.6. Вальпроевая кислота. Согласно наблюдениям популяционного фармакокинетического анализа исследований фазы III перампанел может уменьшать средние концентрации вальпроевой кислоты в плазме на 10% [4, 7, 12, 19].

1.5. Фармакодинамические взаимодействия перампанела

На сегодняшний день не были зарегистрированы клинически значимые фармакодинамические взаимодействия с участием перампанела.

2. Зонисамид

Зонисамид (Зонегран) был зарегистрирован для клинического применения в России в 2013 году. Дженераиков нет.

Зонисамид применяется в качестве монотерапии у взрослых пациентов с парциальными эпилептическими приступами с вторичной генерализацией или без неё, с впервые диагностированной эпилепсией, а также в составе дополнительной терапии у взрослых, подростков и детей с 6 лет с парциальными эпилептическими приступами с вторичной генерализацией или без неё.

Зонисамид действует путём блокирования потенциалзависимых натриевых каналов и удлинения времени инактивации канала [25].

2.1. Фармакокинетические характеристики

Зонисамид быстро всасывается после приёма внутрь, с биодоступностью, равной 90%, $T_{\max}$ = 2-5 дней. Его объём распределения у взрослых составляет 1,0-1,9 л/кг, а связывание с белками плазмы равно 40%. Зонисамид подвергается умеренному метаболизму в печени, в первую очередь, ацетилированию с образованием N-ацетил зонисамида (20%) и восстановлению с образованием 2-сульфамойл ацетилфенола (50%), причём последний впоследствии подвергается глюкуронированию. CYP3A4 отвечает за восстановление зонисамида до 2-сульфамойл ацетилфенола. Приблизительно 30% от введённой дозы зонисамида выводится с мочой в неизменённом виде. Значения периода полувыведения зонисамида из плазмы крови у взрослых составляют 50-70 часов [16].

2.2. Воздействие на изоферменты

Несмотря на то, что зонисамид *in vitro* не оказывает тормозящего воздействия на активность CYP1A2, CYP2D6 и CYP3A4, в терапевтических концентрациях он действительно тормозит активность CYP2C19, CYP2C9, CYP2A6 и CYP2E1 [16]. Какие-либо данные об индукционном потенциале зонисамида в отношении человеческих CYP или UGT изоферментов *in vitro* не были опубликованы.

2.3. Потенциал взаимодействия зонисамида

Зонисамид подвергается умеренному метаболизму посредством CYP3A4, изофермента, который подвержен как тормозящим, так и индуцирующим воздействиям. Кроме того, зонисамид ингибирует активность различных изоферментов CYP, и, поэтому можно ожидать, что он будет связан с различными фармакокинетическими взаимодействиями. На сегодняшний день с участием зонисамида были описаны, в общей сложности, пять фармакокинетических взаимодействий, но в данной статье будут описаны только те, которые связаны с сопутствующими ПЭП.

2.4. Фармакокинетические взаимодействия с участием зонисамида и других ПЭП

2.4.1 Воздействие на зонисамид

2.4.1.1 ПЭП, индуцирующие ферменты (карбамазепин, фенитоин, фенобарбитал). С помощью открытого исследования с участием 20 пациентов, применявших карбамазепин в виде монотерапии (200 — 2000 мг/сутки,

в два приёма), которым впоследствии в комбинации был назначен зонисамид (постепенное повышение дозы до 200 мг два раза в сутки в течение 34 дней) было установлено, что карбамазепин усиливает метаболизм зонисамида [23]. Средние значения периода полувыведения зонисамида из плазмы крови составили 36,3 часов по сравнению с 65 часами у не получавших лечение здоровых добровольцев [10]. Значения клиренса при одновременном приёме внутрь составили 0,98 и 0,7 л/ч, соответственно. В открытом исследовании с участием 16 пациентов с эпилепсией (9 мужчин, 7 женщин; в возрасте 29-59 лет) было показано, что фенитоин вызывает аналогичное повышение метаболизма зонисамида [13]. Пациенты принимали фенитоин в постоянной дозе на протяжении всего исследования (200 — 600 мг/сутки, в несколько приёмов), а доза зонисамида постепенно повышалась до 400 мг один раз в сутки в течение, по крайней мере, 14 дней. Средние значения клиренса зонисамида в плазме были равны 1,29 л/ч, в то время как значения периода полувыведения составили 28,3 часов, таким образом, показатели увеличивались и уменьшались, соответственно, по сравнению с исторически установленными значениями, полученными у здоровых добровольцев [13]. Оба этих взаимодействия являются следствием индукции метаболизма зонисамида с помощью CYP3A4 [13, 23]. Интересно, что в ранее проведённом открытом исследовании с участием 12 пациентов (9 мужчин, 3 женщины; в возрасте 18-41 лет) с эпилепсией, в котором зонисамид (однократная доза 400 мг) добавляли к монотерапии карбамазепином (n = 6; дозы не приведены) и схеме лечения фенитоином (n = 6; дозы не приведены), были зарегистрированы практически идентичные значения периодов полувыведения (36,5 часов для карбамазепина и 27,1 часов для фенитоина) [15].

Единственным отчётом о влиянии фенобарбитала на фармакокинетику зонисамида является сообщение в виде краткого резюме об исследовании у здоровых добровольцев (количество не представлено) [3]. Добровольцы получали фенобарбитал в постоянной дозе с последующей однократной дозой зонисамида; средние значения периода полувыведения зонисамида из плазмы уменьшались до 38 часов, в то время как одновременные значения клиренса при приёме внутрь увеличивались на 27% [3]. Взаимодействие считается следствием индукции метаболизма зонисамида цитохромом CYP3A4.

2.4.2. Воздействие зонисамида

2.4.2.1. Карбамазепин. Первоначальные сообщения о возможном влиянии зонисамида на фармакокинетику карбамазепина носили противоречивый характер. В открытом фармакокинетическом исследовании зонисамида у пяти мужчин и пяти женщин с эпилепсией было зарегистрировано устойчивое повышение средних концентраций карбамазепина в плазме после начала терапии зонисамидом (3,44-20,0 мг/кг/сутки) [24], в то время как Browne *et al.* [2] в сообщении в виде краткого резюме описал, что применение зонисамида не оказывало значимого воздействия на концентрации карбамазепина в

плазме. Последующее открытое исследование с дополнительной терапией, посредством которого было изучено влияние зонисамида на фармакокинетику карбамазепина у 16 детей (5 мальчиков и 11 девочек; в возрасте $14,0 \pm 6,7$ лет) доказало, что средняя концентрация карбамазепина в плазме по отношению к дозе снижалась на 19-23%, а средняя концентрация карбамазепин-эпоксида по отношению к концентрации карбамазепина снижалась на 21-92% [14]. Авторы пришли к заключению, что зонисамид индуцирует метаболизм карбамазепина, таким образом, что достигается повышение концентраций карбамазепин-эпоксида в плазме. В дальнейшем *Ragueneau-Majlessi et al.* [23] описали открытое исследование с участием 19 пациентов (12 мужчин, 7 женщин; в возрасте 18-55 лет) при монотерапии карбамазепином в постоянной дозе (200 — 2000 мг/сутки, в два приёма), которым затем в комбинации был назначен зонисамид (постепенное повышение до 200 мг два раза в сутки в течение 34 дней) [23]. В то время как концентрации карбамазепина в плазме оставались без изменений, средние значения C_{max} и AUC карбамазепин-эпоксида в плазме увеличивались на 38 и 17%, соответственно. Авторы пришли к заключению, что взаимодействие является следствием уменьшения почечного клиренса карбамазепин-эпоксида [23].

2.5. Фармакодинамические взаимодействия зонисамида

На сегодняшний день не были зарегистрированы клинически значимые фармакодинамические взаимодействия с участием зонисамида.

Обсуждение и заключение

Клинически значимое фармакокинетические взаимодействие может быть определено как взаимодействие, которое, в силу своего механизма и масштаба будет происходить у большинства пациентов, и потребует корректировки дозы, чтобы избежать неблагоприятного исхода (например, эпилептических приступов на фоне применения противосудорожных средств или усиления неблагоприятных явлений). Однако также необходимо принимать во внимание отдельного пациента; таким образом, например, взаимодействия, которые приводят к существенному увеличению концентрации ПЭП в плазме крови пациента с низкой или терапевтически неэффективной концентрацией могут оказаться желательными, поскольку могут обеспечить улучшение контроля эпилептических приступов. В отличие от этого, небольшое повышение концентрации в плазме крови пациента с концентрацией, близкой к верхней границе терапевтического диапазона, и близкой к концентрации, которая может вызвать неврологическую токсичность, было бы очень нежелательным. Кроме того, хорошо известным является то, что, в то время как большинство пациентов нечувствительны к умеренным изменениям в дозах ПЭП и, следовательно, концентрации в плазме, у небольшого числа пациентов даже изменения порядка 5-10% могут привести к нежелательным клиническим

последствиям. В настоящее время обычной практикой является оценка формальных исследований фармакокинетического взаимодействия с использованием критериев биоэквивалентности, и нередко можно увидеть фармакокинетическую изменчивость в 5-20%, которая затем интерпретируется авторами исследований неправильно и без опоры на научно обоснованные данные, как «не предполагается значимого фармакокинетического взаимодействия», «не имели значимого эффекта», «изменения не представляются клинически значимыми» и «не требуется корректировки дозы». Поэтому данные показатели исследований, в которых фармакокинетическая изменчивость составляет величину порядка 5-20%, были включены в данную статью, т.к. для некоторых пациентов такие изменения будут иметь клиническое значение.

Идеальными и самыми надёжными данными в отношении определения риска взаимодействия ПЭП и выявления клинически важных взаимодействий являются данные проспективных, рандомизированных, двойных слепых клинических исследований с использованием клинических конечных точек. При этом, конечными точками служат усиление или ослабление контроля над эпилептическими приступами, или усиление нежелательных явлений. Но этот подход является сложным и очень редко применяется. Вместо этого, в последние годы при формальном исследовании взаимодействий ПЭП у пациентов или у здоровых добровольцев были использованы руководства по биоэквивалентности, с тем, чтобы определить, действительно ли фармакокинетическое изменение следует считать клинически значимым. Биоэквивалентность представляет собой взаимозаменяемость двух препаратов и требует, чтобы два препарата не отличались по средним значениям AUC и C_{max} более чем в 0,8-1,25 раза. Поэтому, ПЭП взаимодействия рассматриваются в качестве проблемы эквивалентности, и при выполнении стандартных критериев биоэквивалентности, взаимодействие обычно указывается как не имеющее клинического значения. Однако такая интерпретация может быть оправдана только в том случае, если наблюдаемые фармакокинетические изменения были рассмотрены в совокупности с одновременными фармакодинамическими данными и данными эффективности. Например, изменение концентрации в плазме крови на 5% может привести к изменениям эффективности на 20%, в отличие от этого, изменение концентрации в плазме на 20% может привести к изменениям эффективности только на 5%. В настоящее время у нас отсутствуют данные, чтобы различать эти два гипотетических, но возможных, сценария взаимодействия ПЭП.

По сравнению с ПЭП первого поколения (карбамазепин, фенитоин, фенobarбитал и вальпроат), новые ПЭП (перампанел и зонисамид) связаны с меньшим количеством фармакокинетических и фармакодинамических взаимодействий [16]. Причина заключается в том, что эти новые ПЭП только сравнительно недавно были зарегистрированы и не имели достаточного или широкого применения в повседневной клинической практике. Тем не

менее, наиболее значимым фактором является тот факт, что эти новые ПЭП в целом характеризуются ограниченной способностью принимать участие в фармакокинетических взаимодействиях. Это подтверждено документально и может быть связано с тем, что многие из них имеют более благоприятные фармакокинетические характеристики:

- выделяются почками (например, зонисамид);
- подвергаются минимальному/умеренному метаболизму с участием независимых от CYP и UGT систем изоферментов;
- не влияют или умеренно индуцируют/тормозят печёночный метаболизм (например, зонисамид);
- и, таким образом, не вызывают лекарственных взаимодействий.

Следует помнить, что не все взаимодействия эквивалентны в отношении их клинической значимости и влияния. Кроме того, некоторые взаимодействия глубоко изучены с помощью специально спланированных исследований взаимодействий препаратов, в то время как другие взаимодействия объясняются только одним сообщением о клиническом случае и окончательно ещё не доказаны.

Фармакодинамические взаимодействия ПЭП, несмотря на их значение, не очень хорошо описаны в литературе, прежде всего потому, что их трудно идентифицировать и, как правило, по умолчанию, делается заключение. Поэтому, при политерапии, если меняется самочувствие пациентов, а эти изменения не могут быть отнесены к изменению концентрации препарата в крови, и, следовательно, фармакокинетическому взаимодействию, то можно сделать вывод о том, что изменение является результатом фармакодинамического взаимодействия.

Сейчас в разработке находятся многочисленные потенциальные ПЭП [1] и, согласно имеющимся данным, продолжается общая тенденция разработки новых ПЭП, связанная с уменьшением предрасположенности к их фармакокинетическим взаимодействиям. Это желательно и можно только приветствовать, поскольку такие взаимодействия представляют собой проблему как для лечащего врача, так и для пациента, поскольку часто требуется сложная корректировка доз препаратов. Не вступающие во взаимодействия ПЭП являются «идеальными» препаратами, поскольку не нужно беспокоиться, какие дополнительные ПЭП будут назначены пациенту в течение месяца, года или на протяжении многих лет.

Литература

1. Bialer M., Johannessen S.I., Levy R.H., Perucca E., Tomson T., White H.S. Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Eleventh Eilat conference (EILAT XI). *Epilepsy Res.* 2013;103:2–30.
2. Browne T.R., Szabo G.K., Kres J., Pyllilo R.J. Drug interaction of zonisamide (CI-912) with phenytoin and carbamazepine. *J Clin Pharmacol.* 1986;26:555.
3. Buchanan R.A., Page J.G., French J., Leppik I.E., Padgett C.S. Zonisamide drug interactions. *Epilepsia.* 1997;38(Suppl. 8):107.
4. Fuseau E., Templeton D., Hussein Z. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of perampanel in patients with refractory partial seizures. *Epilepsy Curr.* 2011;11(Suppl 1):Abs 1.264.
5. Hachad H., Ragueneau-Majlessi I., Levy R.H. New antiepileptic drugs: review on drug interactions. *Ther Drug Monit.* 2002;24:91–103.
6. Hanada T., Hashizume Y., Tokuhara N., Takenaka O., Kohmura N., Ogasawara A., et al. Perampanel: a novel, orally active, noncompetitive AMPA-receptor antagonist that reduces seizure activity in rodent models of epilepsy. *Epilepsia.* 2011;52: 1331–40.
7. Hussein Z., Critchley D., Ferry J., Laurenza A. Population pharmacokinetics of perampanel, a selective, non-competitive AMPA receptor antagonist, in patients with refractory partial onset seizures participating in a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Epilepsia.* 2011;52(Suppl 6):248–9.
8. Johannessen L.C., Patsalos P.N. Drug interactions involving the new second- and third-generation antiepileptic drugs. *Expert Rev Neurother.* 2010;10:119–40.
9. Johannessen L.C., Patsalos P.N. Methodologies used to identify and characterize interactions among antiepileptic drugs. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2012;5:281–92.
10. Kochak G.M., Page J.G., Buchanan R.A., Peters R., Padgett C.S. Steady-state pharmacokinetics of zonisamide, an antiepileptic agent for treatment of refractory complex partial seizures. *J Clin Pharmacol.* 1998;38:166–71.
11. Kwan P., Brodie M.J. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med.* 2000;342:314–9.
12. Laurenza A., Ferry J., Hussein Z. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of perampanel: a pooled analysis from three phase III trials. *Epilepsy Curr.* 2012;12(Suppl 1):216–7.
13. Levy R.H., Ragueneau-Majlessi I., Garnett W.R., Schmerler M., Rosenfeld W., Shah J., et al. Lack of a clinically significant effect of zonisamide on phenytoin steady-state pharmacokinetics in patients with epilepsy. *J Clin Pharmacol.* 2004;44:1230–4.
14. Minami T., Ieiri I., Ohtsubo K., Hirakawa Y., Ueda K., Higuchi S., et al. Influence of additional therapy with zonisamide (Excegran) on protein binding and metabolism of carbamazepine. *Epilepsia.* 1994;35:1023–5.
15. Ojemann L.M., Shastri R.A., Wilensky A.J., Friel P.N., Levy R.H., McLean J.R., et al. Comparative pharmacokinetics of zonisamide (CI-912) in epileptic patients on carbamazepine or phenytoin monotherapy. *Ther Drug Monit.* 1986;8:293–6.
16. Patsalos P.N. Antiepileptic drug interactions – a clinical guide. Berlin: Springer; 2013.
17. Patsalos P.N., Froscher W., Pisani F., van Rijn C.M. The importance of drug interactions in epilepsy therapy. *Epilepsia.* 2002;43:365–85.
18. Patsalos P.N., Perucca E. Clinically important drug interactions in epilepsy: interactions between antiepileptic drugs and other drugs. *Lancet Neurol.* 2003;2:473–81.
19. Perampanel (Fycompa). Summary of product characteristics. 2012. Eisai Europe Ltd.
20. Perucca E. Clinically relevant drug interactions with antiepileptic drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;61:246–55.
21. Perucca E. Pharmacological advantages of antiepileptic drug monotherapy. *Epilepsia.* 1997;38(Suppl 5):S6–8.
22. Plosker G.L. Perampanel: as adjunctive therapy in patients with partial-onset seizures. *CNS Drugs.* 2012;26:1085–96.
23. Ragueneau-Majlessi I., Levy R.H., Bergen D., Garnett W., Rosenfeld W., Mather G., et al. Carbamazepine pharmacokinetics are not affected by zonisamide: in vitro mechanistic study and in vivo clinical study in epileptic patients. *Epilepsy Res.* 2004;62:1–11.
24. Sackellares J.C., Donofrio P.D., Wagner J.G., Abou-Khalil B., Berent S., Aasved-Hoyt K. Pilot study of zonisamide (1,2-benzisoxazole-3-methanesulfonamide) in patients with refractory partial seizures. *Epilepsia.* 1985;26:206–11.
25. Schauf C.L. Zonisamide enhances slow sodium inactivation in Myxicola. *Brain Res.* 1987;413:185–8.

Фитофармакология: у истоков фармации и клинической фармакологии

Сычёв Д.А.¹, Герасимова К.В.², Белоусов Д.Ю.³

¹ — Кафедра клинической фармакологии и терапии Российской медицинской академии последипломного образования, г. Москва

² — Кафедра общественного здравоохранения и профилактической медицины Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, г. Москва

³ — ООО «Маркет Аксесс Солюшенс», г. Москва; market-access-solutions.ru

Резюме. Статья посвящена историческому обзору развития фармакологии и фармации растительных лекарственных препаратов с древних времён.

Ключевые слова: история, растительные лекарственные препараты, фармация, клиническая фармакология.

Phytopharmacology: at the origins of pharmacy and clinical pharmacology

Sychev D.A.¹, Gerasimov K.V.², Belousov D.U.³

¹ — Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

² — Department of Public Health and Preventive Medicine of the First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow

³ — LLC «Market Access Solutions», Moscow; market-access-solutions.ru

Summary. Article is devoted to historical review of pharmacology and pharmacy herbal medicines since ancient times.

Keywords: history, herbal products, pharmacy, clinical pharmacology.

Автор, ответственный за переписку:

Сычёв Дмитрий Алексеевич — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии РМАПО; тел. +7 (495) 915-30-04; e-mail: dimasychev@mail.ru

Первые шаги врачевания были сделаны с возникновением речи, умением сберечь огонь, созданием первых орудий труда, использованием навыков охоты, земледелия, скотоводства. Однако это была эмпирическая медицина, в основе которой лежал эмпиризм, интуиция, инстинкт, наблюдения. Вероятно, первыми целебными средствами были болеутоляющие и ранозаживляющие растения.

Человек всегда использовал различные средства, для лечения заболеваний. Ничего удивительного, что лекарственные средства включали растения, а также другие «продукты» природного происхождения, например, мёд (с древних времён применялся местно, в качестве ранозаживляющего средства).

Археологические и палеопатологические исследования в пещере Шанидар (на территории Северного Ирака) представили первые достоверные сведения о целенаправленном использовании первобытным человеком лекарственных растений. В пещере было обнаружено девять скелетов тяжело больных древних людей, захороненных в период от 70 до 44 тыс. лет тому назад. Анализ многочисленных проб почвы из захоронения мужчины Шанидар-IV показал, что он был погребён на ложе из веток деревьев и лекарствен-



Пещера Шанидар. Цветочный человек

ных растений восьми видов: тысячелистник (*Achillea*), золототысячник (*Centaureum*), крестовник (*Senecio*), эфедра (*Ephedra*), алтей (*Althaea*) из семейства мальво-

вых (Malvaceae), растение рода *Muscary* из семейства лилейных (Liliaceae) и других. Растения были связаны в букетики и разложены на уровне торса и у основания стоп. Открытие «цветочных людей» (как назвал их Р.С. Солецки) было сделано в 1960 г. Это первое и пока единственное достоверное свидетельство использования лекарственных растений древними гоминидами неандертальского вида.

При археологических раскопках одного из древнейших шумерских городов — Ниппура (в 160 км от современного Багдада, Ирак) в 1889 г. была найдена клинописная табличка, содержащая 15 рецептов. Её текст записан на шумерском языке в конце III тысячелетия до н.э. Таким образом, это древнейший из дошедших до нас текстов медицинского содержания, и одновременно древнейшая «фармакопея» в истории человечества, содержащий перечень лекарственных средств, сведения об их приготовлении и применении. Анализ текста этой таблички показал, что врачеватели Шумера использовали в своей практике лекарственные средства прежде всего растительного происхождения: горчицу, пихту, сосну, тимьян, плоды сливового дерева, груши, фиго, иву, растение леканору («манна») и т.д.

Шумерский врачеватель, составивший табличку из Ниппура, в своей практике исходил из эмпирического опыта — в ней нет ни единого слова о богах или демонах; она не содержит заклинаний или заговоров, которые встречаются в медицинских текстах древней Месопотамии более позднего периода. Табличка имела практическое применение при составлении лекарственных средств. Текст её предельно лаконичен.

Например, Рецепт 12. Просеять и тщательно перемешать растолчённый панцирь черепахи, побег растения нага (из него добывают соду), соль [и] горчицу; омыть [больное место] крепким пивом [и] горячей водой; растереть [больное место] этим [приготовленным составом], после чего натереть растительным маслом [и] обложить растёртыми в порошок иглами пихты.

К сожалению, табличка не содержит указаний, при каких недугах эти лекарства должны были применяться. Сведущий врачеватель, по всей вероятности, знал это, тем более что в тот период истории Месопотамии значительный объём знаний продолжал передаваться устно; записывались лишь конкретные, точные сведения, возрастающий объём которых человеческая память уже не могла удержать.

В Древней Месопотамии в Куюнджике (близ Мосула) были найдены тысячи обожжённых глиняных табличек с текстами, из которых около 2-х тысяч медицинского содержания. Они обнаружены при раскопках дворца ассирийского правителя Ашшурбанапала (668-662 гг. до н.э.). Врачевание было направлено на облегчение конкретных проявлений болезни. Цели его лечения были вполне реальными: «остановить лихорадку и жар», «отвести отёки», «заставить болезнь уйти», «успокоить выступающие сосуды рук и ног» и т.п. Врачеватель (асу) был большим знатоком местной

лекарственной флоры. Он использовал лечебные травы (горчица, тмин), корни, семена (в частности, около 50 видов зёрен), овощи (лук, чеснок, салат-латук, горох, огурцы), листья и плоды деревьев (финики), кедровый бальзам, минеральные средства (квасцы, красный железняк, сера, соли), продукты животного происхождения (например, мёд, воск) и прочее. Названия многих лекарственных средств в клинописных текстах выражены непонятными нам знаками. Возможно, они зашифрованы. Вот почему большинство из них невозможно отождествить с известными сегодня. Врачеватели сами собирали лекарственные средства, составляли и хранили их, сами варили их на меду, пиве, уксусе, воде или твёрдом жире. В состав каждого готового лекарства входило несколько компонентов (иногда более 20). Готовые средства при перевязках наносили на полоски из кожи и ткани, втирали с маслом в процессе массажа, использовали при полосканиях и обмываниях, вводили с клизмами, применяли в виде мазей, порошков, пилюль, свечей и тампонов.

Самую обширную информацию о внутренних болезнях и лекарственном врачевании в древнем Египте содержит большой медицинский папирус Г. Эберса (XVI в. до н.э.), обнаруженный в 1872 г. в Фивах и названный по имени изучавшего его учёного. Склеенный из 108 листов, он достигает в длину 20,5 м и вполне оправдывает своё название «Книга приготовления лекарств для всех частей тела». Папирус содержит около 900 прописей лекарств для лечения органов пищеварения, дыхательных путей, уха, горла и носа, ожогов и кровотечений, глазных болезней, кожных, паразитарных и многих других заболеваний. При составлении лекарств широко использовались растения (лук, мак, финики, лотос, гранат, алоэ, виноград, папирус). Некоторые прописи были чрезвычайно сложными и включали до 37 составляющих. Основой для приготовления лекарств были молоко, мёд, пиво. Многие компоненты лекарственных средств до сих пор не идентифицированы, что значительно затрудняет их изучение.

В Древнем Иране в «Каноне Авесты» впервые упоминается об аптечных садах, где разводились ароматические растения (например, базилик). Аптеки существовали и при дворе вельмож. Врачи жреческого сословия имели собственные кладовые, откуда лекарства выдавались больным специальными хранителями по «рецептам» владельцев-врачей.

В Древнем Китае была создана древнейшая из дошедших до нас медицинская книга — трактат «Хуанди Нэй цзин» («Канон врачевания Жёлтого Предка»), который кратко именуют «Нэй цзин» («Канон врачевания»). Составлен он в III в. до н.э. в русле традиции в форме диалога между врачевателем и легендарным предком китайского народа — Хуанди, которому традиция приписывает авторство этого трактата. Однако, по мнению исследователей, «Нэй цзин» является результатом коллективного труда многих авторов различных эпох. «Нэй цзин» состоит из 18 книг. Девять



Китайская книга

первых («Су вэнь») посвящены строению и жизнедеятельности организма, распознаванию и лечению болезней. В девяти последних томах («Лин шу») описывается древний метод чжэнь-цзю. В данном каноне приводятся названия 900 лекарственных растений, их ботаническое описание, географическое распространение, время сбора, фармакологическое действие и способ применения. Лекарственное врачевание в Древнем Китае достигло высокого совершенства. Из народной китайской медицины вошли в мировую практику: женьшень, лимонник, камфора, чай, ревень, смола.

Известны более 50 книг о лекарственных средствах Древнего Китая. Среди них «Трактат о корнях и травах», где описано более 360 лекарственных средств. В 502 г. н.э. была создана первая из известных в мире китайская фармакопея, в семи книгах которой дано описание 730 видов лекарственных растений. В 652 г. издана книга Сун Су-Миао «Тысяча золотых лекарств», а в 659 г. н.э. — «Танская Фармакопея» — первая официальная государственная фармакопея Китая в 53 томах, в которой даётся описание 840 лекарств. Большое внимание в ней уделялось женьшеню, корень которого начал применяться не позже V-VI веков до н.э. Морскими водорослями лечили зоб, тунгровым маслом — кожные заболевания, орехи бетеля использовали как противоглистное средство, цветы камелии как противоожоговое, цветки персиков как мочегонное. Эпоха Тан (618-907 гг. н.э.) считается периодом наивысшего могущества Китая, когда страна опережала все остальные государства, в том числе и в развитие науки. С повсеместным распространением квалифицированной медицинской помощи возрос спрос на лекарственные средства. Сбор дикорастущих трав больше не мог удовлетворить потребности населения, поэтому на государственном уровне было принято решение о создании ботанических садов целебных растений.

В это же время в Древней Индии издаются книги «Аюрведы» («Наука о жизни»), авторы которой Атрайя, Сушрута, Чарака и другие, и законы Ману (1000-500 лет до н.э.). В книге Сушрута-самхита описано более 760, а в книге «Чарака-самхита» — около 500 лекарственных растений. Чарака вошёл в историю медицины не только как один из древнейших врачей, но и как один из первых в истории фармацевтов. По фармакологическому действию лекарства делились на возбуждающие, извергающие, охлаждающие и особенно противоядия (в частности от укусов змей). Врач обязан был хорошо знать фармакологию того времени, ибо по словам Сушруты, только «в руках невежды лекарство — яд, и по своему действию может быть сравнимо с ножом или огнём, в руках же людей сведущих оно уподобляется напитку бессмертия». В Древней Индии впервые были применены и такие методы лечения ран как пропитанные маслами повязки, заливание ран кипящими отварами лекарственных растений.

По фармакологическому действию довольно большую долю составляли «опорожняющие» лекарства: слабительные, рвотные, потогонные, отхаркивающие и другие. В ходу были сигнатуры («утром», «вечером» и другие), лекарственные формы (мази, примочки, порошки и другие). В городах Древнего Египта (Сане, Мемфисе и других) при храмах обучали врачебному искусству. Многим растениям жрецы давали имена богов (Адонис и другие) с целью психологического воздействия на больных.

В Древней Греции и Древнем Риме храмовая медицина процветала в асклепееонах (в честь бога Асклепия, получившего славу великого врача), имелись общинные больницы, в которых выделялись помещения для хранения лекарств (греч. *apotheke* от *theke* — ящик), и школы для подготовки лекарьствоведов. Как и в других странах, врачебными и фармацевтическими знаниями обладал один человек, который сам лечил и готовил лекарства (Гиппократ — 460-377 гг. до н.э.). В «Гиппократовском сборнике» указано более 250 лекарств растительного происхождения.



Аюрведа

Растирание растений до мелкодисперсного состояния было одним из самых древних фармацевтических действий. Во-первых, так можно было добиться практически полного перемешивания компонентов, во-вторых, порошком удобно посыпать раны и изъязвления. А вот проглотить его было проблематично. Поэтому лекари нашли выход: действующее начало перемешивалось с растительными маслами или смолами, добавлялись пряности или ароматизирующие травы, всё это скатывалось в небольшие шарики и выдавалось пациенту. Технология очень быстро распространилась по всему Древнему миру, свидетельства о такой лекарственной форме есть и в египетских папирусах, и в греческих источниках.

Римляне совершили в фармакологии небольшую революцию придумав лекарственные формы. Во-первых, Гай Плиний Секунд, более известный как Плиний Старший, автор «Естественной истории» (23-79 н.э.), предложил название для этой лекарственной формы — *pilula*. Во-вторых, они пошли дальше и придумали то, что по нашим представлениям вполне можно назвать таблетками. Суть проста: в камне выдалбливались длинные глубокие пазы. В них заливалась смесь необходимых по рецепту ингредиентов трав и минералов и загустителя. После того как масса застывала, её доставали из камня и нарезали на небольшие диски — подобно тому, как мы сейчас режем колбасу. Самый ранний «провизорский камень» датируется 500 годом до нашей эры.

Технология казалась прогрессивной, но, по мнению многих исследователей — историков медицины и фармакологии, у неё был один очень существенный недостаток: такие таблетки оказались малоэффективными в терапевтическом плане, в желудочно-кишечном тракте действующие вещества из них практически не выделялись, проходя насквозь в неизменённом виде. Так что до Средневековья дожили лишь пилюли. Переизобретение таблеток произошло в 1843 году, когда британец Уильям Брокдон предложил набивать металлическую трубку необходимыми порошками, а затем прессовать массу ударами молотка. Именно с этой даты и отсчитывается современная история таблеток.

Впрочем, древняя история твёрдых лекарственных форм ещё полна сюрпризов. Возмутителем спокойствия стало небольшое древнегреческое торговое судно, случайно обнаруженное в 1974 году на глубине 18 метров в Тирренском море, недалеко от этрусского города Популония (ныне Пьомбино, Италия). Корабль, затонувший примерно в 130 году до нашей эры, перевозил лекарства и сирийскую стеклянную посуду. Уди-

вительно, но большая часть препаратов не пострадала от морской воды. Благодаря современным технологиям удалось провести полное исследование медицинского груза.

Интересно, что у античных пилюль практически не было торговых наименований, а у таблеток-дисков — были. Так, смесь белой глины с козьей кровью называлась *Terra Sigillata*, среди показаний для применений этого лекарства значились «кровавый понос» (дизентерия), гонорея и язвы.

Анализ древнегреческих таблеток показал, что каждая из них приготовлена из смеси более чем 10 различных растительных экстрактов, от гибискуса до сельдерея. Впервые удалось увидеть то, о чём раньше учёные только читали в дошедших до нас записях Diosкорида и Галена. При этом все обнаруженные лекарства были не пилюлями, а таблетками, именно поэтому, считают специалисты, им и удалось так хорошо сохраниться.

До настоящего времени многие учёные считали лекарства, описанные Diosкоридом и Галеном, примером шарлатанства, объясняя их действие примесью опиума. Теперь же исследователи планируют оценить реальную медицинскую эффективность экстрактов, обнаруженных в древних препаратах. Специалисты не оставляют надежды найти описанный Галеном легендарный териан (*therian*) — препарат, содержащий более 80 различных растительных экстрактов, и уточнить дозировки, используемые древними греками. Возможно, это откроет новые пути и для современных фармакологических исследований.

При сравнении ДНК найденных лекарств с генетической базой данных Национальных институтов здравоохранения США выяснилось, что в состав древних препаратов входили морковь, редька, сельдерея, дикий лук, дуб, капуста, люцерна, тысячелистник и другие травы. Экстракт гибискуса, видимо, импортировался греками из Восточной Азии, Индии или Эфиопии.

Некоторые классические описания лекарственных растений, представлены в трудах Теофраста (380-287 н.э.), Плиния (23-79 н.э.) и Галена (около 130-201 н.э.). Теофраст, ученик Аристотеля, унаследовавший его труды, описал около 500 растений и оказал огромное влияние на последующее развитие медицины.

Одним из самых интересных наблюдений Плиния, демонстрировавшие сильные и слабые стороны лечения растительными препаратами, касается растения, которое он называл эфедрон или анабазис, которое сейчас известно под названием Эфедра из рода голосеменных. Как известно, действующим началом Эфедры, является эфедрин, который выступает в



Гай Плиний Секунд

роли симпатомиметика, способствуя высвобождению норадреналина из симпатических окончаний. Плиний дал подробное описание фармакологических эффектов эфедрина. Однако проблема заключалась в том, что Плиний, а также многие до него, изучавшие травы, путали Эфедру с очень похожим, но относящимся к другому роду растением Хвощом (конских хвост). Путаница с этими двумя растениями продолжалась довольно длительное время. Препараты Эфедры стали особенно популярны в США в 1990-х годах. Они использовались, как «тонирующие» препараты, как средства для снижения массы тела, улучшения «сексуальных» функций. Алкалоиды Эфедры, и, в частности, эфедрин, могут вызывать опасные для жизни неблагоприятные побочные реакции, такие как нарушения ритма сердца, лекарственная зависимость. FDA обнародовала около 800 нежелательных побочных реакций Эфедры и, зарегистрировала 18 смертельных исходов в результате использования этих препаратов. В настоящее время, препараты Эфедры запрещены для использования во многих странах мира, а применение препаратов, содержащих эфедрин резко ограничено. Препараты Эфедры и эфедрин находятся в списке Всемирной антидопинговой ассоциации (WADA) в качестве допингов, запрещённых для применения в спорте.

Считается, что первое объективное описание препаратов растительного происхождения было сделано в трактате «De Materia Medica», написанном Диоскоридом в 50-70 г. н.э. Диоскорид был греческим хирургом, который описал порядка 600 лекарственных растений. На протяжении 1700 лет это был самый уважаемый труд о лекарственных растениях. Многие из европейских врачей-травников XVI и XVII веков переписывали Диоскорида без ссылки на первоисточник. До появления современных методов лечения, использование лекарственных растений оставалось основным методом

лечения в Европе. В то время господствовала так называемая «Доктрина Подписи», или вера в то, что для лечения каждой болезни существует растение, которое излечивает эту болезнь. При этом выбор растения для лечения, осуществлялся по принципу внешнего сходства растения или условий его произрастания и симптомов болезни. Так, зверобой имеет полупрозрачные перфорации, или «раны», на листьях, окрашенных красноватым пигментом (гиперечином), поэтому он может использоваться для лечения ран. Ива (*Salix*) растёт в сырых местах и поэтому может быть эффектив-



«De Materia Medica»



Эфедра



Мандагора

ной при ревматизме. Корни женьшеня *Panax* (от греческого — для лечения всех) или мандрагора (*Mandragora officinarum*) могли использоваться для лечения любых недугов. При этом, в некоторых случаях, такой принцип, случайно мог способствовать рациональному применению растений, например, в случае с ивой (в ней содержатся салицилаты, обладающие анальгетическим, антипиретическим и противовоспалительными эффектами). Как известно, именно салицилаты стали уже в XX веке родоначальниками группы так называемых нестероидных противовоспалительных препаратов. А производное салициловой кислоты, ацетилсалициловая кислота, в настоящее время остаётся наиболее важным антиагрегантным препаратом для профилактики сердечно-сосудистых осложнений. Кроме того, сегодня у ацетилсалициловой кислоты выявлена способность предотвращать развитие колоректального рака у больных с предраковыми заболеваниями (полипы и т.д.).

Принцип подобия был взят на вооружение основателем целого абсолютно нового направления медицины гомеопатии Ганеманом в конце XVIII-го, начале XIX-го века. Следует отметить, что гомеопатия в настоящее время стала одним из важных элементов так называемой комплементарной медицины, т.е. используется как дополнительно лечение к современным, общепринятым «аллопатическим» лекарствам.

В период раннего и развитого средневековья высокие показатели достигла фармация в Арабских халифатах. Уже к XIV-XV веков у арабов использовалось более 2600 лекарственных средств, из которых 1400 было растительного происхождения. Очень важно, что арабские учёные впервые начали испытывать фармакологическое действие лекарств на животных. Первой величиной среди арабских учёных был Ибн-Сина (Авиценна) (980-1037 гг. н.э.).

Медицина доколумбовой Америки (средневековых цивилизаций Мезоамерики и империи майя, ацтеков, инков) располагала богатейшим арсеналом лекарственных средств растительного происхождения, большинство из которых не было известно в Восточном полушарии. По мнению некоторых учёных, ацтекские врачи знали около 3000 лекарственных растений. Созданные ими сады лекарственных растений поразили испанских конкистадоров (Западная Европа того времени ещё не знала аптекарских садов и огородов). В «Кодексе Борджиа» («Codex Borgia») в специальных разделах

о травах описано 251 лечебное растение и приведено 185 цветных рисунков. В «Истории государства инков», написанной инком Гарсиласо де ла Вега, есть строки, посвящённые достижениям традиционной перуанской медицины, среди которых есть описание о действенном эффекте травы *matecllu* (*Hidrocotyle alcherrailloides*), приложение которой излечивало острые воспалительные заболевания глаз и в течение двух суток растворяло бельмо. При появлении первых признаков родов роженицу мыли в бане, давали ей лекарство *саса-уактли* для предотвращения разрывов и поили соками, настоями и отварами растений, которые способствовали обезболиванию и стимуляции родов. Для стимуляции выделения молока применяли специальные медицинские растения. Также существовали средства контрацепции и регуляции беременности. Так, если женщина современного индейского племени Бразилии решает воздержаться от деторождения, она выпивает настойку из известной ей местной травы, после чего перестаёт рожать; может пройти несколько лет, и, если она вновь захочет родить ребёнка, она отыскивает другую траву, которая снимает эффект первой. Тайна об этих травах строго сохраняется внутри племени и передаётся в устной традиции из поколения в поколение. Обезболивание при операциях, как полагают, было общим и достигалось применением настоя трав, обладающих наркотическим эффектом, соков кактусов и других растений; их соки и настои действовали в течение нескольких суток (что поразило испанских конкистадоров XVI в., прибывших из Европы, ещё не знакомой с обезболиванием). Среди других лекарственных трав встречаются *ипекакуана* (*Cephaelis ipecacuanha*) и *наперстянка*, кора хинного дерева, гуаякового дерева (*Guaiac*

lignum), наркотические средства, перуанский бальзам, листья коки, табак и многие другие лекарства. Сегодня многие из них изучены и введены в мировую медицинскую практику. Однако большинство из них остаются неизвестными современной науке.

Эпоха Возрождения принесла в Европу множество новых растений с других континентов. Эти растения обладали терапевтическим эффектом: от ревеня из Азии до табака и коки из Америки. В XVI-XVII веках в Европе появилось множество растений из Америки. Американская флора имела большое значение для лечения многих заболеваний. Препараты гуаякового дерева было показано при сифилисе, хинин при ма-



Ипекакуана

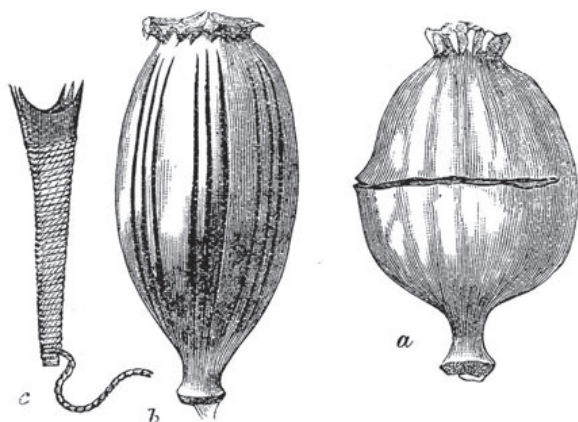


FIG. 2.—Opium Poppy Capsules, &c., $\frac{3}{4}$ natural size. a, capsule showing mode of incision practised in Turkey; b, capsule as incised in India; c, nushtur, or instrument used in India for making the incisions. Drawn from specimens in the Museum of the Pharmaceutical Society of Great Britain.

Опий

лярии, ипекакуана как отхаркивающее. Многие ботаники были вовлечены в расширение европейских знаний об экзотических растениях. Немецкий ботаник и врач, Леонард Раунвульф (родился 1535-1540; умер 1596 г.) путешествовал в течение трёх лет по среднему востоку. Он первый осуществил ботанические описания около 364 видов растений на обширной территории. Эту область не описывали ещё 200 лет. Одним из импульсов к путешествию являлось желание увидеть красивые растения, описываемые в древности именно в тех местах, где они росли. Так он писал по поводу опия: «Существует так же небольшое количество сока, называемое опий который Турки, Мавры, Персы и другие нации используют не только во время войн, чтобы сделать воинов храбрыми перед битвой, но и в мирное время, чтобы убрать меланхолию и печаль или уменьшить их влияние...». Опиатные анальгетики до сих пор являются самыми сильными обезболивающими средствами, значительно облегчающие страдания многих больных, и, в первую очередь с онкологическими заболеваниями.

Раунвульф был также первым, кто описал употребление кофе, и его фармакологические эффекты на организм человека.

Одним из наиболее влиятельных ботаников того времени был Николас Кулпепер (1616-1654 гг.). Кулпепер был квалифицированным врачом и выпускником Кембриджского университета. Он написал «Энциклопедию английского врача», которая стала очень популярна и до сих пор выдерживает переиздания. Прошёл ещё век, прежде чем «строгость» физических наук проникла в область биологической науки.

В 1747 году Джеймс Линд показал эффективность цитрусовых апельсина и лимонов, богатые витамином С, в предупреждении развития цинги в длительных морских путешествиях. Его исследования на военном корабле Солсбери по сути дела являлись первым контролируемым клиническим испытанием. При этом в качестве группы контроля, выступали моряки с других кораблей, в запасах которых не было цитрусовых. Благодаря исследованиям Линда, Джеймс Кук смог осуществить свои долгосрочные тихоокеанские путешествия в 1772-1775 гг., не потеряв ни единого человека.

Важной фигурой в истории фармакологии был Вильям Уайтерлинг, который предложил использовать такое растение как наперстянка в 1785 году для лечения «водянки», т.е. отёчного синдрома при декомпенсированной хронической сердечной недостаточности. При этом, он выделил из случайно попавшего к нему рецепта умершей знахарки, включающего 20 трав, именно наперстянку, которая обладала терапевтическими эффектами у этой категории больных. Уайтерлинг писал, что ему не составило большого труда выделить активный ингредиент этого рецепта. Это не представляло для Уайтерлинга большого труда из-за его блестящих знаний в области ботаники. В 1776 году он опубликовал два тома о ботанике всех овощей, произрастающих на территории Великобритании. В книге Уайтерлинга, отчёт о наперстянке, является «жемчужиной» фармакологического наблюдения в клинической практике. Уайтерлинг обобщил терапевтические эффекты и токсическое действие наперстянки. Интересно, что на первой странице своей первой книги он пишет, что единственным путём установить фармакологические эффекты растений



Джеймс Линд

является изучения их влияние на подопытных животных. Уайтерлинг был увлечён наперстянкой на столько, что часто говорил: «Если бы не было наперстянки, то я бы не хотел быть врачом». После публикации трудов Уайтерлинг из различных растений было выделено множество сердечных гликозидов, применявшихся в клинической практике. Увлечение наперстянкой среди врачей было настолько сильно, что её начали включать в состав не только средств для лечения «водянки», но и при многих других заболеваниях, включая эпилепсию.

Так, есть предположение, что художник Ван Гог также применял наперстянку, а характерное тяготение этого художника к жёлтому цвету, некоторые исследователи объясняют, как нарушении цветового зрения в следствии гликозидной интоксикации. Но только сер-



Наперстянка



Морской лук

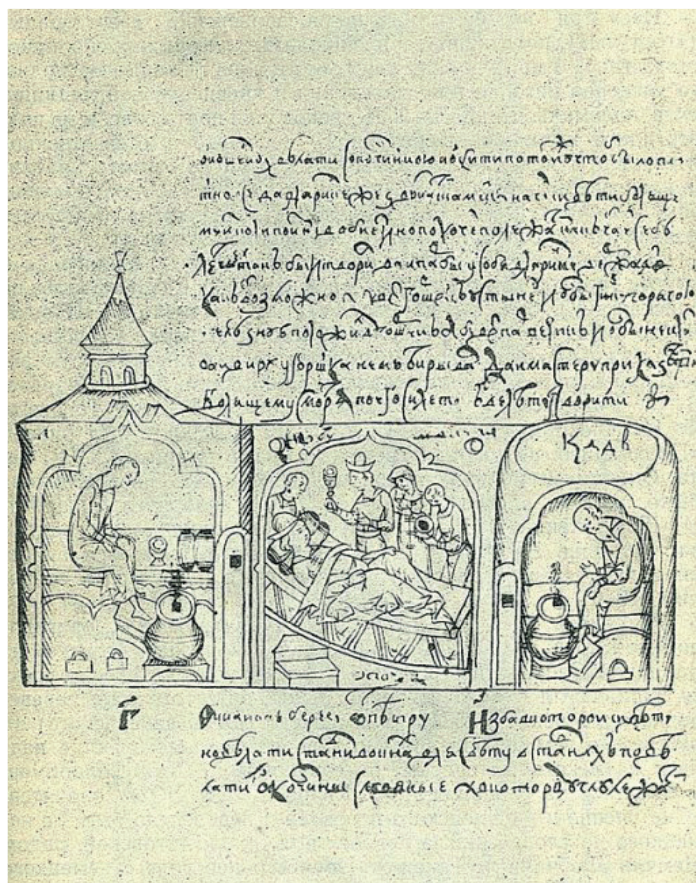


Ван Гог

дечный гликозид наперстянки дигоксин используется у больных с хронической сердечной недостаточности и в настоящее время. Должно было пройти более двухсот лет, прежде чем в конце XX века в двух крупных рандомизированных клинических исследованиях (DIG и RADIANCE) было показано, что включение в терапию хронической сердечной недостаточности дигоксина снижает частоту госпитализаций больных по поводу декомпенсации этого заболевания и не влияет на смертность. Это определило современное место дигоксина в фармакотерапии этого заболевания, основанного на принципах «доказательной медицины». Кроме того, сейчас у дигоксина выявлены «новые» механизмы действия: нейрогуморальные эффекты, противоопухолевое действие. Уайтерлинг также был хорошим химиком и геологом. Он обнаружил и описал несколько минералов, и, в частности, карбонат бария, который до сих пор используется в качестве контрастного вещества для проведения рентгенологических исследований ЖКТ.

До наперстянки, морской лук (*Urginea maritima*) использовался для лечения «водянки». Морской лук содержит сердечные гликозиды, и, в частности мепросциллин, сходный по фармакологическим свойствам с сердечными гликозидами наперстянки. Но проблема использования морского лука заключалась в том, что он вызывал рвоту как проявление гликозидной интоксикации. Одним из важных наблюдений Уайтерлинга явилось то, что наперстянка оказывает свой эффект в дозах, значительно ниже тех, которые вызывают рвоту. То есть Уайтерлингу удалось эмпирическим путём обнаружить терапевтический диапазон наперстянки, который у этого растения был выше, чем у морского лука.

Уайтерлинг говорил, что нельзя недооценивать этнофармакологию и этномедицину. Он утверждал, что «народная» медицина может служить источником ценных знаний. Этот тезис, актуален и для современной фармакологии: поиск новых лекарственных средств продолжает основываться на опыте «народной», или



Изборник Древней Руси



Травник

правильнее сказать «традиционной» медицины. Причём, в современных условиях подобные лекарственные средства изучаются с помощью современных подходов в доклинических и клинических исследованиях. При этом, именно Уайтерлинг впервые стал говорить о постоянной «изменчивости» свойств растительных препаратов за счёт различного содержания активных соединений и предпринимал попытки к стандартизации наперстянки. В настоящее время, стандартизация препаратов растительного происхождения является одной из важных составляющих их качества и приемлемости для применения в клинической практике.

В Древней Руси также было распространено траволечение и широко были известны порошки, мази, настои и отвары из лечебных трав. Народных врачей называли лечцами. О них говорится в «Русской Правде» — древнейшем из дошедших до нас своде русских законов, который был составлен при Ярославе Мудром (в первой четверти XI в.), который многократно переписывался и дополнялся. Впоследствии опыт народной медицины был обобщён в многочисленных травниках и лечебниках, которые в своём большинстве были составлены после принятия на Руси христианства и распространения грамотности. К сожалению, многие рукописные травники и лечебники погибли во время войн и других бедствий. Из этих старинных летописей

и книг, которых до нашего времени дошло всего 200 экземпляров, можно узнать, что наибольшей популярностью пользовались лекарства, приготовленные из растений: полыни, крапивы, подорожника, багульника, «злоненавистника» (бодяги), цвета липы, листьев берёзы, коры ясеня, можжевельниковых ягод, а также лука, чеснока, хрена, берёзового сока и многих других народных средств врачевания.

Описания врачеваний можно найти в изборниках («Изборник великого князя Святослава Ярославича»), евангелиях («Остромирово евангелие», «Архангельское евангелие») и житиях («Повесть о Петре и Февронии»).

Врачевание осуществлялось, в основном в монастырях («монастырская медицина»), в том числе и в «госпитальных» условиях: для тяжело больных при монастыре были специальные помещения, где постоянно дежурили монахи. Монастырская больница при Киево-Печерской Лавре была первой такой больницей. «Киево-Печерский патерик» (XII в.) сообщает о нескольких подвижниках монахах, прославившихся своим врачебным искусством. Среди них — пришедший из Афона «пречудный врач» Антоний (XI в.), который лично ухаживал за больными, давая им своё исцеляющее «зелье»; преподобный Алимпий и Агапит — ученик преподобного Антония. Монах Агапит Печерский (умер в 1095 г.) до сих считается покровителем врачей.

То, что травы являлись основными источниками лекарств указывает икона с его изображением: в руках Агапит Печерский держит цветки водозбора.

Лекарственные средства из дальних стран также были издавна известны на Руси. О них сообщается в древнерусских травниках, повести «Александрия» (о походе Александра Македонского в Индию), в путевых заметках (1466–1472 гг.) тверского купца Афанасия Никитина «Хождение за три моря», которые в силу их большой исторической значимости были включены в русскую летопись.

Позже в Московском государстве появились прототипы аптек — «зелейные лавки», в которых торговали различными травами и приготовленными на их основе лекарствами. При Иване Грозном в Москве открываются аптеки с «немцем»,



Агапит

т.е. иностранцем. Приблизительно в это же время врачом Строгановских солеварен в XV веке был составлен «Лечебник Строгановских лекарств о врачевании от всяких болезней и о всяких зелейных спусках».

В 1534 г. Николаем Булевым был переведён с немецкого трактат Петера Шёффера «Сад Здравия», который описал 382 вида целебных растения, приёмах изготовления лекарств, под названием «Вертоград» («Сад здоровья»).

Использование лекарственных трав в России стало делом государственным при царе Алексее Михайловиче. По его приказу был создан Аптекарский приказ (возник в 1632 году), который руководил сбором и разведением лекарственных растений в «аптекарских огородах». В садах также сажали яблони, вишни, малину — их плоды использовались лечцами. Были ещё и «верховые сады», раз-

битые на крышах Кремля, где выращивали в ящиках шалфей, руту, мяту и другие ароматические травы.

В Московском государстве сложилась своеобразная система сбора и заготовки лечебных трав. В Аптекарском приказе было известно, в какой местности преимущественно произрастает то или иное лекарственное растение. Например, зверобой — в Сибири, солодовый (лакричный) корень — в Воронеже, черемица — в Коломне, чечуйная (противогеморройная) трава — в Казани, можжевельные ягоды — в Костроме. Специально назначенные заготовители (травники) обучались методам сбора трав и их доставки в Москву. Таким образом, сложилась государственная «ягодная повинность», за невыполнение которой полагалось тюремное заключение. В то время приказ занимал одно из зданий московского Кремля. При приказе находился ещё аптекарский двор с «поварней», в которой хранились бочки и печи для квашения можжевельных ягод. У стен Московского Кремля стали создаваться государственные «аптекарские огороды» (ныне Александровский сад). Число их постоянно росло. Так, в 1657 г. по указу царя Алексея Михайловича (1645–1676 гг.) было велено «Государев Аптекарский двор и огород перенести...от Кремля-города за Мясницкие ворота и устроить в огородной слободе на пустых местах». Вскоре «аптекарские огороды» появились у Каменного моста, в Немецкой слободе и на других московских окраинах, например, на территории современного Ботанического сада. Посадки в них производились в соответствии с распоряжениями Аптекарского приказа.

В некоторых случаях специалисты по закупке лекарственных средств направлялись в другие города. Значительная часть лекарственного сырья для аптек выписывалась «из-за моря» (Аравии, стран Западной



Вертограды

Европы — Германии, Голландии, Англии). Аптекарский приказ рассылал свои грамоты иноземным специалистам, которые направляли в Москву требуемые лекарственные средства. Об этом свидетельствует сохранившаяся переписка. Например, в 1662 г. Ивашко Гебдон писал русскому царю из Лондона: «...прислана мне твоя грамота из Аптекарского приказа, а велено мне иноземцу купить... аптекарских запасов против росписи, — и купя... послать их на кораблях к Архангельскому городу... И те аптекарские запасы покладены в шести сундуках да в двух боченках да в одном тючке и наклеены и отпущены на кораблях к Архангельскому городу....К Москве на подводах летним путем с великим бережением».

В 1714 г. указом Петра I в Петербурге был создан аптекарский огород. Для управления огородом по традиции приглашали опытных садовников и учёных-иноземцев, главным образом, из Германии. В саду выращивали, заготавливали лекарственные травы и на месте готовили из них лекарства (об этом косвенно говорят находимые в земле старинные аптекарские пузырьки). Отсюда посылали и первые ботанические экспедиции по России, а любознательные учёные-ботаники собирали в саду первые коллекции «курьезных плантов». По легенде, ещё при основании сада сам Пётр посадил здесь три хвойных дерева: ель, пихту и лиственницу «для научения граждан в их различии»; из них последняя жива до сих пор. Крона лиственницы повреждена молнией в начале XX века, и с тех пор она почти не растёт. Её почтенный возраст недавно был подтверждён с помощью возрастного бура.

Позже по приказу Петра I аптекарские огороды были созданы во всех крупных городах при военных госпиталях. Он выписывал травы из Москвы в Петербург и просил, чтобы дорожки обсаживались ромашкой и мятой, «кои пахнут».

Аптекарский огород выполнял функцию царско-



Книга Аптекарский огород

го городского парка и поставлял Двору растительные продукты. Именно этому аптекарскому огороду суждено было впоследствии стать крупным центром ботанической науки — Ботаническим институтом. Московский Аптекарский огород, основанный чуть раньше, в 1706 г., явился базой для организации ботанического сада Московского университета. В Астрахани по приказу Петра I также были заложены крупные плантации лекарственных растений.

В 1778 г. в России опубликована «Российская фармакопея». В 1802 году в Российской империи издаётся первый отечественный фармацевтический справочник на национальном языке — до этого все фармакопеи были написаны на латыни.

Такова вот вкратце древняя история фитофармакологии — прародительнице современной фармации и клинической фармакологии.

Кукес Владимир Григорьевич

к 80-летию со дня рождения

От редакции

8 сентября 2014 г. исполняется 80 лет со дня рождения Владимира Григорьевича Кукеса.

Кукес Владимир Григорьевич (1934 г.р.) — доктор медицинских наук с 1970 г., профессор с 1974 г., член-корреспондент РАМН с 1993 г., академик РАМН с 1999 г., заслуженный деятель науки РФ с 1995 г., академик РАН (с 2014 г.), заведующий кафедрой клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, директор Центра клинической фармакологии НЦ ЭСМП Министерства здравоохранения РФ.



В.Г. Кукес родился 8 сентября 1934 г. в г. Ленинграде в семье служащих. В 1957 г. окончил лечебный факультет I-го Московского медицинского института им. И.М. Сеченова. С 1961 по 1964 гг. прошёл аспирантуру на кафедре пропедевтической терапии у зав. кафедрой В.Х. Василенко. С 1961 по 1960 гг. прошёл курсы повышения квалификации по клинической фармакологии у Б.Е. Вотчала в Центральном институте усовершенствования врачей (ныне Российской академии последипломного 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. I-ММИ им. И.М. Сеченова под руководством И.И. Сивкова. В 1979 г. — В.Г. Кукес, возглавив отдел клинической фармакологии I-ММИ им. И.М. Сеченова, создал экспериментальный курс клинической фармакологии, который в дальнейшем был реорганизован в 1985 г. в кафедру клинической фармакологии Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, которую он возглавляет по настоящее время.

В.Г. Кукес является одним из основоположников клинической фармакологии в России. В 1971 г. по его инициативе в I-ом ММИ им. И.М. Сеченова был организован отдел клинической фармакологии, который явился первым подразделением клинической фармакологии в СССР. Под руководством В.Г. Кукеса были созданы учебные программы и методические разработки по преподаванию этой дисциплины в медицинских ВУЗах страны, написаны учебник «Внутренние болезни» (1981, 1986) на русском и испанском языках,

учебник для лечебных факультетов «Клиническая фармакология», который выдержал 5 переизданий (1991, 1999, 2003, 2006, 2008, 2014), учебник для фармацевтических факультетов «Клиническая фармакология и фармакотерапия» (2003, 2008, 2013), Практикум по клинической фармакологии (2011, 2013), подготовлено «Положение о специалисте — клиническом фармакологе».

Под руководством В.Г. Кукеса выполнено 25 докторских и более 113 кандидатских диссертаций. Некоторые из его учеников возглавляют ведущие кафедры страны и ближнего зарубежья, работают клиническими фармакологами во многих странах СНГ. В.Г. Кукес подготовил блестящую плеяду учеников, в число которых входят доктора медицинских наук, профессора — Стародубцев А.К., Цой А.Н., Ших Е.В., Раменская Г.В., Журавлева М.В., Сулейманов С.Ш., Сычев Д.А., Сереброва С.Ю., Лазарева Н.Б., Игонин А.А. и многие другие, под руководством которых подготовлены и защищены более 60 кандидатских и 10 докторских диссертаций. Среди специалистов, подготовленных В.Г.Кукесом и его учениками, есть граждане стран ближнего (страны СНГ) и дальнего зарубежья (Китай, Тайвань, Иран, Марокко).

Основные научно-исследовательские работы В.Г. Кукеса носят фундаментально-прикладной характер и посвящены наиболее приоритетным проблемам клинической фармакологии. 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, их клиническое значение для оптимизации фармакотерапии, лежащих в основе клинической фармакогенетики, молекулярные механизмы взаимодействия лекарствен-

ных препаратов, клиническая фармакология блокаторов медленных кальциевых каналов, β -адреноблокаторов, антидепрессантов, витаминов в комплексных лекарственных препаратах и биологических жидкостях.

В настоящее время В.Г. Кукес активно развивает методологию персонализированной медицины с позиции клинической фармакологии: использование фармакогенетического тестирования, оценки активности изоферментов цитохрома P450 и транспортёров лекарственных средств для персонализации фармакотерапии пациентов с социально значимыми заболеваниями. Под руководством В.Г. Кукеса активно ведётся поиск и оценка лекарственных средств, модулирующих активность системы элиминации ксенобиотиков и других функциональных систем.

В.Г. Кукес внёс большой вклад в развитие отечественной фарминдустрии, принимая участие в создании оригинальных отечественных лекарственных средств: форидона, ортофена, метиоприла, квидитена, этмозина, этацизина, в изучении фармакокинетики и фармакодинамики арбидола, небинтана, проксадолола, этоксидола и ряда других лекарственных препаратов. Эти разработки позволили пациентам получить препараты мирового уровня по доступным ценам.

В.Г. Кукес является автором более 400 научных публикаций, 45 из которых опубликованы в иностранных журналах. Под его непосредственным руководством выпущено 21 монография, 8 учебников, 52 методических и учебных пособий для студентов медицинских ВУЗов и практических врачей. В.Г. Кукес — автор 16 изобретений и патентов.

Награды: 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 награждён 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 продетоксан для лечения наркомании, а в 2008 г. лауреатом премии Правительства РФ в области науки и техники. В 2008 году стал лауреатом Премии РАМН им. Кравкова за лучшую работу в области фармакологии и токсикологии. В 2006 г. получил Почётное звание профессора ММА им. И.М. Сеченова. В.Г. Кукес награждён медалью за «Трудовую доблесть» в 1982 г., в 2005 г. Орденом Почёта. В 2009 г. Лигой малочисленных народов и этнических групп награждён почётным знаком и медалью «За заслуги перед малочисленными народами России». В 2008 г. Кукесу В.Г. присвоено звание Почётного жителя муниципального образования Таганское в городе Москве.

Нельзя не отметить не только высочайший профессионализм Владимира Григорьевича как учёного, врача, педагога, но и его человеческие качества. Владимир Григорьевич помог очень многим людям в жизненных ситуациях, нет человека который обратился бы к нему и кому он бы отказал в помощи в любой ситуации. Неравнодушие Владимир Григорьевича к делу и своим коллегам вызывает восхищение.

*Дорогой Владимир Григорьевич,
коллективы которые Вы возглавляете,
Ваши ученики и друзья,
от всей души поздравляют Вас с Юбилеем,
желаем крепкого здоровья Вам и Вашим близким
и удачи во всём.*

Ученики, друзья

Список условных обозначений

A	— количество ЛС в организме, мг или мкмоль.
Aa	— количество ЛС, остающегося в месте абсорбции, мг или мкмоль.
Ae	— количество неизменённого ЛС, выделенного с мочой, в мг или мкмоль.
Ael (m)	— количество выведенных метаболитов, в мг или мкмоль
Ae_{t,ss}	— кумулятивное количество неизменённого ЛС, выведенного с мочой в течение интервала дозирования при равновесном состоянии, мг или мкмоль.
Ae_∞	— кумулятивное количество неизменённого ЛС, выведенного с мочой за время от нуля до бесконечности после однократной дозы, мг или мкмоль.
A(m)	— количество метаболита в организме, мг или мкмоль.
A_{min}	— минимальное количество ЛС в организме, необходимое для получения predetermined уровня или эффекта, мг или мкмоль.
A_{N, max}	— максимальные и минимальные количества ЛС в организме после N-й дозы.
A_{N, min}	— фиксированного объёма, данной за фиксированный интервал дозирования в мг или мкмоль.
A_{N,t}	— количество ЛС, невыделенное с мочой после N-й дозы, в мг или мкмоль.
ARE	— количество ЛС, остающееся невыделенным с мочой после однократной дозы в мг или в мкм.
Ass	— количество ЛС в организме в равновесном состоянии во время внутривенной инфузии с постоянно скоростью, мг или мкмоль.
A_{ss, av}	— среднее количество ЛС в интервале дозирования при равновесном состоянии, мг или мкмоль.
A_{ss, max}; A_{ss, min}	— максимальные и минимальные количества ЛС в организме во время интервала дозирования в равновесном состоянии при введении фиксированной дозы через фиксированный интервал времени, мг или мкмоль.
A_{ss, t}	— количество ЛС в организме во время t интервала дозирования при равновесном состоянии и введении фиксированной дозы через фиксированные интервалы, мг или мкмоль.
AUC	— площадь под кинетической кривой плазменной концентрации ЛС от нуля до бесконечности, указываемый в локальном контексте специфического интервала времени, например — интервала между дозами, мг*час/л или мкмоль/ч.
AUC_b	— полная площадь под кинетической кривой концентрации ЛС, мг-час/л или мкмоль/час.
AUC(m)	— площадь под кинетической кривой плазменной концентрации метаболита, мг/час/л или мкмоль/час.
AUC_{ss}	— площадь под кинетической кривой плазменной концентрации ЛС в интервале дозирования при равновесном состоянии, мг/час/л или мкмоль/час.
C	— концентрация ЛС в плазме крови, мг/л или мкмоль
C(0)	— исходная концентрация ЛС, получаемая обычно экстраполяцией к нулю времени, в мг/л или мкмоль.
C₁; C₂	— коэффициенты с единицами концентраций, мг/л или мкмоль.
Ca	— концентрация ЛС в жидкости места абсорбции, мг/л или мкмоль.
C_A	— концентрация ЛС в артериальной крови, мг/л или мкмоль.
C_b	— концентрация ЛС в крови, мг/л или мкмоль.
C_{bd}	— концентрация связанного ЛС в плазме, мг/л или мкмоль.
C_D	— концентрация ЛС в диализате, мг/л или мкмоль.
C_I	— концентрация ингибитора метаболизма, мг/л или мкмоль.
CL_{bd}	— полный клиренс ЛС из крови, л/час.
CL_{hH}	— гепатический клиренс ЛС из крови, л/час.
CL_{cr}	— почечный клиренс креатинина мл/мин или л/час.
CL_D	— диализный клиренс, основанный на концентрации ЛС в плазме, л/час.
CL_t	— клиренс, связанный с образованием метаболита из ЛС, л/час.
CL_H	— гепатический клиренс ЛС из плазмы, л/час.
CL_{int}	— истинный клиренс ЛС в органе его выведения, л/час.
CL(m)	— полный клиренс метаболита, л/час.
CL_(PD)	— клиренс перитонеального диализа по концентрации ЛС в плазме, л/час.
CL_R	— почечный клиренс ЛС в л/час.
CL_u	— клиренс несвязанного ЛС, л/час.
C(m)_{ss}	— равновесная концентрация метаболита в плазме, мг/л или мкмоль.
C_{max}	— высшая концентрация ЛС в плазме после внесосудистого введения, в мг/л или в мкмоль/л.
C(m)_{ss}	— концентрация метаболита ЛС при равновесии во время в/в инфузии с постоянной скоростью в мг/л или мкмоль.
C_{min}	— минимальная концентрация ЛС, необходимая для получения требуемой интенсивности эффекта в мг/л или в микромоль.

CN, max	— максимальная и минимальная концентрации ЛС в плазме после N доз введения фиксированной дозы при равных интервалах дозирования, в мг/л или мкмоль.
CPC	— концентрации ЛС в перитонеальной полости, мг/л или мкмоль.
Css	— плазменные равновесные концентрации при в/в инфузии с постоянной скоростью, мг/л или мкмоль.
Css, av	— средняя плазменная концентрация ЛС в интервале дозирования при равновесном состоянии и введении фиксированных доз через равные интервалы, мг/л или мкмоль.
Css, max; Css, min	— максимальная и минимальная концентрации ЛС в плазме при их равновесии и введении фиксированных доз через равные интервалы дозирования, мг/л или мкмоль.
C_T	— средняя концентрация ЛС в неплазменных жидкостях, мг/л или мкмоль.
C_{tw}	— концентрация ЛС, несвязанного в водной фазе организма, в мг/л или мкл.
C upper/lower	— максимальные и минимальные пределы для концентраций ЛС.
Cu	— концентрация несвязанного ингибитора или ЛС в плазме.
Cu_i	— концентрация несвязанного в плазме ЛС, мг/л или мг/мкмоль.
C_v	— концентрация ЛС в венозной крови.
D_L	— нагрузочная доза, мг или ммоль.
DM	— поддерживающая доза в фиксированно-дозном режиме.
DMmax	— максимальная поддерживающая доза для обеспечения постоянства нахождения концентраций ЛС в нижних и верхних пределах за время интервала дозирования в равновесном состоянии.
E	— экстракционное отношение (без символа) ж;
DL	— нагрузочная доза, в мг или мкмоль.
DM	— поддерживающая доза в фиксированно-дозном режиме;
DM, max	— максимальная поддерживающая доза для поддержания плазменной концентрации ЛС в равновесии между верхним и нижним пределами в течение интервала дозирования.
E	— экстракционное отношение, в %.
EC₅₀	— концентрация, обеспечивающая половину максимального эффекта.
Eh	— гепатическое экстракционное отношение.
E_{max}	— максимальный эффект в единицах исходов.
F	— биодоступность ЛС (в долях или %).
Fbd	— отношение связанной и полной концентраций в плазме.
Fd	— клиренс путём диализа, как отношение к общему клиренсу.
Fe	— свободная фракция неизменённого ЛС, систематически выделяемая путём экскреции с мочой.
FEV₁	— форсированный объём выдоха за 1 сек., л.
F_H	— фракция ЛС, поступающая в печень, помимо выведения за 1 цикл через другие органы.
fm	— фракция ЛС, систематически доступная для его метаболизма.
Fm	— фракция введённой дозы ЛС, поступающая в общую циркуляцию в виде метаболита.
F_R	— фракция отфильтрованного и выделенного ЛС, ре-абсорбированного почечными канальцами.
Fu	— отношение несвязанного и общего ЛС в плазме.
Fu-p	— отношение свободного и общего ЛС в плазме в условиях изменённого связывания.
Fur	— отношение несвязанных концентраций ЛС в плазме к их общим концентрациям в крови.
Fu_r	— отношение общей и свободной концентраций ЛС во внутриклеточной жидкости.
FUT	— отношение несвязанной и общей концентраций ЛС в тканях
γ	— фактор формы в соотношениях концентрация-эффект.
GFR	— скорость гломерулярной фильтрации, мл/мин.= л/час
k	— константа скорости элиминации ЛС, час ⁻¹
KA	— константа ассоциации связывания ЛС с белками, л/моль.
ka	— константа скорости абсорбции, час ⁻¹ .
k	— константа скорости элиминации у больных на гемодиализе, час ⁻¹ .
ke	— константа скорости экскреции с мочой, час ⁻¹ .
f	— константа скорости, ассоциированная с образованием метаболита, ч ⁻¹ ,
KI	— равновесная константа ингибирования.
k (m)	— константа скорости выведения метаболита час ⁻¹ .
k (m)	— константа Михаэлиса-Ментена, мг/л или мкмоль.
Kм'	— константа Михаэлиса-Ментена, выраженная в терминах полной плазменной концентрации, мкг/л или мкмоль.
Kp	— равновесное отношение ЛС между тканями и кровью или плазмой.
k_T	— фракционная скорость, с которой ЛС покидает ткань, час ⁻¹
m	— наклон центра интенсивности эффекта по отношению к логарифмической кривой изменения концентрации и единицами эффекта.

MPT	— среднее время задержки молекул ЛС в организме в часах.
n	— число единиц измерения (условное число).
N	— число доз, а не единиц.
P	— коэффициент проницаемости, см/мин, или см/час.
Q	— поток крови, л/мин. или л/час.
Q_D	— поток диализата в системе гемодиализа, мл/мин. или л/час.
Q_f	— скорость потока фильтрата из системы гемофильтрации, мл/мин, или л/час.
Q_H	— гепатический кровоток через портальную вену и печёночную артерию, л/мин. или л/час.
ρ	— отношение концентраций ЛС в клетках крови к несвязанным концентрациям в плазме.
R_{ac}	— отношение аккумуляции (индекс) ЛС.
Rd	— отношение несвязанного клиренса у отдельного и типового пациента.
RF	— индивидуальная почечная функция у типового пациента.
R₀	— скорость постоянной внутривенной инфузии, мг/час.
Rt	— скорость потока крови, мг/час.
S	— фактор солевой формы.
SA	— площадь поверхности, м ² .
τ	— интервал дозирования, часы.
τ_{max}	— максимум интервала дозирования, необходимый для пребывания в пределах между верхней и нижней концентрациями ЛС, часы.
t_{max}	— время достижения максимальной концентрации после введения внесосудистой дозы ЛС, минуты или часы.
T_d	— длительность действия ЛС в часах.
T_{inf}	— длительность инфузии ЛС с постоянной скоростью, часы.
Tm	— максимальная скорость транспорта (секреции) ЛС в почечные каналы.
T¹/₂	— период полувыведения, часы.
t_l	— время оборота, часы.
V	— кажущийся объём распределения ЛС в организме, вычисленный по концентрации в плазме, в литрах.
V_B	— объём крови, л.
V_D	— объём раствора ЛС в диализате, собранного при гемодиализе, л.
V_m	— Максимальная скорость метаболизма ферментативно осуществляемой реакции, мг/час или мкмоль/час.
V(m)	— кажущийся объём распределения метаболитов ЛС, рассчитанный по их концентрациям в плазме, литры.
V_p	— объём плазмы, л.
V_{PC}	— объём диализата в перитонеальной полости, л.
V_R	— содержание воды во внутриклеточной жидкости, л.
V_T	— физиологический внеплазменный объём, в котором распределено ЛС, л.
V_{ss}	— кажущийся равновесный объём распределения ЛС, рассчитанный по концентрации ЛС в плазме, л.
V_{TW}	— объём внеплазменной воды, в которой распределено ЛС, л.
Vu	— кажущийся объём распределения, основанный на концентрации несвязанного ЛС в плазме, л.

Краткие правила для авторов

Уважаемые коллеги!

Редакция журнала заинтересована в публикации результатов Ваших работ.

Для размещения статьи в журнале необходимо выслать нам письмо на адрес **zherdevpharm@mail.ru** со следующими данными:

1. Фамилия Имя Отчество (полностью)
2. Фотография(и) для размещения информации об авторах на сайте (желательно до 2 Мбайт и в формате jpeg). Файл с фотографией необходимо назвать: ФИО полностью на русском, например, Утин_Дмитрий_Владимирович.jpg. Файлы в другом формате не принимаются
3. Должность: зав. кафедрой, профессор кафедры, ассистент, доцент, м.н.с., с.н.с., Руководитель центра или клиники, зав. отделением, Президент, Вице-президент, Генеральный директор, Исполнительный директор, Главный редактор, Ответственный секретарь, Начмед и т.п.
4. Статус: к.м.н., к.х.н., к.ф.н., д.м.н., д.х.н., д.ф.н., профессор, член-корр., академик и т.п. (если нет, то нет)
5. Перечислить область деятельности (специализацию): например, педиатрия, эпидемиология, неврология, клиническая фармакология, нейрофизиология...
6. Членство в медицинских Обществах (российских, международных)
7. Членство в редакциях других журналов
8. Почтовый адрес для переписки: индекс, город, страна, место работы, адрес для пересылки журналов
9. Личный e-mail адрес
10. Телефон для быстрой связи (с кодом города)
11. Web-адрес Вашего сайта или сайта учреждения, где Вы работаете (если он есть)
12. Другие данные, которые Вы хотите разместить: например, Правительственные награды, заслуженный врач и т.п.
13. Название Рубрики, куда Вы хотите поместить статью(и):
 - Передовая статья
 - Актуальные обзоры
 - Теоретические основы
 - Фармакодинамические исследования
 - Фармакокинетические исследования
 - Биофармацевтические исследования
 - Исследования биотрансформации
 - Исследования биоэквивалентности
 - Популяционная фармакокинетика
 - Терапевтический лекарственный мониторинг
 - Фармакогенетика
 - Нанофармакология
 - Практические рекомендации
 - Исторический очерк

Если статья не подходит к рубрикам журнала, то просто выберите другой журнал или свяжитесь с редакцией.

Не забывайте прикрепить саму рукопись в формате MS WORD с рисунками и таблицами внутри статьи, или отдель-

ными файлами. Можно не архивировать до 10 Мбайт (если архивируете, то делайте это в WinZIP, а Том архива разбивайте частями до 10 Мбайт в WinRAR).

В Теме письма сделайте пометку: В редакцию журнала «Фармакокинетика и Фармакодинамика» от ФИО, краткое название статьи.

После получения Вашего письма, содержащего всю вышеперечисленную информацию, статья попадает в редакцию журнала, которая после рецензирования принимает решение о целесообразности её публикации.

О дальнейшей судьбе статьи мы незамедлительно Вам сообщим, либо по указанному контактному телефону для быстрой связи, либо по личному e-mail.

В случае если возникнет необходимость исправить или доработать статью, мы отправим Вам текст предложений для внесения соответствующих изменений.

Автору, статья которого не была принята к публикации, отправляется мотивированный отказ. Помните, что отклонили статью, а не Вас.

Сразу после рецензирования, одобрения редколлегией, коррекции, редакции, решения главного редактора «В ПЕЧАТЬ» и вёрстки журнала, статья будет размещена в on-line доступе на сайте, а pdf версию мы перешлём на Ваш личный e-mail.

Авторские экземпляры будут высланы Вам после выхода журнала из типографии на указанный почтовый адрес для переписки.

Требования к статьям для журнала «Фармакокинетика и Фармакодинамика»

Статья должна быть написана на основе следующих правил:

- «Единых требований к статьям, представляемым в биомедицинские журналы» [International committee of medical journal editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997;126:36-47.]
- «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления» ГОСТ Р 7.0.5-2008

Ознакомиться с ними можно на сайте журнала: <http://pharmacokinetica.ru/text.php?pg=11>

По всем возникающим у Вас вопросам обращайтесь к Жердеву Владимиру Павловичу

☎ +7(495) 601-21-57, ✉ zherdevpharm@mail.ru

✉ 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8

ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН

или

в ООО «Издательство ОКИ»,

к генеральному директору Белоусову Дмитрию Юрьевичу

☎ +7(910) 449-22-73, ✉ clinvest@mail.ru

Список опубликованных статей в журнале «Фармакокинетика и Фармакодинамика» за период с 2004 по 2013 гг.

Теоретические основы

- Горьков В.А., Карамышева Е.И. Введение в фармакокинетику. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 2-4.
- Бондарева И.Б., Герасимов В.Б., Дрожжин А.П., Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Кондратенко С.Н., Кулес В.Г., Леонова М.В., Литвин А.А., Насонов А.С., Портной Ю.А., Раменская Г.В., Рейхарт Д.В., Румянцев А.С., Савченко А.Ю., Сариев А.К., Соколов А.В., Стародубцев А.К., Топорова Е.А., Фирсов А.А., Фисенко В.П., Чельцов В.В., Чистяков В.В., Ших Е.В. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 10.08.2004 г. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 2-14, стр. 2-14.
- Сычёв Д.А., Раменская Г.В., Кулес В.Г. Половые различия в биотрансформации лекарственных средств: значение для проведения клинических исследований лекарственных средств. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 15-17.
- Жердев В.П., Литвин А.А. Роль и организация фармакокинетических исследований. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 1-3.
- Сарвилина И.В., Матишов Д.Г., Горишкова Ю.В. Лаборатория клинической (прикладной) фармакокинетики: стандартизация, аккредитация и лицензирование. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 4-8.
- Бондарева И.Б. Программное обеспечение для анализа данных фармакокинетических / фармакодинамических исследований. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 9-13.

Актуальные обзоры

- Бастрыгин Д.В., Колыванов Г.Б., Жердев В.П. Биотрансформация и фармакокинетика морфолинсодержащих лекарственных препаратов. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №1, стр. 3-17.
- Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П. Биотрансформация и фармакокинетика производных адамантана. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №1, стр. 18-24.
- Пономаренко Т.М., Сычёв Д.А., Чикало А.О., Бердникова Н.Г., Кулес В.Г. Система цитохрома P450 в лёгких: роль в патогенезе заболеваний и фармакокинетике лекарственных средств. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №1, стр. 25-28.
- Балабаньян В.Ю., Гельперина С.Э. Основные механизмы доставки лекарственных веществ в мозг с помощью полимерных наночастиц. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 3-9.
- Хаитов М.Р., Смирнов В.В. Особенности фармакокинетики антисмысловых олигонуклеотидных препаратов. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №1, стр. 3-13.
- Иванникова Е.В., Жердев В.П., Бойко С.С., Бlynская Е.В., Турчинская К.Г., Алексеев К.В. Исследование фармакокинетики и биодоступности в создании новых оригинальных лекарственных средств пептидной структуры и их оптимальных лекарственных форм. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №2, стр. 1-17.

Популяционная фармакокинетика

- Гуревич К.Г. Фармакокинетический анализ бимодальных дозозависимостей. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 34-39.
- Сингин А.С. Популяционная фармакокинетика метотрексата. Клинический мониторинг лечения острого лимфобластного лейкоза и лимфом у детей. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 40-42.
- Сингин А.С., Бондарева И.Б. Популяционное моделирование фармакокинетики высоких доз метотрексата у пациентов с остеосаркомой. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 18-22.
- Сариев А.К., Кравцова О.Ю., Жердев В.П., Бердимуратова Г.Д., Абдрахманов М.Ж., Середенин С.Б. Кинетика экскреции мексидола и его глюкуроноконъюгированного метаболита у добровольцев популяций казахов и русских. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 23-28.

Исследования биодоступности

- Логунова И.В., Богомолова Н.С., Чистяков В.В. Экспериментальное исследование биодоступности комбинированного препарата Диоксизид. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №1, стр. 29-32.

Исследования фармакокинетики

- Еслямханов А.Б., Скидан И.Н., Гельперина С.Э., Скидан Т.Н., Гуляев А.Е. Модификация фармакокинетики наночастиц сурфактантом. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 14-17.

Раменская Г.В., Скуридина Е.А., Сычёв Д.А., Кукес В.Г. Оценка функциональной активности Р-гликопротеина путём измерения фармакокинетических параметров его субстрата фексофенадина. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 18-23.

Тюрников И.Н., Перфилова В.Н., Смирнова Л.А., Рябуха А.Ф., Сучков Е.А., Лебедева С.А. Фармакокинетические свойства нового производного ГАМК цитрокарда: распределение и тканевая биодоступность. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 26-29.

Духовлинов И.В., Аль-Шехадат Р.И., Орлов А.И. Изучение фармакокинетики трёх лекарственных форм препарата для регенеративной генной терапии повреждений поверхностных тканей человека различной этиологии. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №1, стр. 35-39.

Смирнова Л.А., Сучков Е.А., Рябуха А.Ф., Кузнецов К.А., Озеров А.А., Караваяев А.В. Экскреция соединения VMA-99-82 — нового производного аденина, обладающего противовирусной активностью. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №1, стр. 40-42.

Карлина М.В., Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Балабаньян В.Ю. Экспериментальное исследование фармакокинетики рифабутина в липосомальной форме. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №2, стр. 37-41.

Исследования фармакодинамики

Капица И.Г., Кокшенев И.И., Вальдман Е.А., Воронина Т.А. Изучение эффектов инъекционной формы гимантана на экспериментальных моделях паркинсонического синдрома. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 10-16.

Балабаньян В.Ю., Разживина В.А., Максименко О.О., Кондрахин Е.А., Ковалев Г.И., Воронина Т.А. Изучение фармакодинамики наноразмерной формы феназепама на основе поли(бутил)цианоакрилатных наночастиц. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 17-25.

Исследования биоэквивалентности

Соколов А.В. Правила исследования биоэквивалентности лекарств. // Клиническая фармакокинетика. 2004 г., №1, стр. 5-13.

Бондарева И.Б. Статистический анализ данных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 14-22.

Писарев В.В., Смирнова Л.Б., Москалева Н.Е., Зверков Ю.Б., Белолипецкая В.Г., Суханов Я.В. Определение азитромицина в плазме крови методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 23-26.

Соколов А.В., Белоусов Ю.Б., Тищенко И.Ф. Сравнительное фармакокинетическое исследование биоэквивалентности двух пролонгированных лекарственных форм метопролола. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 27-33.

Белоусов Ю.Б., Соколов А.В. Сравнительная фармакокинетика двух лекарственных форм карведилола — Таллитон® (Эгис, Венгрия) и Дилатренд® Хофманн Ля Рош, Швейцария). // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 24-29.

Красных Л.М., Савченко А.Ю., Раменская Г.В. Сравнительное фармакокинетическое изучение препаратов тилорона с помощью разработанной методики ВЭЖХ. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 30-34.

Алтынбеков С.А., Джолдыгулов Г.А., Серяков В.Н., Будац Я.М., Курилов О.Э., Жердев В.П. Биоэквивалентность капсулированных форм пипемидовой кислоты у добровольцев. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 30-33.

Алтынбеков С.А., Джолдыгулов Г.А., Серяков В.Н., Будац Я.М., Курилов О.Э., Колыванов Г.Б. Биоэквивалентность таблетированных форм триметазидина у добровольцев. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 34-37.

Сариев А.К., Абаимов Д.А., Ширияева М.В., Прохоров Д.И., Алтынбеков С.А., Джолдыгулов Г.А., Серяков В.Н., Будац Я.М., Курилов О.Э. Исследование сравнительной фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов Кардиопрел и Монопрел®. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 38-45.

Абаимов Д.А., Сариев А.К., Ширияева М.В., Прохоров Д.И., Алтынбеков С.А., Джолдыгулов Г.А., Серяков В.Н., Будац Я.М., Курилов О.Э. Открытое, рандомизированное, перекрёстное исследование сравнительной фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов Сантодарон и Кордарон. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 46-55.

Подпужников Ю.В., Сабко В.Е., Юрченко В.В., Кравец Н.Н., Рыбьянова Л.П., Зупанец И.А., Безуглая Н.П. Исследование биоэквивалентности рилузола с использованием УЭЖХ-МС/МС метода. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №2, стр. 56-64.

Писарев В.В., Уляшова М.М., Вдовина К.А., Тисейко Н.И. Исследования биоэквивалентности таблетированных форм респериона, оланзапина и кветиапина у здоровых добровольцев. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №1, стр. 14-22.

Кондратенко С.Н., Стародубцев А.К., Сенюк Е.А., Дралова О.В., Кудинова С.Н. ВЭЖХ определение, фармакокинетика и относительная биодоступность левофлоксацина производства ООО «ОЗОН», Россия. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №1, стр. 23-26.

Будац Я.М., Курилов О.Э., Сариев А.К., Абаимов Д.А., Ширияева М.В., Стырова Е.Ю., Алтынбеков С.А., Джолдыгулов Г.А., Серяков В.Н., Алтынбеков К.С. Биоэквивалентность бисопролола, таблетки покрытые оболочкой 10 мг АО «Химфарм», Республики Казахстан. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №1, стр. 27-34.

Карлицкая А.А., Красных Л.М., Смирнов В.В., Василенко Г.Ф., Кузнецова Н.И., Кулес В.Г. Исследование биоэквивалентности препаратов, содержащих мемантин. // 2013 г., №2, стр. 18-24.

Сариев А.К., Абаимов Д.А., Ширяева М.В., Стырова Е.Ю., Алтынбеков С.А., Джолдыгулов Г.А., Серяков В.Н., Будах Я.М., Курилов О.Э. Исследование сравнительной биоэквивалентности препаратов Пиоглитазон таблетки, 20 мг (АО «Химфарм», Республика Казахстан) и Актос® таблетки, 30 мг («Eli Lilly Holdings, Takeda Global Research and Development Centre Europe Ltd»). // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №2, стр. 25-32.

Алтынбеков С.А., Джолдыгулов Г.А., Серяков В.Н., Будах Я.М., Курилов О.Э., Кузнецова Н.И. Оценка биоэквивалентности двух таблетированных форм лизиноприла на здоровых добровольцах. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2013 г., №2, стр. 33-36.

Фармакогенетика

Мирошниченко И.И., Птицина С.Н. Генетический полиморфизм и фармакокинетика лекарственных средств. // Клиническая фармация, 2005 г., №2, стр. 35-39.

Нанофармакология

Сейфулла Р.Д. Фармакодинамика и фармакокинетика нанонейрофармакологических препаратов. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №1, стр. 33-42.

Терапевтический лекарственный мониторинг

Мирошниченко И.И., Горшкова Е.В. Рациональное дозирование лекарственных средств: история, настоящее, перспективы. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 43-46.

Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г., Сторожак Г.И. Терапевтический лекарственный мониторинг противовирусных препаратов. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 47-49.

Денисова О.И. Клинический случай применения ванкомицина по поводу MRSA-сепсиса у больного с терминальной недостаточностью трансплантата почки. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 50-51.

Андреева О.В. Применение терапевтического лекарственного мониторинга финлепсина в крови в клинической практике. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 29-33.

Дутов А.А., Летунов В.И., Никитин Д.А., Дуйсебеков М.М. Определение вальпроевой кислоты в биологических жидкостях методом ВЭЖХ с УФ детекцией и предколоночной дериватизацией фенолсодержащим бромидом. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 34-37.

Блейзак Н., Сулле Г., Магрон П., Жаноли А., Мартин П., Бертран И., Галамбрун К., Джеллифф Р., Даи К., Майер П., Олагнер Г. Применение тестовой дозы и последующей индивидуализации дозирования бусульфана на основе байесовского подхода для улучшения клинических результатов трансплантации костного мозга у детей. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 40-48.

Блейзак Н., Сулле Г., Магрон П., Жаноли А., Мартин П., Бертран И., Галамбрун К., Даи К., Майер П., Джеллифф Р., Олагнер Г. Взаимосвязь между концентрацией циклоспорина в крови и тяжестью острой реакции «трансплантат-против хозяина» у детей после трансплантации стволовых клеток от подходящих родственных или неродственных доноров. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 38-48.

Практические рекомендации

Зырянов С.К., Леонова М.В. Терапевтическая значимость фармакокинетики противогрибковых средств. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №1, стр. 49-63.

Жердев В.П., Бойко С.С., Незнамов Г.Г., Телешова Е.С., Давыдова И.А., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Клиническая фармакокинетика ноопепта у больных с интеллектуально-мнестическими расстройствами. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 49-52.

Кулаков В.И., Жердев Д.В., Сариев А.К., Колыванов Г.Б., Волков Н.И., Жердев В.П. Клинико-фармакокинетическое изучение мифепристона при медикаментозном аборте. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 53-57.

Падейская Е.Н. Фармакокинетика левофлоксацина как основа режима дозирования и оптимизации схем лечения. // Клиническая фармакокинетика, 2005 г., №2, стр. 58-71.

Безопасность лекарств

Гуревич К.Г. Какие фосфолипиды «эссенциальнее». // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 52-57.

Соколов А.В., Белоусов Ю.Б., Зырянов С.К., Нечаева Е.Б., Милкина С.Е. Пути обеспечения качества и безопасности генерических лекарственных препаратов. // Фармакокинетика и фармакодинамика, 2012 г., №1, стр. 43-49.

Фармакоэкономика

ван Лент-Эверс Николетт А.И.М., Матъет Рон А.А., Гюс П. Вильям, ван Хаут Бен А., Винкс Александр А. Фармакокинетическое моделирование индивидуального дозирования аминокликозидов: анализ затрат и эффективности. // Клиническая фармакокинетика, 2004 г., №1, стр. 58-68.

